

生活饮用水中双酚A类内分泌干扰物残留量的测定

Determination of bisphenol A endocrine disruptors residues in drinking water

郇宇, 张小刚, 杨总, 刘冰洁, 郭立海

Huan Yu, Zhang Xiaogang, Yang Zong, Liu Bingjie, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX Application Support Center, China

Key Words : Bisphenol A , Drinking Water

引言

双酚A (Bisphenol A, 简写作BPA), 是工业上用来合成聚碳酸酯、环氧树脂、酚醛树脂等高分子材料的重要单体, 广泛应用于制造塑料食品容器, 如保鲜盒、婴儿奶瓶和矿泉水瓶等。研究发现双酚A为代表的双酚类化合物 (常见的还有双酚B、双酚F和双酚S等) 有类似雌激素的作用, 即使很低的剂量也有诱发儿童性早熟、导致内分泌失调等危害。由于双酚A的广泛应用, 且不易降解, 近年来不断有地表水、地下水甚至饮用水中检出双酚A报道, 双酚A的水体污染已成为饮用水安全领域的一个重要问题。现行GB 5749-2006, 以及2022年3月发布的GB 5749-2022版《生活饮用水卫生标准》, 都将双酚A作为饮用水安全的参考指标, 限值0.01mg/L。本文参照生活饮用水标准检测方法 (征求意见稿) GB/T 5750.8-74.1生活饮用水中双酚A残留量测定方法, 建立了包括大体积水样富集净化的前处理方案在内的酚类内分泌干扰物的液质测定方法, 待测物包括双酚A、双酚B、双酚F和另外两种烷基酚类内分泌干扰物4-壬基酚和4-辛基酚。

本实验方法具有如下特点:

- 1、本方法灵敏度可达到飞克级别, 满足GB/T 5750.8征求意见稿中5种双酚A类内分泌干扰物的检测需求。
- 2、方法回收率高、稳定性好: 空白基质添加0.5、5、50 $\mu\text{g/L}$ 三个浓度, 每个添加浓度重复6次, 平均回收率在85%-120%间, 相对标准偏差小于10%。

化合物信息

表1. 化合物信息

中文名称	英文名称	CAS号	分子式
双酚A	Bisphenol A	80-05-7	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_2$
双酚B	Bisphenol B	77-40-7	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_2$
双酚F	4,4'-methylene bisphenol	620-92-8	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_2$
4-壬基酚	4-Nonylphenol	104-40-5	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$
4-辛基酚	4-Octylphenol	1806-26-4	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}$
4-壬基酚-D ₅	4-n-Nonylphenol-D ₅	358730-95-7	$\text{C}_{15}\text{D}_5\text{H}_{19}\text{O}$

实验部分

3.1 仪器、试剂与材料

3.1.1 主要仪器设备

大体积上样固相萃取装置 (Agela MULTI-SPE M08);
氮吹浓缩仪 (Agela Cleanert V96)。

3.1.2 试剂材料

固相萃取柱: Cleanert PEP-2, 200 mg/6mL, P/N: PE2006-2;
实验用水、甲醇均为色谱级, 氨水为分析纯。

3.1.3 样品

纯净水样作为空白样品, 备用。

3.1.4 标准品

双酚A、双酚B、双酚F、4-辛基酚、4-壬基酚、4-壬基酚-D₅ (100 mg/L)标准溶液外购，避光-18 °C保存；

双酚A、双酚B、双酚F、4-辛基酚、4-壬基酚、4-壬基酚-D₅中间溶液(1 mg/L)由原液稀释而成，避光4 °C保存；

双酚A、双酚B、双酚F、4-辛基酚、4-壬基酚、4-壬基酚-D₅工作溶液(100 µg/L)现用现配。

3.2 样品前处理方法

活化：PEP-2固相萃取柱使用前依次用5 mL 甲醇、10 mL水活化；

富集：取备用水样100 mL，加入50 µL 浓度为100 µg/L 4-壬基酚-D₄内标工作液，混匀，内标物在水中浓度为 0.050 µg/L，水样以约 5 mL/min 速度通过固相萃取柱。

干燥：用氮气吹2 min，使固相萃取柱干燥；

洗脱：用 15 mL 甲醇分 3 次洗脱，洗脱液下降滴速控制在 1 滴/3 s 左右；

洗脱液浓缩：洗脱液在50 °C用氮气吹至近干，再用50%甲醇溶液定容至1 mL。

3.3 仪器检测条件

3.3.1 色谱条件

色谱柱：Kinetex EVO C18 (2.1 × 100mm, 1.7 µm, 100Å)；P/N:00D-4726-AN

流动相A相：0.01%氨水水溶液；

流动相B相：甲醇；

流速：0.3 mL/min；

柱温：40 °C；

梯度程序见表2；

3.3.2 质谱条件

离子源类型：电喷雾离子源 (ESI-)

扫描方式：多反应监测负离子模式 (MRM)

喷雾针电压：-4500 V 离子源温度：500 °C

加热器 (GS1) : 50 psi 辅助加热气 (GS2) : 50 psi

气帘气 (CUR) : 30 psi 碰撞气 (CAD) : 8

为获得较好的稳定和灵敏度，各化合物 (包括内标) 监测离子对的去簇电压 (DP) 和碰撞电压 (CE) 等参数均经过系统优化，质谱参数见表3。

表2. 梯度条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0	0.3	60	40
1.0	0.3	60	40
4.0	0.3	5	95
7.5	0.3	5	95
7.6	0.3	60	40
9.5	0.3	60	40

表3. 化合物定性、定量离子和质谱分析参数

化合物	Q1	Q3	DP/V	CE/V
BPA	227	212*	-90	-24
	227	133	-90	-31
BPB	241	212*	-83	-24
BPF	199	93*	-90	-28
	199	105	-90	-28
4-OP	205	106*	-70	-24
4-NP	219.2	106.1*	-90	-24
4-NP-D ₅	223.1	110	-110	-27

注1：表3中标“*”为定量离子。

注2：双酚B、4-NP和4-OP都只有一对MRM

注3：4-NP-D₅为氘五取代内标，但是有一个氘在酚羟基上，其母离子为[M-D]-

3.4 结果与讨论

3.4.1 线性范围

分别吸取BPA、BPB、BPF、4-OP、4-NP的标准工作溶液适量，使用50%甲醇溶液稀释，配制成浓度为0.1 µg/L、0.5 µg/L、1 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L (其中内标4-NP-D₄浓度为5 µg/L) 的混标线性工作溶液，标准曲线见图1。均得到线性良好R²≥0.999的线性回归方程，见表4 (双酚类采用外标法定量，4-NP、4-OP以4-NP-D₅为内标定量)。

表4. 标准曲线

化合物	线性方程	相关系数
BPA	$Y=8948.78958X+1285.67803$	0.99964
BPB	$Y=14923.66589X+351.00256$	0.99956
BPF	$Y=3595.76330X+323.85210$	0.99918
4-NP	$Y=0.17843X+0.00865$	0.99945
4-OP	$Y=0.22237X+0.00572$	0.99938

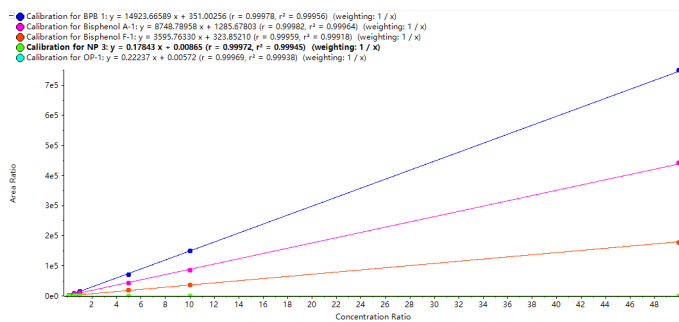


图1. 标准曲线 (0.1 µg/L~50 µg/L)

3.4.2 方法精密度与准确度

GB 5749-2022《生活饮用水卫生标准》中对双酚A的限量要求不得超过0.01 mg/L, 本实验分别选择为0.5、5、50 µg/L三个梯度进行加标测定, 每组添加浓度平行测定6次, 计算回收率与精密度结果, 由表5可得, 双酚A各化合物添加浓度的回收率均在85%~120%之内, 相对标准偏差RSD小于10%; 同位素内标4-NP-D₄回收稳定; 实验色谱图见图3/4。

3.4.3 讨论

本方法中双酚A、双酚B、双酚F三个化合物直接采用外标法定量回收稳定性良好, 满足方法学要求。4-壬基酚、4-辛基酚考虑其化学结构存在较长直碳链结构, 过柱富集时与PEP-2结合紧密, 在洗脱时存在一定损失, 需要增加洗脱体积降低洗脱流速, 以4-NP-D₄为内标进行校正定量。

另外, 双酚类化合物为合成碳酸酯塑料的原材料, 实验过程中应避免污染引入, 每批样品分析过程应包括试剂空白、过程空白等质控。本实验试剂空白、过程空白均未检出(见图2), 耗材试剂符合要求无本底带入。

表5. 加标回收实验结果

化合物	理论加标浓度 µg/L	平均检测结果 µg/L	回收率%	RSD%
BPA	0.5	0.50	100.7%	8.2%
	5	4.94	98.8%	2.7%
	50	48.26	96.5%	2.7%
BPB	0.5	0.45	90.5%	8.2%
	5	4.59	91.8%	5.5%
	50	45.94	91.9%	3.1%
BPF	0.5	0.44	87.8%	9.6%
	5	4.75	95.0%	7.3%
	50	47.73	95.5%	4.0%
4-OP	0.5	0.58	115.7%	4.6%
	5	5.90	118.0%	2.8%
	50	58.36	116.7%	1.3%
4-NP	0.5	0.49	98.7%	6.5%
	5	5.00	100.1%	2.8%
	50	50.70	101.4%	2.4%

3.5 实验谱图

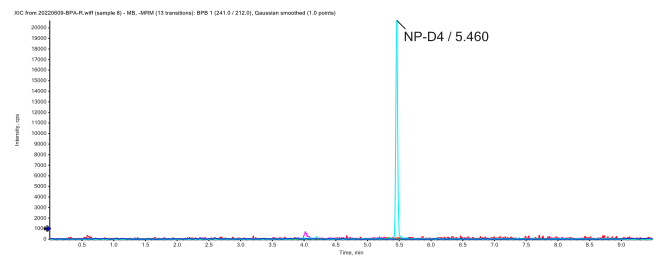


图2. 过程空白总XIC色谱图

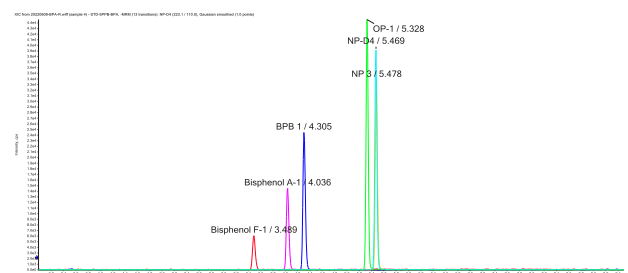


图3. 加标总XIC色谱图

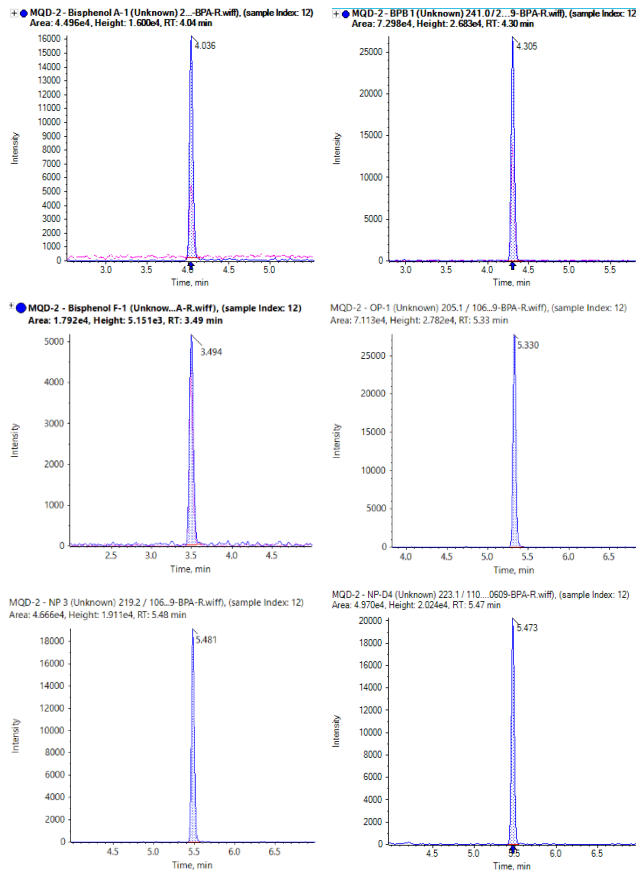


图4. BPA/BPB/BPF/4-OP/4-NP/4-NP-D₃提取色谱图

结论

本文重现了GB/T 5750.8-74.1生活饮用水中双酚A等残留量液相色谱-质谱法的测定。使用 MULTI-SPE M08 大体积上样固相萃取装置搭配 Cleanert PEP-2固相萃取小柱对水样进行净化和富集，液相色谱串联质谱同位素内标法检测。实验中线性良好 $R^2 \geq 0.999$ ，平行性稳定，最低检出限浓度分别为：双酚A、双酚F、4-壬基酚， $0.005 \mu\text{g/L}$ ；双酚B、4-辛基酚， $0.001 \mu\text{g/L}$ 。各化合物三水平添加回收率在85%~120%之间，RSD值均小于10%，能够满足标准检测方法要求。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15236-ZH-A