

啤酒易拉罐中苯酚和双酚 A 的迁移检测

白泽清

(厦门市产品质量监督检验院, 厦门 361005)

摘要: **目的** 建立一种测定啤酒易拉罐中苯酚和双酚 A 迁移量的方法, 应用于市售易拉罐啤酒污染物的检测。**方法** 选用体积分数为 10% 的乙醇为食品模拟物, 在迁移温度为 60 °C, 迁移时间为 10 d 的条件下开展迁移研究, 采用高效液相色谱-荧光法对迁移样液进行检测。**结果** 在文中的试验方法下, 苯酚和双酚 A 在 7 min 内可实现完全分离, 方法的检出限 (LOD) 分别为 6.0 和 1.5 µg/L。苯酚在 20~400 µg/L 质量浓度范围内线性良好 (相关系数为 0.9999), 双酚 A 在 5~100 µg/L 质量浓度范围内线性良好 (相关系数为 0.9998)。通过对空白样品进行加标回收试验, 苯酚回收率为 90.0%~98.5%, 相对标准偏差 (RSD) 为 2.7%~6.2%; 双酚 A 回收率为 84.0%~102%, RSD 为 3.2%~5.3%。将该方法应用于 7 种易拉罐啤酒中苯酚和双酚 A 迁移量的检测, 结果均未检出苯酚, 双酚 A 检出量在 6.9~14.8 µg/kg 之间。**结论** 该方法准确度高、灵敏度好, 能够满足啤酒易拉罐中苯酚和双酚 A 迁移量检测的要求。

关键词: 苯酚; 双酚 A; 啤酒易拉罐; 迁移量; 高效液相色谱法

中图分类号: TB489; TS201.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2018)09-0092-04

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2018.09.016

Detection of Phenol and Bisphenol A Migration in Beer Cans

BAI Ze-qing

(Xiamen Products Quality Supervision & Inspection Institute, Xiamen 361005, China)

ABSTRACT: The work aims to establish a new method for the determination of the migration amounts of phenol and bisphenol A (BPA) in beer cans and apply such method in the contaminant detection of commercially ble canned beer. The ethyl alcohol (volume fraction: 10%) was selected as the food simulant to carry out migration studies when the migration temperature was at 60 °C and the migration time was 10 days. The migration sample solution was detected by high performance liquid chromatography-fluorescence. In the proposed method, phenol and BPA were separated completely in 7 min. The limit of detection (LOD) of the method was 6.0 µg/L for phenol and 1.5 µg/L for BPA. The correlation coefficient in the range of 20~400 µg/L (mass concentration) was 0.9999 for phenol and 0.9998 in the range of 5~100 µg/L (mass concentration) for BPA. The spiked recovery of phenol was 90.0%~98.5% with RSDs ranging from 2.7% to 6.2% while that was 84.0%~102% with RSDs ranging from 3.2% to 5.3% for BPA. The method was further applied to the migration detection of phenol and BPA in 7 kinds of canned beers. Phenol was not detectable, while the detected migration amounts of BPA varied in the range of 6.9~14.8 µg/kg. With high accuracy and good sensitivity, the method can meet the detection demands of phenol and BPA migration amounts in beer cans.

KEY WORDS: phenol; bisphenol A; beer cans; migration amount; high performance liquid chromatography

易拉罐装啤酒由于便于携带、易于饮用等原因, 在市场上广受欢迎。金属易拉罐的内壁涂有一层保护膜, 起到防护作用。然而, 涂膜中的一些有害化学物质也可能通过迁移进入食品。苯酚和双酚 A (BPA)

是常见的 2 种有害迁移物质, 分别来源于食品罐头内壁脱模涂料和环氧酚醛涂料。这 2 种污染物对人体均有一定的毒性, 长期接触会引起内分泌失调, 甚至损害肾、肝功能^[1-3]。

收稿日期: 2017-09-21

基金项目: 国家自然科学基金 (21706222)

作者简介: 白泽清 (1987—), 男, 博士, 工程师, 主要研究方向为食品包装安全。

许多国家都密切关注这 2 种酚类物质的安全性问题,制定了相应的限量规定。我国 GB 9685—2016《食品安全国家标准 食品接触材料及制品用添加剂使用标准》规定涂料、塑料及粘合剂中 BPA 的特定迁移量不得超过 0.6 mg/kg,欧盟现行法则 2004/19/EC 也规定食品中 BPA 的特定迁限量为 0.6 mg/kg。世界卫生组织规定饮用水中苯酚的含量不得超过 0.001 mg/L,我国 GB 5749—2006《生活饮用水卫生标准》规定生活饮用水中挥发酚类的限量为 0.002 mg/L。

过去几年,聚碳酸酯(PC)罐装瓶中 BPA 的迁移问题引起了社会的广泛关注^[4-7],已有大量相关方面的研究涌现。相比而言,金属易拉罐中 BPA 的迁移研究较为有限,苯酚的迁移则未见报道。Xie 等^[8]对国内市场上 31 种金属罐啤酒中 BPA 含量开展研究,采用固相萃取技术进行样品前处理,经液相色谱检测发现 BPA 向啤酒迁移的检出率为 100%;Noonan 等^[9]无需固相萃取浓缩步骤,直接采用液相色谱-串联质谱法对美国市场上 78 种金属罐装肉制品和饮料进行 BPA 迁移量检测,71 种产品的检出含量在 2.6~730 ng/g 之间;Kang 等^[10]连续使用 2 种固相萃取柱对金属罐各种食品内容物中的 BPA 进行富集,经液相色谱检测后发现装有氯化钠或植物油的罐体 BPA 迁移量更大。食品是成分极其复杂的多元体系,单独一种特定食品往往不足以代表其他食品特性,因此通常需要借助食品模拟物来开展迁移试验研究。这里选用体积分数为 10%的乙醇溶液模拟啤酒饮料,样品前处理无需固相萃取、浓缩等步骤,使用高效液相色谱-荧光法对金属易拉罐中苯酚和 BPA 的迁移量进行检测,旨在建立一种适合检测行业参考使用的特定迁移量检测方法。

1 实验

1.1 材料与设备

主要材料:苯酚和双酚 A 标准品,纯度为 99.8%,厦门众谱达仪器有限公司;甲醇(色谱纯),乙醇(分析纯),阿拉丁试剂(上海)有限公司;易拉罐空罐样品,由中国食品发酵工业研究院提供;易拉罐啤酒和玻璃瓶装啤酒样品,购自厦门市流通市场。

主要设备:Waters 2695 液相色谱仪,配有 Waters 2475 多波长荧光检测器,美国 Waters 公司;超纯水机,Milli-Q Reference 型,美国 Milipore 公司;自动封罐机,CanNeed-SM-24 型,肇庆市嘉仪仪器有限公司;超声清洗器,SK 8210HP 型,上海科导超声仪器公司。

1.2 方法

1.2.1 试验操作

1) 标准溶液配制。准确量取苯酚和 BPA 标准品

各 10 mg 于 100 mL 棕色容量瓶中,用蒸馏水配制成 100 mg/L 的储备液,置于 4 ℃冰箱中保存。分别量取 2.0 mL 苯酚标准储备液和 0.5 mL BPA 标准储备液于 10 mL 棕色容量瓶中,用体积分数为 10%的乙醇定容,此时苯酚质量浓度为 20 mg/L, BPA 质量浓度为 5 mg/L。

2) 迁移试验。取 6 个空罐(三片罐,直径为 6.4 cm,高为 9.0 cm),用自来水冲洗,超纯水淋洗,于 40 ℃烘箱中烘干。随后分别加入 330 mL 体积分数为 10%的乙醇,搅拌混匀,封罐摇匀,置于烘箱中,于 60 ℃条件下保存 10 d,然后取出,冷却至室温后分取 1 mL 供液相色谱进样分析。

1.2.2 食品模拟物

食品模拟物的选用原则为:模拟物应能最大程度地模拟真实食品在可预见的使用条件下所表现的迁移特性。依据 GB 31604.1—2015《食品安全国家标准 食品接触材料及制品迁移试验通则》对食品模拟物选择的规定,考虑到市售啤酒酒精度一般在 10%(体积分数)以下,文中试验最终选用体积分数为 10%的乙醇模拟啤酒饮料开展方法学研究。

1.2.3 迁移时间与迁移温度

为了让污染物充分迁移,迁移条件必须是产品可预见的最极端接触条件。迁移时间与迁移温度是影响污染物迁移的关键因素,对室温或低于室温条件下贮存 180 d 以上的产品(罐装啤酒保质期为 1 年),依据 GB 31604.1—2015 规定可采用极限迁移温度和极限迁移时间,因此文中试验选择其规定的 60 ℃作为迁移温度,选择 10 d 作为迁移时间。

1.2.4 色谱条件

参考关于液相色谱法检测苯酚或 BPA 单一组分的文献^[11-13],在考虑文中实验室现有条件的基础上,具体选用如下色谱条件:Waters Symmetry Shield RP18 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);柱温为 35 ℃;流动相为甲醇和水(体积比为 6:4),等度洗脱;流速为 1.0 mL/min;进样体积为 20 μL;激发光波长为 275 nm,发射光波长为 305 nm。

2 结果与讨论

2.1 方法学验证

2.1.1 分离度

按色谱条件对苯酚与 BPA 的混合标样进行上机检测,所得色谱峰信息见图 1。由图 1 可知,苯酚保留时间 $t_{R1}=3.9$ min,双酚 A 保留时间 $t_{R2}=6.0$ min。进一步计算两者的分离度(R),分离度为 2 倍相邻两峰的保留时间之差除以两峰的底峰宽(b)之和,可表

示为:

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{b_1 + b_2} \quad (1)$$

将 $t_{R2}=6.0$ min, $t_{R1}=3.9$ min, $b_1=0.3$ min, $b_2=0.5$ min 代入式 (1), 可得 $R=5.25$ 。对于高斯峰 (正态分布) 来说, $R \geq 1.5$ 时, 说明 2 个组分完全分离。

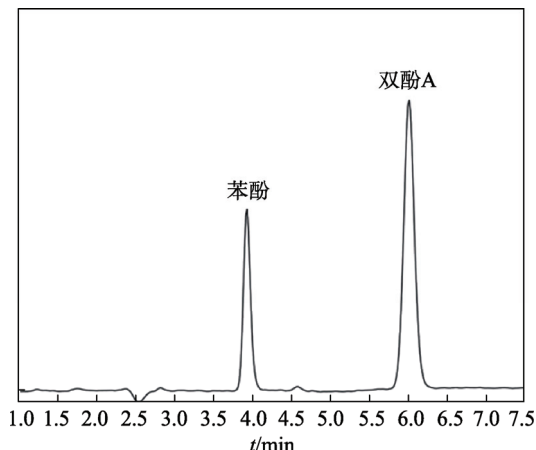


图 1 体积分数为 10% 的乙醇中加标 0.20 mg/L 苯酚和 0.05 mg/L 双酚 A 的液相色谱

Fig.1 Liquid chromatogram of a mixed solution of phenol at 0.20 mg/L and bisphenol A at 0.05 mg/L using 10% ethanol as solvent

2.1.2 线性关系与方法检出限

用体积分数为 10% 的乙醇作为基质, 添加不同浓度的混合标准工作液配成系列含有苯酚与 BPA 的基质添加样品, 按照色谱条件进行分离分析, 以目标物的质量浓度为横坐标 (x)、色谱峰面积为纵坐标 (y), 绘制标准曲线, 曲线参数见表 1。结果显示, 在体积分数为 10% 的乙醇中, 苯酚和双酚在测试范围内线性关系较好, 相关系数均大于 0.9998。

在空白模拟液中, 添加适量的混合标准溶液, 按照处理方法和检测条件进行检测, 以每种目标物的色谱峰信噪比 ≥ 3 时来确定其检出限, 结果见表 1。

表 1 苯酚和双酚 A 在体积分数为 10% 的乙醇中的线性范围、线性方程、相关系数和检出限

Tab.1 The linear range, linear equation, correlation coefficient and limit of detection (LOD) of phenol and BPA in 10% ethanol

化合物	线性方程	相关系数	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	检出限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
苯酚	$y=4.0 \times 10^6 x + 6.8 \times 10^4$	0.9999	20~400	6.0
双酚 A	$y=4.3 \times 10^7 x + 3.2 \times 10^4$	0.9998	5~100	1.5

2.1.3 基质影响

啤酒的主要成分除了水和乙醇外, 还有糖类、蛋白质、维生素等, 这些复杂物质的存在可能使待测物在仪器中的响应受到影响, 或增强或减弱, 因此需要进行评价。用玻璃瓶装啤酒为稀释液, 配制与上述浓

度范围一致的系列标准溶液, 液相色谱进样分析, 数据处理并再次绘制标准曲线。在啤酒基质中, 苯酚的线性方程为 $y=3.8 \times 10^6 x + 1 \times 10^4$, BPA 的线性方程为 $y=3.9 \times 10^7 x + 9 \times 10^4$ 。根据上述数据, 计算啤酒基质和体积分数为 10% 的乙醇基质中目标物线性方程的斜率比, 苯酚为 0.95, BPA 为 0.91, 说明两者在啤酒基质中仪器对其响应程度都受到一定的抑制。理想状态下, 比值应等于 1.0, 但在实际中, 一般比值在 0.85 ~ 1.15 之间即可认为基质效应不明显^[14]。

2.1.4 回收率和精密度

取不含苯酚和 BPA 的空白模拟液为基质, 添加不同浓度的标准工作溶液后分别配成低、中、高浓度加标样, 每个浓度平行配制 6 个样品, 按照处理方法和色谱条件来测定每种目标物的含量, 计算回收率与相对标准偏差, 结果见表 2。3 种浓度水平加标回收率为 84.0%~102%, 相对标准偏差在 6.2% 以下, 方法的回收率和精密度均满足要求。

表 2 体积分数为 10% 的乙醇模拟物中苯酚和双酚 A 的回收率和精密度 ($n=6$)

Tab.2 Recovery and precision of phenol and BPA in 10% ethanol simulant ($n=6$)

化合物	加标值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	检出值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率/%	平均相对 偏差/%
苯酚	20	18.0	90.0	6.2
	60	59.1	98.5	3.1
	200	190	95.0	2.7
双酚 A	5	5.1	102	5.3
	15	12.6	84.0	4.0
	50	46.8	93.6	3.2

2.2 样品分析

在厦门市流通市场上随机购买 7 种易拉罐啤酒和相应的玻璃装啤酒 (每种 3 个平行样), 在实验室中开盖, 室温下放置过夜, 充分除去 CO_2 。将盖子恢复至原位并用锡箔纸缠绕封牢, 随后将样品置于恒温烘箱中, 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置 10 d。取出后自然冷却至室温, 迁移液按色谱条件进行检测, 外标法定量。

文中选择玻璃瓶装啤酒作为空白样品, 均未检测出苯酚和 BPA 污染物。试验样品方面, 7 种金属罐装啤酒均无苯酚检出, 推测可能是涂层工艺中未使用苯酚作为原料; BPA 的检测结果则为多样性, 见表 3。其中样品 1 未检出 BPA 迁移, 其余 6 种样品均有不同程度检出, 质量浓度范围在 6.9~14.8 $\mu\text{g}/\text{L}$ 之间。在迁移试验中, 一般将浸泡液的密度视为 1 g/mL , 经换算后, 这 6 种阳性样品 BPA 的特定迁移量在 6.9~14.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 远低于我国及欧盟的限量 (600 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。各品牌罐装啤酒的 BPA 迁移量相差

较大，推测可能是由涂层成分和内容物的差异所引起的^[15—16]。

表 3 7 种金属罐啤酒中双酚 A 迁移量测定结果 (n=3)
Tab.3 Results of BPA migration in 7 kinds of beers stored in metal can (n=3)

样品编号	1	2	3	4	5	6	7
双酚 A 检测值/(μg·L ⁻¹)	0	6.9±0.4	10.9±1.0	14.8±0.5	12.0±1.1	9.3±0.3	11.0±0.2

3 结语

建立了一种液相色谱法以检测啤酒易拉罐中苯酚和 BPA 的迁移量，该方法采用 10%（体积分数）乙醇为食品模拟物，在食品可预期接触的最极限条件下进行迁移试验。将该方法应用于 7 种易拉罐啤酒中苯酚和 BPA 特定迁移量的检测，发现苯酚均未检出，BPA 检出量在 6.9~14.8 μg/kg 之间，远低于我国国家标准规定的特定迁移限量 600 μg/kg。文中方法具有操作简单、准确性高、重现性好等特点。后续工作将在提高方法的检测限方面展开，希望能检出更低污染物迁移水平的样品，以便更高标准地达到金属易拉罐产品质量监管工作需求。

参考文献：

[1]

GUO H C, LIU T Y, UEMURA Y, et al. Bisphenol A in Combination with TNF-alpha Selectively Induces Th₂ Cell-promoting Dendritic Cells in Vitro with an Estrogen-like Activity[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2010, 7(3): 227—234.

[2]

WONG K O, LEO L W, SEAH H L. Dietary Exposure Assessment of Infants to Bisphenol A from the Use of Polycarbonate Baby Milk Bottles[J]. Food Additives and Contaminants, 2005, 22(3): 280—288.

[3]

MOORS S, DIEL P, DEGEN G H. Toxicokinetics of Bisphenol A in Pregnant DA/Han Rats After Single i.v. Application[J]. Archives of Toxicology, 2006, 80(10): 647—655.

[4]

白泽清. 高效液相色谱法分析金属罐内涂层中 4-叔丁基苯酚迁移[J]. 分析试验室, 2017, 36(4): 481—484.
BAI Ze-qing. Migration Analysis of 4-tert-butylphenol in Coated Metal Cans by High Performance Liquid Chromatograph[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2017, 36(4): 481—484.

[5]

COOPER J E, KENDIG E L, BELCHER S M. Assessment of Bisphenol A Released from Reusable Plastic, Aluminium and Stainless Steel Water Bottles[J]. Chemosphere, 2011, 85(6): 943—947.

[6]

LE H H, CARLSON E M, CHUA J P, et al. Bisphenol A is Released from Polycarbonate Drinking Bottles and Mimics the Neurotoxic Actions of Estrogen in Developing Cerebellar Neurons[J]. Toxicology Letters, 2008, 176(2): 149—156.

[7]

LI Xu, YING Guang-guo, ZHAO Jian-liang, et al. 4-Nonylphenol, Bisphenol-A and Triclosan Levels in Human Urine of Children and Students in China, and the Effects of Drinking These Bottled Materials on the Levels[J]. Environment International, 2010, 36 (6): 557—562.

[8]

XIE Yun-fei, BAO Yang, WANG He-ya, et al. Release of Bisphenols from Can Coatings into Canned Beer in China Market[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015, 95(4): 764—770.

[9]

NOONAN G O, ACKEMAN L K, BEGLEY T H. Concentration of Bisphenol A in Highly Consumed Canned Foods on the U.S. Market[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(13): 7178—7185.

[10]

KANG J H, KITO K, KONDO F. Factors Influencing the Migration of Bisphenol A from Cans[J]. Journal of Food Protection, 2003, 66(8): 1444—1447.

[11]

FERRER E, SANTONI E, VITTORI S, et al. Simultaneous Determination of Bisphenol A, Octylphenol, and Nonylphenol by Pressurised Liquid Extraction and Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry in Powdered Milk and Infant Formulas[J]. Food Chemistry, 2011, 126(1): 360—367.

[12]

朱华蓉, 郝鹏鹏, 魏思雨. 北京市售桶装饮用水中双酚 A 的污染水平[J]. 包装工程, 2017, 38(1): 103—107.
ZHU Hua-rong, HAO Peng-peng, WEI Si-yu. Pollution Level of Bisphenol A in Barrelled Drinking Water Products Sold in Beijing Market[J]. Packaging Engineering, 2017, 38(1): 103—107.

[13]

董文丽, 王伟华, 龚雪, 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.

[14]

MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ-ENG C M. Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC-MS/MS[J]. Analytical Chemistry, 2003, 75(13): 3019—3030.

[15]

GOODSON A, ROBIN H, SUMMERFIELD W, et al. Migration of Bisphenol A from Can Coatings-effects of Damage, Storage Conditions and Heating[J]. Food Additives and Contaminants, 2014, 21(10): 1015—1026.

[16]

CAO X L, CORRIVEAU J, POPOVIC S. Levels of Bisphenol A in Canned Soft Drink Products in Canadian Markets[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(4): 1307—1313.