高效液相色谱-荧光检测法检测金属食品罐用涂料中的双酚 A 含量

孙希岚[1]，朱争礼[1]，单营营[2]，阎卫东[2]
(1. 杭州中粮包装有限公司，杭州 310018；2. 浙江大学，杭州 310027)

摘要：建立了一种高效液相色谱-荧光检测法测定金属食品罐用涂料中双酚 A 的定量分析方法。样品用甲醇超声提取，双酚 A 在质量浓度为 0.1～20.0 μg/mL 范围内，峰面积与质量浓度具有良好的线性关系，线性方程为 $y=19.241x+2.7916$，相关系数为 0.9985，检测限为 0.05 μg/mL，回收率为 95.0%～100.9%。分析比较了不同厂家和不同批号涂料中双酚 A 的含量。研究表明，该方法灵敏可靠，准确度高，适用于定量检测金属食品罐用涂料中的双酚 A。

关键词：高效液相色谱；荧光检测器；金属食品罐涂料；双酚 A
中图分类号：TS206；TB487　**文献标识码：**A　**文章编号：**1001-3563(2013)13-0027-04

Determination of Bisphenol A in Coatings of Metal Food Cans by HPLC Fluorescence Detection Method

SUN Xi-lan[1], *ZHU Zheng-li*[1], *SHAN Ying-ying*[2], *YAN Wei-dong*[2]
(1. Hangzhou CPMC Co., Ltd., Hangzhou 310018, China; 2. Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract: A method was established for determining bisphenol A (BPA) in coatings of metal food cans by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Samples were ultrasonic extracted with methanol. The peak area and concentration of BPA has a better linear relationship in the range of 0.1 μg/mL to 20.0 μg/mL ($r=0.9985$). The linear equation is $y=19.241x+2.7916$. The limit of detection is 0.05 μg/mL. Recovery of the method is 95.0% ~100.9%. The BPA contents of several batches coating from different suppliers were compared. It was concluded that the method is sensitive, reliable, accurate and fit for BPA quantitative determination in metal food cans.

Key words: high performance liquid chromatography; fluorescence detection; coatings of metal food can; BPA

聚碳酸酯主要用于生产塑料类食品包装。环氧树脂加工而成的环氧酚醛涂料则是金属类食品包装内壁的常用涂料。双酚 A(简称 BPA)，是生产聚碳酸酯和环氧树脂的主要原料，与人们的日常生活息息相关。双酚 A 同时又是一种人体内分泌干扰物质，会扰乱人体激素正常分泌，尤其是性激素。研究表明双酚 A 与癌症、糖尿病、心血管病等诸多健康问题有关。摄入一定剂量的双酚 A 会使动物产生雌性早熟、精子数下降、前列腺增生等不良症状，还会对儿童的大脑及性器官造成损伤[1]。大量金属包装罐被用来盛装食品，其内涂层中的双酚 A 可能会随着时间逐渐迁移溶出到食品内容物中，对食品造成污染，危害人体健康。

欧盟和美国、加拿大等多个国家先后出台了禁止使用含双酚 A 奶瓶的禁令，但国内外均未对食品包装材料中双酚 A 的残留限量作出规定，仅在 GB 9685—2008《食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准》中规定双酚 A 可作为添加剂应用于胶黏剂和涂料且最大迁移限量为 0.6 mg/kg[2]。分析与检测食品接触材料中双酚 A 的文献，多限于固体包装材料和环氧类涂层中双酚 A 迁移量的分析[3-5]，而少有定量检测液体涂料中游离态双酚 A 的报道。通过定量检测，可以了解涂料原材料中游离态的双酚 A 总量，可从根源上控制迁移量的上限。因此从控制原材料食品卫生安全的角度而言，检测涂料中的双酚 A 含量比检测成品罐中双酚 A 迁移量更透彻，更有意义。目前双酚 A 的测定方法主要有高效液相色谱法和色谱质谱联用

收稿日期：2013-04-26
作者简介：孙希岚(1984-)，女，满族，浙江人，硕士，杭州中粮包装有限公司工程师，主要从事金属包装材料应用与工艺的研究。

法[6-7],此外还有电化学分析法,气相色谱法等[8-9]。高效液相色谱-荧光检测法灵敏度高且检测限低,可以满足对金属包装罐用涂料中双酚 A 的检测需要。因此,在快速定性检测双酚 A 的基础上[10],采用高效液相色谱-荧光检测法定量检测食品金属罐用液体涂料中双酚 A 的含量。

1 实验

1.1 仪器与试剂

仪器包括:高效液相色谱仪(Agilent 1200 Series);1260FLD 荧光检测器;KQ3200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 旋转蒸发器 RE-2000B(上海亚荣生化仪器厂);分析天平(Sartorius CP225D, ±0.01 mg);高速冷冻离心机(美国贝克曼公司)。

试剂包括:双酚 A(纯度≥99 %,sigma 公司)、色谱纯甲醇(安徽时联特种溶剂公司)、分析纯甲醇(杭州双林化工)、蒸馏水。

1.2 色谱条件

色谱条件为:色谱柱 Amethyst C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);柱温 30 ℃;流动相 甲醇:水=53:47;流速 1.0 mL/min;进样量 10 μL;激发波长 278 nm;发射波长 335 nm。

1.3 溶液配制

标准储备液配制:准确称取约 0.1 g 双酚 A 标准品置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇溶解定容,得到浓度为 1.0772 mg/mL 的标准储备液。

工作溶液配制:分别将标准储备液用甲醇稀释成质量浓度为 0.053 86,0.107 72,0.5386,1.0772,10.772μg/mL 的工作溶液。

1.4 样品处理

用 1 mL 注射器移取不同涂料样品若干,置于具塞锥形瓶中,准确称量,得样品质量。加入约 25 mL 甲醇,超声 1 h,过滤,滤渣用甲醇淋洗 3 次,滤液旋蒸至干,用甲醇溶解,定容至 1 mL,过 0.45 μm 膜或12 000 r/min 离心 10 min,取滤液或上清液,进 HPLC 仪。

2 结果与讨论

2.1 溶剂的选择

有研究表明,固相萃取小柱对水中的双酚 A 具有良好的吸附和解吸附能力,利用固相微萃取技术可以对双酚 A 进行富集[11-12]。溶剂型液体涂料生产过程中需要添加各种助剂来改善涂料性能,部分助剂的极性与双酚 A 相似。笔者尝试用多种不同极性的固相萃取柱处理液体涂料,结果表明,双酚 A 无法与涂料中的各种助剂完全分离甚至还会出现死吸附的现象,所以无法用固相微萃取法对液体涂料中双酚 A 进行富集和纯化处理。根据文献报道,选择用甲醇作为双酚 A 的提取溶剂[13]。

2.2 流动相的选择

选择甲醇和水作为流动相,考察不同比例的流动相对出峰时间的影响。当流动相中甲醇比例为 60% 时,双酚 A 不易与另一杂质峰分离。随着甲醇比例的降低,两者逐渐分离,当甲醇比例调整为 53% 后达到完全分离状态。若继续减小甲醇比例,双酚 A 的保留时间将出现在 30 min 以后且峰型较宽。综合考虑样品的出峰情况和分离效果,同时尽可能减小涂料中其他成分的干扰,选择甲醇:水=53:47(体积比)作为流动相。双酚 A 标准品及涂料样品溶液的高效液相色谱荧光检测谱见图 1 和图 2。

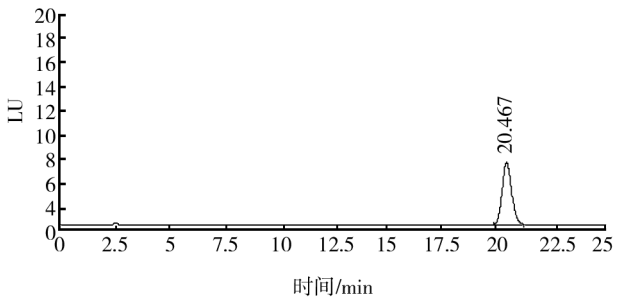

图 1 双酚 A 标准品的高效液相色谱荧光检测谱图

Fig. 1 HPLC-FLD spectrum of BPA standard sample

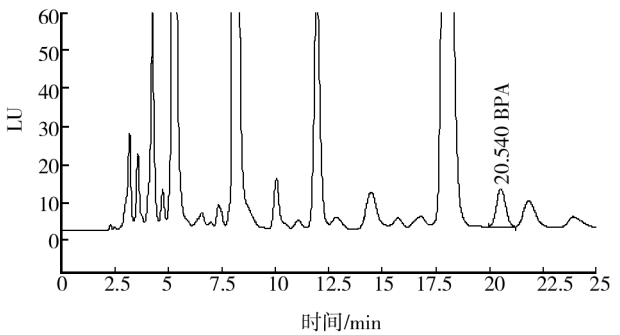

图 2 涂料样品溶液的高效液相色谱荧光检测谱图

Fig. 2 HPLC-FLD spectrum of coating sample solution

2.3　线性方程、相关系数及检测限

用高效液相色谱仪检测 0.107 72，0.5386，1.0772，10.772，21.544 μg/mL 系列质量浓度的双酚 A 标准溶液，以标准溶液中双酚 A 的峰面积与相应的质量浓度绘制标准曲线。结果表明：标准曲线呈线性，线性方程为 $y=19.241x+2.7916$，线性范围为 0.1～20.0 μg/mL，相关系数为 0.9985，检测限为 0.05 μg/mL。

2.4　精密度和重复性实验

精密度实验：相同液相色谱条件下，取 10.772 μg/mL 的双酚 A 标准溶液，连续进样 6 次，计算得 6 次进样峰面积的相对标准偏差（RSD）为 0.14%，精密度良好。

重复性实验：称取同种样品 6 份各约 0.8 g，按照 1.4 节方法处理得到样品溶液，进样 10 μL 进行测定，记录色谱峰面积并计算双酚 A 含量，结果见表 1。重复性试验的相对标准偏差（RSD）为 2.67%。

表 1　重复性实验结果

Tab.1 Results of repeated tests

取样量 /g	BPA 含量 /(μg·g^{-1})	BPA 平均含量 /(μg·g^{-1})	RSD /%
0.821 78	18.83	18.12	2.67
0.801 35	17.78		
0.848 79	18.79		
0.809 61	17.71		
0.850 33	17.85		
0.806 99	17.81		

2.5　加样回收率

加样回收率：准确称取同种涂料样品 6 份，分别置于具塞锥形瓶中，加入质量浓度为 10.772 μg/mL 的工作溶液 0.8 mL，按照 1.4 节方法处理样品溶液，进样 10 μL 进行测定，记录色谱峰面积并计算双酚 A 含量和加样回收率，结果见表 2。

表 2　加样回收率测定结果

Tab.2 Results of recovery

取样量 /g	BPA 量 /μg	BPA 加入量/μg	测得量 /μg	加样回收率/%	平均回收率/%	RSD /%
0.450 78	8.17	8.6176	16.72	99.2	98.05	1.89
0.413 82	7.50	8.6176	16.20	100.9		
0.514 93	9.33	8.6176	17.52	95.0		
0.450 58	8.16	8.6176	16.62	98.1		
0.521 21	9.44	8.6176	17.77	96.7		
0.570 28	10.33	8.6176	18.81	98.4		

2.6　样品测定

对不同供应商不同批号的液体涂料样品进行检测，平行测定 2 次，记录色谱峰面积并计算各样品中双酚 A 含量，结果见表 3。

表 3　涂料样品中双酚 A 含量的测定结果

Tab.3 Determination results of BPA in coating sample

涂料样品	批号	取样量 /g	BPA 含量 /(μg·g^{-1})
A（来自供应商 a）	①	1.114 18	17.85
	②	1.143 60	15.35
	③	1.726 17	19.25
B（来自供应商 b）	①	1.089 09	18.05
	②	1.097 28	17.51
	③	1.425 18	17.66
	④	1.110 69	13.36
C（来自供应商 c）	①	0.115 47	167.1
	②	0.135 74	168.7
	③	0.131 46	141.0

3　结论

分析实验数据可知，同一型号不同批号的罐内涂料双酚 A 含量相差不大，说明 3 款涂料的生产工艺及过程控制均比较稳定。但供应商 c 提供的涂料 C 中双酚 A 含量明显较涂料 A 和 B 高，说明涂料 C 存在比较高的食品卫生安全风险，应重点关注或禁止使用。本实验采用高效液相色谱—荧光检测法测定液体涂料中双酚 A 的含量，该方法在样品质量浓度为 0.1～20.0 μg/mL 范围内，具有良好的线性，检测限为 0.05 μg/mL，重现性良好。该方法具有灵敏度高，快速准确等优点，适用于金属食品罐用涂料中双酚 A 的定量检测，为筛选安全可靠的涂料提供依据。

参考文献：

[1]　张彦丽，任佳丽，李忠海，等. 食品包装材料中双酚 A 的研究进展[J]. 食品与机械，2011，27(1)：155-157.
ZHANG Yan-li，REN Jia-li，LI Zhong-hai，et al. Progress on Bisphenol A in Food Packing Materials[J]. Food and Machinery，2011，27(1)：155-157.

[2]　郭丽敏. 关于含双酚 A 奶瓶欧盟遭禁的探讨[J]. 塑料助剂，2011，86(2)：7-9.
GUO Li-min. Discuss on the EU Prohibition for the Feeding Bottle contained BPA[J]. Plastic Additives，2011，86(2)：7

-9.

[3] 吴飞,徐莉,夏俊鹏,等. 环氧酚醛涂料包装罐中双酚 A 迁移量的测定研究[J]. 江苏预防医学,2011,22(3):64-66.
WU Fei,XU Li,XIA Jun-peng,et al. Determination of Bisphenol A Migration in Epoxy Phenolic Coating Packaging [J]. Jiangsu J Prev Med,2011,22(3): 64-66.

[4] 陈志锋,刘晓华,孙利. 食品接触材料中双酚类物质迁移检测方法研究[J]. 包装工程,2009,30(12):40-43.
CHEN Zhi-feng, LIU Xiao-hua, SUN Li. Determination of Bisphenol-type Contaminants from Food Contacting Materials[J]. Packaging Engineering,2009,30(12):40-43.

[5] 孙汉文,李挥,高文惠,等. 食品包装材料中双酚 A 迁移量的测定[J]. 食品科学,2012,33(2):235-239.
SUN Han-wen, LI Hui, GAO Wen-hui, et al. Determination of Bisphenol A Migration in Food Packaging Materials[J]. Food Science,2012,33(2):235-239.

[6] 周建科,张前莉,韩康,等. 中老年奶粉中双酚 A 和己烯雌酚的反相高效液相色谱测定[J]. 食品工业科技,2007,28(2):233-235.
ZHOU Jian-ke,ZHANG Qian-li,HAN Kang,et al. Quantitative Determination of Bisphenol A and Diethylstibestrol in Powder Milk by RP-HPLC[J]. Science and Technology of Food Industry,2007,28(2): 233-235.

[7] 焦艳娜,丁利,李晖,等. 加速溶剂萃取-GC-MS/MS 法测定食品接触材料中双酚 A、双酚 F 及其衍生物的残留量[J]. 包装工程,2011,32(15):53-57.
JIAO Yan-na,DING Li,LI Hui,et al. Determination of Bisphenol A, Bisphenol F and Their Derivatives Residues in Food Contact Materials by Accelerated Solvent Extraction and GC-MS/MS [J]. Packaging Engineering, 2011, 32 (15):53-57.

[8] 王玉春,刘赵荣,弓巧娟. 电化学分析法对食品包装材料中双酚 A 的检测[J]. 食品科学,2010,31(20):303-306.
WANG Yu-chun,LIU Zhao-rong,GONG Qiao-juan. Electrochemical Determination of Bisphenol A in Food Packaging Materials[J]. Food Science,2010,31(20):303-306.

[9] 唐熙,陈高群,梁鸣,等. 气相色谱法测定塑料奶瓶中迁移出的双酚 A[J]. 福建分析测试,2010,19(4):13-17.
TANG Xi,CHEN Gao-qun,LIANG Ming,et al. Determintion of the Migration of Bisphenol A from Plastic Nursing Bottle by GC[J]. Fujian Analysis & Testing 2010, 31(20): 303-306.

[10] 孙希岚,朱争礼,单营营,等. 食品金属罐用涂层中双酚 A 的快速定性分析方法[J]. 包装工程,2013,34(1):38-43.
SUN Xi-lan,ZHU Zheng-li,SHAN Ying-ying,et al. Quick Qualitative Analyzing Method of Bisphenol A in Metal Food Cans Coating[J]. Packaging Engineering,2013,34(1):38-43.

[11] 颜流水,郑鄂湘,杨晓燕,等. 固相萃取-液质联用法同时测定饮用水中双酚 A 和邻苯二甲酸二丁酯[J]. 分析试验室,2007,26(6):10-14.
YAN Liu-shui,ZHENG E-xiang,YANG Xiao-yan,et al. Simultaneously Determination of Bisphenol A and Dibutyl Phthalate in Drinking Water by Solid-phase Extraction and Liquid Chromatography Hyphenated to Mass Spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory,2007,26(6): 10-14.

[12] 宣栋樑,陈静. 固相萃取-高效液相色谱法测定婴幼儿奶瓶中溶出的双酚 A[J]. 现代预防医学,2008, 35(23): 4663-4665.
XUAN Dong-liang, CHEN Jing. Determination of BPA in Nursing Bottle by Solid Phase Extraction-High Performance Liquid Chromatography[J]. Modern Preventive Medicine, 2008,35(23):4663-4665.

[13] 罗辉甲,曹国荣,许文才. 食品包装材料中双酚 A 检测与分析方法的研究进展[J]. 包装工程,2010,31(17):47-51.
LUO Hui-jia, CAO Guo-rong, XU Wen-cai. Research Progress in Detection and Analysis Method for Bisphenol A in Food Packaging Materials [J]. Packaging Engineering, 2010,31(17): 47-51.