

丹磺酰氯衍生-固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法检测尿液 中双酚 A

王艺洁, 邹海琴, 钟瑞, 田福林

(1. 环境应激与慢病防控教育部重点实验室 (中国医科大学); 中国医科大学 公共卫生学院, 沈阳 110122)

摘要: 建立超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法 (UPLC-MS/MS) 检测尿液中的双酚 A 含量的分析方法。方法 样品采用 Oasis HLB 固相萃取小柱提取, 经丹磺酰氯衍生后, 流动相使用 0.1% 的甲酸-水及甲醇进行洗脱分离, ESI+ 模式电离, 多反应监测 (MRM) 模式进行测定。结果 该方法 BPA 在 0.004 ~ 50 ng/mL 范围内, 标准曲线的线性关系良好 (R^2 均大于 0.999), 平均加标回收率为 102.52% ~ 116.60%, 检出限为 0.008 ng/mL, 定量限为 0.02 ng/mL。结论 该方法准确、灵敏, 能有效、快速地测定尿液中 BPA 的含量。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱; 双酚 A; 尿液

中图分类号: R12 **文献标识码:**

Determination of bisphenol A in urine by dansyl chloride-solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry

Wang Yijie Zou Haiqin Zhong Rui Tian Fulin

(Key Laboratory of Environmental Stress and Chronic Disease Control & Prevention (China Medical University), Ministry of Education; School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110122, China)

Abstract: *Purpose* To establish A method for the determination of bisphenol A in urine by ultra-high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS). *Methods* The sample was extracted using an Oasis HLB solid-phase extraction cartridge. After derivatization with dansyl chloride, the mobile phase used 0.1% formic acid-water and methanol for elution and separation. ESI+ mode ionization was performed, and multiple reaction monitoring (MRM) mode was used for measurement. *Results* The BPA in this method was in the range of (0.004-50) ng/mL, and the correlation was good (R^2 were all greater than 0.999). The

average recoveries were 102.52%~116.60%, the limit of detection was 0.008ng/mL, and the limit of quantitation was 0.02ng/mL. *Conclusion* This method is accurate, sensitive, and effective for the determination of BPA in urine.

Keywords: ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; bisphenols; urine

1 引言

双酚 A 用于生产苯酚树脂、丙烯酸酯和聚酯的材料, 绝大部分用于制造聚碳酸酯和环氧树脂^[1], 因此它常出现在塑料容器、玩具、餐具、医疗器械、光盘^[2]。其已被证明 BPA 能够与多种受体结合, 包括雌激素和雄激素受体、芳香烃受体和过氧化物酶体增殖物激活受体^[3], 这些受体与内分泌系统和身体其他系统的激素相关, 能够破坏各种激素的功能, 包括性激素、瘦素、胰岛素和甲状腺素, 并导致肝毒性、免疫毒性、诱变和致癌效应^[4]。此外, BPA 在人体肝脏里代谢为葡萄糖醛酸共轭形式, 主要经过尿液途径排出^[5]。

由于 BPA 对健康存在的不利影响, 并且对人类接触的研究有限, 因此准确测量 BPA 对估计暴露量很重要。本文建立了超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法 (UPLC-MS/MS) 检测尿液中的双酚 A, 结合固相萃取法作为前处理, 进行样品的提取、净化, 再对其进行衍生化, 提高待测物 BPA 的检出限, 以便能够提供一种更精确可靠的方法分析尿液中 BPA。

2 试验

2.1 仪器与试剂

色谱纯级别甲醇、超纯水、BPA(>98.5%)、 β -葡萄糖醛酸糖苷酶/芳基硫酸酯酶、甲酸(>98%)、乙酸钠、醋酸钠、丙酮(>98%)、丹磺酰氯、BPA-¹³C₁₂;

Agilent 1290 超高效液相色谱仪、Agilent 6420 三重四极杆质谱仪、Milli-Q 超纯水器、ZORBAX SB-C18(4.6 mm × 150 mm, 5 μ m)色谱柱、Oasis HLB 固相萃取小柱(150mg/6mL, 美国 Waters 公司)、ET 3301A 氮吹仪、涡旋振荡器、Sigma 3-30KS 台式高速冷冻离心机、SB-5200D 超声波清洗机、HH-2 数显电子恒温水浴锅、AL204 电子天平、移液枪、离心管。

2.2 溶液配制

1) 标准溶液 分别准确称取 10mg 标准品, 用甲醇溶解并分别定容至 10 ml, 配制成质量浓度为 1000 mg/L 的标准储备液, 4°C 保存备用, 再配制成系列标准工作液, 4°C 保存。

2) 质控工作液 在 5ml 离心管管中分别加入: 1.5ml 乙酸钠缓冲液、1ml 超纯水、10ul