

食品包装

食品罐内涂中双酚 A 检测方法的对比分析

孙魁魁, 向红, 杨迪, 李大伟
(华南农业大学, 广州 510642)

摘要: **目的** 研究金属食品罐内涂材料中双酚 A 的迁移。**方法** 采用 HPLC-FD 和 GC-MS 法对食品罐内涂中双酚 A 迁移进行分析。**结果** 在检测双酚 A 迁移的实验中, HPLC 法回收率范围为 92.6%~102.4%, 线性相关系数为 0.9998, 精密度为 4.0%, 质量浓度的检测限为 1.2 $\mu\text{g/L}$; GC-MS 法回收率范围为 84.8%~103.2%, 线性相关系数为 0.9944, 精密度为 4.5%, 质量浓度的检测限为 0.03 mg/L。参考相关文献对分别采用 HPLC-FD, UPLC-DAD, GC-MS, UPLC-MS 检测双酚 A 迁移量的 4 种方法进行了对比分析。**结论** HPLC-FD 法具有检测限低、精密度高、随机误差小、稳定性好、适用范围广、前处理简单以及检测成本低廉等优点, 是双酚 A 迁移的首选检测方法。

关键词: 食品罐; HPLC; GC-MS; 双酚 A; 迁移

中图分类号: TS206.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2016)11-0047-05

Comparative Analysis of Detection Methods of Bisphenol A in Inner Coating of Food Cans

SUN Kui-kui, XIANG Hong, YANG Di, LI Da-wei
(South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

ABSTRACT: This work aimed to study the migration of BPA from the inner coating of metal food cans. HPLC and GC-MS were used to determine the migration of Bisphenol A in the inner coating of the food cans. For HPLC method, the recovery was 92.6%~102.4%, the linear range was 0.02~50 mg/L, the linear correlation coefficient was 0.9998, the degree of precision was 4.0%, and the detection limit was 0.0012 mg/L. For GC-MS method, the recovery was 84.8%~103.2%, the linear range was 0.05~200 mg/L, the linear correlation coefficient was 0.9944, the degree of precision was 4.5%, and the detection limit was 0.03 mg/L. These two methods were compared with UPLC-DAD and UPLC-MS methods based on the protocols described by the literatures. The HPLC-FD method had the advantage of low detection limit, high precision, small random error, high stability, wide application range, simple sample preparation and low testing cost. Therefore, it was the preferred method for the determination of BPA migration.

KEY WORDS: food cans; HPLC; GC-MS; bisphenol A; migration

食品罐包装是现代食品包装的重要组成部分, 具有保护食品不受外来生物、化学和物理因素的破坏, 维持食品质量稳定的特点。为了防止食品内容与金属直接接触, 避免发生电化学腐蚀, 提高罐头食品货架期, 食品罐内通常涂有有机涂料。双酚 A

是制造聚碳酸酯、环氧树脂、聚树脂、环氧酚醛树脂、抗氧化剂等的前体物质, 广泛应用于食品罐头金属材料的涂层、食品包装材料与饮料容器^[1-5]。研究发现双酚 A 有类雌激素活性诱变性和急性毒性, 其与许多疾病的发生(如糖尿病、心血管疾病)都

收稿日期: 2015-10-26

基金项目: 国家自然科学基金(31171689)

作者简介: 孙魁魁(1990—), 男, 河南人, 华南农业大学硕士生, 主攻食品包装。

通讯作者: 向红(1964—), 男, 湖南益阳人, 华南农业大学教授, 主要研究方向为食品包装与运输包装。

存在一定的关系^[6-9]。多个国家和地区发布了食品包装接触材料中双酚 A 迁出的相关法律法规, 2009 年中国也出台了食品接触材料中双酚 A 检测的新标准。双酚 A 迁移与检测方法也得到了重视, 董文丽等^[10]用 GC-MS 法研究双酚 A 在水、乙醇(65%)、乙酸(4%)这 3 种食品模拟物中的迁移行为, 进而建立检测聚碳酸酯(PC)制品中双酚 A 向食品模拟物迁移溶出的定量分析方法。孙希岚等^[11]建立了 1 种 HPLC-FD 法测定金属食品罐用涂料中双酚 A 的定量分析方法。焦艳娜等^[12]建立了加速溶剂萃取-气相色谱-串联质谱法测定食品接触材料(婴儿奶瓶)中双酚 A、双酚 F 及其衍生物残留量的分析方法。罗辉甲等^[13]综述了极谱法、荧光光谱法、HPLC-MS 和 GC-MS 等对双酚 A 的检测分析方法。邹银燕等^[14]建立了 1 个 HPLC-FD 法同时检测罐头模拟物中 14 种双酚类化合物的分析方法。虽然有不少采用不同检测方法对 BPA 迁移进行研究的文献, 但对不同的 BPA 检测方法进行系统对比分析的研究比较少见。由于 BPA 是食品接触材料比较常见的检测项目, 所以有必要对不同 BPA 检测方法进行比较, 给研究者或检测机构根据自己实验室条件与精度要求, 选出最佳的双酚 A 检测方法, 为普及对包装材料中双酚类物质迁移的检测和防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

材料: 食品罐身部分的原料铁片, 涂有环氧酚醛树脂涂层, 双面涂印, 由制罐企业提供; 双酚 A, CAS 80-05-7, Sigma-Aldrich 公司; 无水乙醇, AR 级, 天津市大茂化学试剂厂; 乙酸, AR 级, 天津市大茂化学试剂厂; 乙腈, 色谱纯, 纯度 $\geq 99.9\%$, 美国 Fisher 公司; 去离子水, 天津市大茂化学试剂厂; 高纯氮气, 纯度 $\geq 99.999\%$, 北京氧利来公司。

仪器: 岛津液相色谱仪, LC10A-TVP 型, 日本岛津公司; 荧光检测器, RF-10AXL 型, 日本岛津公司; 超声波清洗机, X1540L 型, 深圳市威固特科技有限公司; 数显恒温水浴锅, HH-S4 型, 常州市国立试验设备研究所; 电子分析天平, AL204 型, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; 数显电热恒温干燥箱, DHG-9240A 型, 上海圣欣科学仪器有限公司; 恒温恒湿箱, LHS-250-SC 型, 上海齐欣科学仪器有限公司; 气-质联用仪, 7890-5975C 型, 美国 Agilent 公司; 氮吹仪, K1512 型, 北京康林科技有

限公司; 旋转蒸发仪, RE2000B 型, 北京康林科技有限公司。

食品模拟物: 由于食品三片罐主要用于酸性、醇类等水性食品的包装, 这里主要选用去离子水、乙酸(3%)、乙醇(10%)作为食品模拟液, 分别代表水性、酸性、醇类食品。

1.2 浸泡温度和时间

常温下包装中部分有害物质向食品模拟液的迁移非常有限, 需要经历漫长的时间, 不利于实验研究, 故一般采取升高浸泡温度进行加速实验。这里参考了 GB/T 5009.156—2003《食品用包装材料及其制品的浸泡试验方法通则》, 选择 95 °C, 浸泡 0.5 h 作为浸泡条件来测定试样中双酚 A 的迁移量。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的配制

准确称取 BPA 标准品各 25 mg, 以乙腈溶解, 定容至 25 mL 棕色容量瓶中, 配制成 1 mg/mL 的标准储备液, 置于冰箱中备用。

1) 液相色谱法。标准工作溶液: 用乙腈稀释标准储备液, 制作 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50 mg/L 标准系列, 依次用直径为 0.45 μm 的有机滤膜过滤, 进样检测。

2) 气质联用法。标准工作溶液: 用乙腈稀释标准储备液成 0.5 $\mu\text{g/L}$ ~200 mg/L 的标准工作液, 进行检测。

1.3.2 色谱分析法的建立

高效液相色谱-荧光检测法的测定条件: 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 柱温为 25 °C; 流动相为乙腈-水(体积比为 55:45); 流速为 1.0 mL/min; 荧光检测器的激发波长为 275 nm, 发射波长为 305 nm; 进样量为 10 μL 。

根据上述条件, 得到双酚 A 的标准色谱图的保留时间为 7.7 min。

气相色谱-质谱联用检测法的测定条件: GC 分析条件为 HP-5MS 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm); He 载气(纯度大于 99.999%); 载气流速为 1.5 mL/min; 进样口温度为 260 °C; 进样量为 1 μL , 不分流; 色谱柱程序升温条件的初始温度设置为 150 °C, 持续 1 min, 以 15 °C/min 升温至 240 °C, 持续 1 min, 然后以 5 °C/min 升温至 275 °C, 持续 1 min, 最后以 5 °C/min 升至 300 °C, 持续 4 min。

MS 分析条件: 电子能量 70 eV; EI 源 250 °C; GC-MS 接口 290 °C; 溶剂延迟时间 3 min; MS 测试模式为 SIM 方式, 检测离子为 213, 定量离子为 213。

1.3.3 接触面积与食品模拟液体积比的确定

实验前调查了市场上部分三片食品罐装饮料包装, 其表面积与体积比见表 1。

表 1 三片食品罐接触面积与食品体积比
Tab.1 The ratio of contact area of food cans with the food volume

品牌	接触面积/cm ²	食品体积/mL	比值/(cm ² ·mL ⁻¹)
红牛	192	250	0.768
加多宝	237	310	0.765
王老吉	233	310	0.751

根据市场调查的数据结果, 在设计试验模拟情况时, 选用接触面积为 8 cm², 模拟物的体积为 10 mL, 其比值约为 0.8 cm²/mL。

1.3.4 回收率与精密度的测定

根据迁移实验的实验条件, 分别对试样进行不同浓度的添加实验, 添加浓度分别为 2.0, 5.0, 10.0 mg/L 的标准样品, 每个添加水平做 3 组平行, 求出其平均加标回收率及相对标准偏差。

1.3.5 样品预处理

液相色谱法: 参考国家标准《食品用包装材料及其制品的浸泡试验方法通则》要求, 将试样裁剪成 10 mm×60 mm 的金属薄片, 用砂纸除去外壁涂层后, 用餐具洗涤剂刷洗 5 次, 自来水冲洗 30 s, 再用蒸馏水清洗, 然后置烘箱中烘干。按要求浸泡烘干的小铁皮, 浸泡到达预定时间后, 迅速用自来水将温度降至室温, 取浸泡液用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤后待用。

气质联用法: 浸泡前方法相同, 浸泡到达预定时间后, 迅速用自来水将温度降至室温, 将浸泡液用旋转蒸发器蒸发至近干, 后用乙腈将所得蒸发残渣重新溶解, 该过程重复 3 次, 然后将所得溶液经 0.22 μm 滤膜过滤后备用。

2 结果与讨论

根据试验结果并参考其他文献, 从实验预处理、检测限、精密度、灵敏度、检测范围、分析时间、成本等方面对双酚 A 检测的几种方法进行对比分析。

2.1 HPLC 和 GC-MS 检测试样预处理的比较

液相预处理简单, 前处理只需要按要求浸泡, 然后经微孔滤膜过滤后即可用来检测。GC-MS 预处理相对复杂、要求较高, 使用 GC 分析前一般需要进行衍生化, 操作较为繁琐。双酚 A 的沸点较高, 约 250 °C, 而且涂料膜浸泡液中待分离的各种化学物质的分子量相差比较大, 选择 GC-MS 分析时, 程序升温所需的温度较高, 且需要色谱柱耐高温能力强。

2.2 线性参数的比较

1) HPLC-FD。以浓度-峰面积得到相应的线性方程: $y=75481x-15062$, 相关系数 $R^2=0.9998$ 。配置质量浓度为 0.5 mg/L 的一系列标准样品, 逐步递减样品含量, 直至不能检出。结果显示, 在此实验条件下, 以信噪比为 3:1 计双酚 A 的检测限为 1.2 μg/L, 定量限为 4 μg/L, 分析时间为 10 min。

2) GC-MS。以浓度-峰面积得到相应的线性方程: $y=2019.65x-11251.33$, 相关系数 $R^2=0.9944$ 。配置质量浓度为 0.5 mg/L 的一系列标准样品, 逐步递减样品含量, 处理后检测, 直至不能检出。结果显示, 在此实验条件下, 以信噪比 3:1 计双酚 A 的检测限为 0.03 mg/L, 定量限为 0.1 mg/L, 分析时间为 11 min。

为了对双酚 A 各种检测方法进行 1 个全面的对比分析, 参考了鲍洋^[15]的 UPLC-DAD 和 UPLC-TOF-MS 的检测结果, 其测试条件是采用固相萃取水中双酚物的方法, 相关系数 R^2 分别为 0.9952 和 0.9992, 检测限分别为 0.024 和 0.014 mg/L, 定量限分别为 0.077 和 0.037 mg/L, 分析时间均为 7.1 min。

分析方法的线性一般采用线性回归方程的形式来表示。HPLC-FD 的线性相关系数 R^2 值较接近 1, 说明在线性范围内线性关系良好; 其他方法如 GC-MS 和 UPLC-DAD 的相关系数 R^2 略小于 HPLC-FD, 只有 0.9944 与 0.9952, 表明采用这 2 种方法在线性范围内有些试验数值出现偏差。

检测限是指分析方法在规定的实验条件下所能检出被测组分的最低质量浓度或最低量; 定量限是指分析方法可定量测定样品中待测组分的最低质量浓度或最低量。

一般情况下, GC-MS 的检测限和定量限要比液相低, 因其灵敏度可达到 10⁻⁹ 级, 而 HPLC 只能达

到 10^{-6} 级。在测定双酚 A 时, HPLC-FD 的检测限、定量限最低, 只有 $1.2 \mu\text{g/L}$, 远远小于其他 3 种方法, 其原因可能是 HPLC-FD 操作简单, 且在适宜条件下操作, 不会改变双酚 A 性状, 双酚 A 的沸点为 $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 偏高, 在 GC-MS 和 UPLC-TOF-MS 内难以气化或因热不稳定而分解, 导致物质的质量浓度在很低时不易被检测出。

HPLC-FD 的价格约为 18 万元, 对于大部分检测机构、高校、企业来说, 这个价格还可以接受, 但是 GC-MS, UPLC-DAD 和 UPLC-TOF-MS 的价格最少也要 100 万元以上, 对于很多机构来说, 价格太高了。相比于 GC-MS 需要衍生化处理, HPLC 前处理更加简单, 普及率更高。

2.3 加标回收率和精密度的比较

加标回收率是测定实际样品含量需要给出的数据, 在一定程度上说明了方法的准确度和可信性。精密度表示测量的再现性, 是保证准确度的先决条件。HPLC-FD 与 GC-MS 加标回收率的测定结果见表 2。HPLC-FD 和 GC-MS 的回收率分别为 $92.6\% \sim 102.4\%$ 和 $84.8\% \sim 103.2\%$, 相对标准差分别小于 4.0% 和 4.5% 。

表 2 双酚 A 的加标回收率结果
Tab.2 The recovery results of Bisphenol A addition

食品模拟液	加入量/ (mg/L)	平均回收率/%		相对标准差/%	
		HPLC-FD	GC-MS	HPLC-FD	GC-MS
去离子水	2	97.9	89.9	3.78	4.23
	5	92.6	84.8	3.94	4.53
	10	93.5	94.2	3.98	2.75
乙酸 (3%)	2	97.3	87.7	3.23	3.68
	5	96.8	92.3	3.48	4.52
	10	95.5	103.2	3.24	3.62
乙醇 (10%)	2	102.4	94.6	2.45	2.67
	5	98.6	97.6	2.72	1.98
	10	99.3	102.4	1.83	4.20

回收率是考察测定方法准确度的指标, HPLC-FD 测定双酚 A 具有回收率比较高、随机误差小、稳定性好等特点, 而 GC-MS 的回收率和试验准确度低于 HPLC-FD。精密度是指在规定条件下独立测量结果之间的相近程度, 用相对标准差来表示, 相对标准差值越大, 则精密度越低, 由表 2 可知, HPLC-FD 的精密度大于 GC-MS, 因此 HPLC-FD 的重复性更强, 更稳定。两者 RSD 值都不超过 10% , 在允许范围内。

3 结语

这里对检测双酚 A 的 2 种方法进行了对比, 研究表明, HPLC-FD 具有预处理简单、线性相关性好、检测限低、精密度高、适用范围广、分离效率高、分析速度快、灵敏度好、选择性好、易于自动化、检测设备与成本相对低廉等优点, 并且 HPLC 法在常温下就能对双酚 A 进行检测, 不存在双酚 A 热分解问题。使用荧光检测器的灵敏度比紫外检测器高出 2~3 个数量级。使用 GC 分析前一般需要进行衍生化, 该方法对前处理的要求较高, 操作较为繁琐, 存在一定的局限性。UPLC 消耗的流动相有机溶剂少, 串联质谱可以对目标物的结构进行鉴定, 避免 HPLC-FD 只根据保留时间来定性从而可能出现假阳性结果, 但是, UPLC-DAD 和 UPLC-TOF-MS 费用太高。综合考虑以上分析, 在食品包装中双酚 A 迁移检测研究中, HPLC-FD 方法是首选的检测方法。

参考文献:

- [1] 冯怡, 汪仕韬, 卫荣, 等. 食品包装污染物双酚类物质在食品模拟体系中的迁移规律研究[J]. 食品科学, 2014, 35(5):101—106.
FENG Yi, WANG Shi-tao, WEI Rong, et al. Migration of Bisphenol Compounds as Food Packaging Pollutants in Food Model System[J]. Food Science, 2014, 35(5):101—106.
- [2] PERRIN F X, NGUYEN T M H, TRAN T M L, et al. Determination of Bisphenol A (BPA) by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopy during Curing of Epoxy-Amine Resins[J]. Polymer Testing, 2006, 25(7):912—922.
- [3] 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.
- [4] MAIOLINI E, FERRI E, PITASI A L, et al. Bisphenol A Determination in Baby Bottles by Chemiluminescence Enzyme-linked Immunosorbent Assay, Lateral Flow Immunoassay and Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry[J]. Analyst, 2014, 139(1): 318—324.
- [5] 唐囡, 杨又华, 邓静伟, 等. 双酚 A 型酚醛树脂改性双氰胺固化环氧树脂行为的研究[J]. 表面技术, 2014, 43(6):144—148.
TANG Nan, YANG You-hua, DENG Jing-wei, et al. Research on the Behavior of Dicyandiamide Modified by Bisphenol-A Type Phenolic Aldehyde Curing Epoxy Resin[J]. Surface Technology, 2014, 43(6):144—148.
- [6] CHEN M Y, IKE M, FUJITA M. Acute Toxicity, Mutagenicity, and Estrogenicity of Bisphenol A and Other Bis-

- phenols[J]. *Environmental Toxicology*, 2002, 17(1):80—86.
- [7] MELZER D, GALLOWAY T. Bisphenol A and Adult Disease: Making Sense of Fragmentary Data and Competing Inferences[J]. *Annals of Internal Medicine*, 2011, 155(6):392—394.
- [8] RASTKARI N, YUNESIAN M, AHMADKHANIHA R. Levels of Bisphenol A and Bisphenol F in Canned Foods in Iranian Markets[J]. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 2011, 8(1):95—100.
- [9] KITAMURA S, SUZUKI T, SANO S, et al. Comparative Study of the Endocrine-Disrupting Activity of Bisphenol A and 19 Related Compounds[J]. *Toxicological Sciences*, 2005, 84(2):249—259.
- [10] 董文丽, 王伟华, 巩雪, 等. PC 制品中双酚 A 定量分析方法的研究[J]. *包装工程*, 2014, 35(5):5—8.
DONG Wen-li, WANG Wei-hua, GONG Xue, et al. Quantitative Analysis Method of Bisphenol A in PC Products[J]. *Packaging Engineering*, 2014, 35(5):5—8.
- [11] 孙希岚, 朱争礼, 单营营, 等. 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[J]. *包装工程*, 2013, 34(13):27—30.
SUN Xi-lan, ZHU Zheng-li, SHAN Ying-ying, et al. Determination of Bisphenol A in Coatings of Metal Food Cans by HPLC Fluorescence Detection Method[J]. *Packaging Engineering*, 2013, 34(13):27—30.
- [12] 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 Material by Accelerated Solvent Extraction and GC-MS/MS[J]. *Packaging Engineering*, 2011, 32(15):53—57.
- [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.
- [14] 邹银燕, 张虹. 高效液相荧光法对 5 种罐装食品模拟物中双酚类化合物的迁移分析[J]. *中国食品学报*, 2012, 12(9):186—191.
ZOU Yin-yan, ZHANG Hong. Analysis of Bisphenol A-related Compounds Migration Level in Five Food Cans Simulants by HPLC-FLD[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2012, 12(9):186—191.