

采用高效液相色谱法测定 PET 瓶装饮用水中 双酚 A 及其迁移量

王杰, 尚俊琦, 石娟, 孙鹏伟, 李欢欢, 范文莹

(湖北文理学院 食品科学技术学院, 湖北 襄阳 441053)

摘要: **目的** 建立基于高效液相色谱技术的双酚 A 分析方法, 用于快速准确检测襄阳市售 5 种 PET 瓶装饮用水塑料包装中的双酚 A 含量及其在饮用水中的迁移量。**方法** 样品经前处理后, 采用高效液相色谱-紫外检测器方法分离检测, 选择 ODS-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×150.0 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙酸铵溶液 (体积比为 50:50), 柱温为 30 °C, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 280 nm。**结果** 双酚 A 的检出限为 0.004 μg/mL, 在 0.02 μg/mL 质量浓度条件下的相对标准偏差为 4.32%, 在线性浓度为 0.01~200 μg/mL 内的检测信号与双酚 A 浓度具有良好的线性相关性 ($r^2>0.9999$), 方法分析性能满足国标限量要求。襄阳市售主要品牌 PET 瓶装饮用水包装中虽均含有一定量的双酚 A, 但饮用水中未检出双酚 A。PET 包装中双酚 A 在 0.4, 4, 40 μg/g 等 3 个加标水平的回收率为 70.30%~113.00%, 饮用水中双酚 A 在 0.1, 1, 10 μg/g 等 3 个加标水平的回收率为 90.00%~119.00%, 加标回收结果良好。**结论** 此方法简便、准确、高效, 适用于 PET 瓶装饮用水包装中双酚 A 含量及迁移量的分析。

关键词: 高效液相色谱法; 饮用水; 塑料包装; 双酚 A; 迁移量

中图分类号: TS206.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2019)23-0070-05

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2019.23.011

Determination of Bisphenol A and Its Migration in PET Bottled Drinking Water by High Performance Liquid Chromatography

WANG Jie, SHANG Jun-qi, SHI Juan, SUN Peng-wei, LI Huan-huan, FAN Wen-ying

(School of Food Science and Technology, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China)

ABSTRACT: The work aims to establish a bisphenol A analysis method based on the high performance liquid chromatography to rapidly and accurately determine the bisphenol A content and its migration in 5 kinds of plastic packaging for PET bottled drinking water sold in Xiangyang. The pretreated sample was detected by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection (HPLC-UV) with a column of ODS-C₁₈ (4.6 mm×150.0 mm, 5 μm) at 30 °C. The mobile phase was methanol-ammonium acetate (V: V, 50:50), and the flow rate was 1 mL/min. The detection wavelength was 280 nm. The limit of detection (LOD) of bisphenol A was 0.004 μg/mL, and the relative standard deviation (RSD) was 4.32% at the concentration of 0.02 μg/mL. When the linear concentration was within 0.01~200 μg/mL, the detection signal had a good linear correlation ($r^2>0.9999$) with bisphenol A concentration. The analysis capability of the method met

收稿日期: 2019-06-17

基金项目: 湖北省自然科学基金青年项目 (2018CFB316); 湖北省教育厅中青年人才项目 (Q20182602); 湖北省高等学校实验室研究项目 (HBSY2018-33); 湖北文理学院科研基金项目 (2017kpy006, 2020170329, xk2018007)

作者简介: 王杰 (1998—), 男, 湖北文理学院本科生, 专业方向为食品检测。

通信作者: 范文莹 (1989—), 女, 博士, 湖北文理学院讲师, 主要研究方向为食品分析及其检测技术。

the limited demand of national standard. Certain amount of Bisphenol A was found in the packaging of PET bottled drinking water of major brands sold in Xiangyang, while no bisphenol A was detected in drinking water. The recoveries of bisphenol A in PET packaging at the spiked concentration of 0.4, 4 and 40 $\mu\text{g/g}$ were in the range of 70.30%~113.00%, and the recoveries of bisphenol A drinking water at the spiked concentration of 0.1, 1 and 10 $\mu\text{g/g}$ were 90.00%~119.00%. The proposed method is simple, accurate and efficient, which is suitable for the analysis of bisphenol A content and its migration in the packaging of PET bottled drinking water.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; drinking water; plastic packaging; bisphenol A; migration

双酚 A (Bisphenol A , BPA)^[1]是合成聚碳酸酯、环氧树脂等塑料制品的重要原料,用作增塑剂、阻燃剂、抗氧化剂等,同时也是一种典型的外源性内分泌干扰物。含双酚 A 的塑料制品用于食品包装时,双酚 A 会迁移至食品中,危害人体健康,如出生缺陷、前列腺癌、糖尿病、肥胖症等^[2-4]。世界各国对双酚 A 的危害都极为重视,对食品包装中双酚 A 的含量进行了限定,且禁止在婴儿食品包装材料中添加双酚 A^[5-7]。PET 瓶装饮用水在消费市场占据重要份额,我国 PET 瓶装饮用水的卫生标准混乱且质量不高,存在一定的安全隐患,因此需要加强食品安全监测管理。PET 瓶装饮用水的包装大多为塑料材质,可能存在双酚 A 的溶出风险,因而需要对 PET 瓶装饮用水塑料包装中的双酚 A 含量及其迁移量进行检测^[8]。

目前用于双酚 A 的检测方法多种多样,如分光光度法^[9-10]、分子荧光光谱法^[11-12]、电化学分析法^[13]、高效液相色谱法^[14-16]等。分光光度法、分子荧光光谱法和电化学分析法等虽普遍具有成本低廉、操作简便等优点,但分析结果易受复杂基质干扰。高效液相色谱法具有分辨率高、灵敏度高、准确性好、重现性好等优点,且有一定的抗基体干扰能力,适用于双酚 A 的分析检测。基于此,此研究建立高效液相色谱-紫外检测法 (High Performance Liquid Chromatography-ultraviolet Detection , HPLC-UV), 用以检测双酚 A , 其分辨率和灵敏度较高、分析速度快、重复性好,可准确检测市售 PET 瓶装水塑料包装中的双酚 A 含量及瓶装水中的双酚 A 迁移量,以提供科学可靠的检测结果,可用于 PET 瓶装饮用水中双酚 A 的风险评估。

1 实验

1.1 材料与试剂

主要试剂有甲醇 (色谱纯, 陇西科学); 双酚 A 标准品 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 盐酸、乙酸氨 (分析纯, 陇西化工股份有限公司); 超纯水由 Direct-Q 8UV-R (德国默克密理博) 纯水仪生产。

1.2 仪器与设备

主要仪器有 LC-20ADXR 高效液相色谱仪 (岛津企业管理 (中国) 有限公司); AL204 型电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司); KQ-500E 型超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); MTN-2800D 型氮吹浓缩仪 (天津奥赛特恩斯仪器有限公司); PHS-25 型 pH 计 (上海仪电科学仪器股份有限公司); 便携真空泵 (武汉恒信世纪科技有限公司); 砂芯过滤装置 (武汉明源科仪科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液配制

双酚 A 储备液的配制: 准确称取 0.01 g 双酚 A 标准品, 用甲醇溶解定容至 100 mL 的容量瓶中, 配制得到 100 $\mu\text{g/mL}$ 的双酚 A 标准储备液, 置于冰箱中冷藏 (4 $^{\circ}\text{C}$) 备用。

双酚 A 系列标准溶液的配制: 实验所需 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50 $\mu\text{g/mL}$ 的双酚 A 系列标准溶液均由 100 $\mu\text{g/mL}$ 的双酚 A 标准储备液用甲醇逐级稀释配制而得。

1.3.2 样品前处理

选购本地超市 5 种品牌的瓶装饮用水, 饮用水包装材质为聚对苯二甲酸乙二醇酯 (Polyethylene Glycol Terephthalate , PET)。

包装样品处理: 将饮用水塑料包装剪碎, 准确称取 0.5 g, 加入 10 mL 甲醇浸没包装样品, 在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下超声提取 1 h。收集提取液, 氮气吹干后用甲醇/水 (体积比为 1 : 1) 混合溶液重溶至 2 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后用于后续 HPLC-UV 检测。

饮用水样品处理: 取瓶装饮用水, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后用于后续 HPLC-UV 检测。

1.3.3 液相色谱条件

此实验采用高效液相色谱-紫外检测器作为双酚 A 的分离分析仪器, 具体的分离检测条件见表 1。在该条件下, 双酚 A 具有良好的色谱分离效果 (见图 1), 可以与样品基质有效分离, 避免了基质干扰对分析结果准确性的影响。

表1 高效液相色谱分离检测条件
Tab.1 Detection conditions of HPLC-UV method

项目	条件
色谱柱	ODS-C ₁₈ 色谱柱(4.60 mm×150.00 mm, 5.00 μm)
流动相 A	色谱纯甲醇
流动相 B	乙酸铵溶液(0.10 mol/L, pH 为 5)
A/B 比例	体积比为 50:50
流速	1 mL/min
柱温	30 °C
进样体积	20 μL
检测波长	280 nm

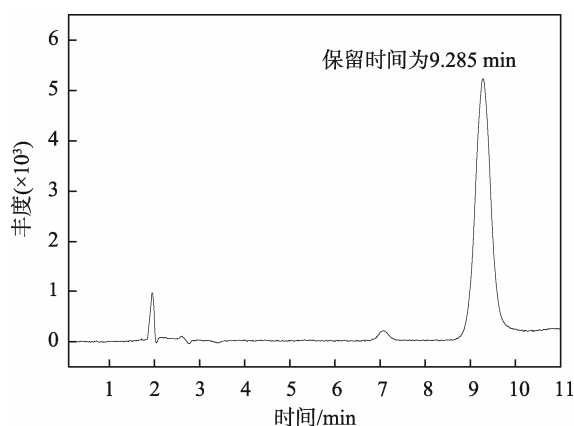


图1 双酚 A 的 HPLC-UV 色谱
Fig.1 HPLC-UV chromatogram of bisphenol A

2 结果与分析

2.1 方法分析性能

此研究建立了一种高效液相色谱法用于 PET 瓶装饮用水塑料包装中双酚 A 含量及迁移量的分析检测,在最优实验条件下对该方法的分析性能进行了一系列考察。根据国际理论和应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC)的定义,将计算仪器信噪比为 3 时的样品浓度作为检出限(Limit of Detection, LOD),为 0.004 μg/mL。在 0.02 μg/mL 浓度条件下考察所建方法对双酚 A 分析的重现性,计算所得相对标准偏差(Relative Standard Deviation, RSD, $n=5$)为 4.32%。该方法在 0.01~200 μg/mL 浓度范围内线性相关性良好,线性方程为 $Y=12593X-1650.7$ (X 为双酚 A 浓度(μg/mL); Y 为检测信号强度),线性相关系数 $r^2>0.9999$ 。可见,所建方法的分析性能可以满足实际样品分析的需要。

2.2 实际样品分析

2.2.1 瓶装水塑料包装中双酚 A 含量的测定

选购本地超市 5 种品牌的 PET 瓶装饮用水,经

样品处理后对其包装材料中的双酚 A 进行分析检测,见表 2。发现市售的 5 种品牌 PET 瓶装水塑料包装中均含有一定程度的双酚 A,对人体健康存在潜在威胁。

为验证此方法在实际样品分析中的准确性,对这 5 种样品进行了加标回收实验,加标含量为 0.4, 4, 40 μg/g,回收率在 70.30%~113.00%之间(见表 2),加标回收结果良好。加标前后 PET 瓶装饮用水塑料包装中双酚 A 的色谱结果见图 2,可见塑料包装中虽存在少量样品基质,但经过高效液相色谱分离可以避免基质干扰,分析结果准确可靠。

表2 瓶装水包装中双酚 A 的分析结果
Tab.2 Detection results of bisphenol A in the packaging of bottled drinking water

样品名称	加标含量/(μg·g ⁻¹)	检测含量/(μg·g ⁻¹)	回收率/%
品牌 I	0	0.16±0.0000	—
	0.4	0.44±0.0004	70.3
	4	4.60±0.0092	106.7
	40	42.40±0.8512	108.7
品牌 II	0	0.48±0.0008	—
	0.4	0.80±0.0016	74.3
	4	4.84±0.0097	103.3
	40	41.72±0.0836	106
品牌 III	0	0.12±0.0000	—
	0.4	0.48±0.0008	82.3
	4	4.84±0.0096	113
	40	42.16±0.0844	108
品牌 IV	0	0.28±0.0000	—
	0.4	0.44±0.0008	101
	4	5.04±0.0100	113
	40	42.28±0.0800	108
品牌 V	0	0.20±0.0000	—
	0.4	0.52±0.0012	83.1
	4	4.88±0.0096	112.5
	40	41.68±0.0832	106.7

2.2.2 瓶装水中双酚 A 迁移量的测定

由 3.2.1 节可知,5 种本地超市售卖的 PET 瓶装饮用水塑料包装中均检测出一定程度的双酚 A。GB 14942—1994《食品容器、包装材料用聚碳酸酯成型品卫生标准》^[17]中规定:1 L 饮用水中所含双酚 A 应低于 0.05 mg。由于瓶装水塑料包装中的双酚 A 会迁移至瓶装水中,进而经食物链富集威胁人体健康,因此对选购的 5 种瓶装水中双酚 A 的迁移量进行了检测,结果见表 3。由结果可知,选购的 5 种 PET 瓶装水中双酚 A 迁移量均低于方法检出限,可能是双酚 A 在塑料包装中的含量较少,且并未全部迁移至饮用水

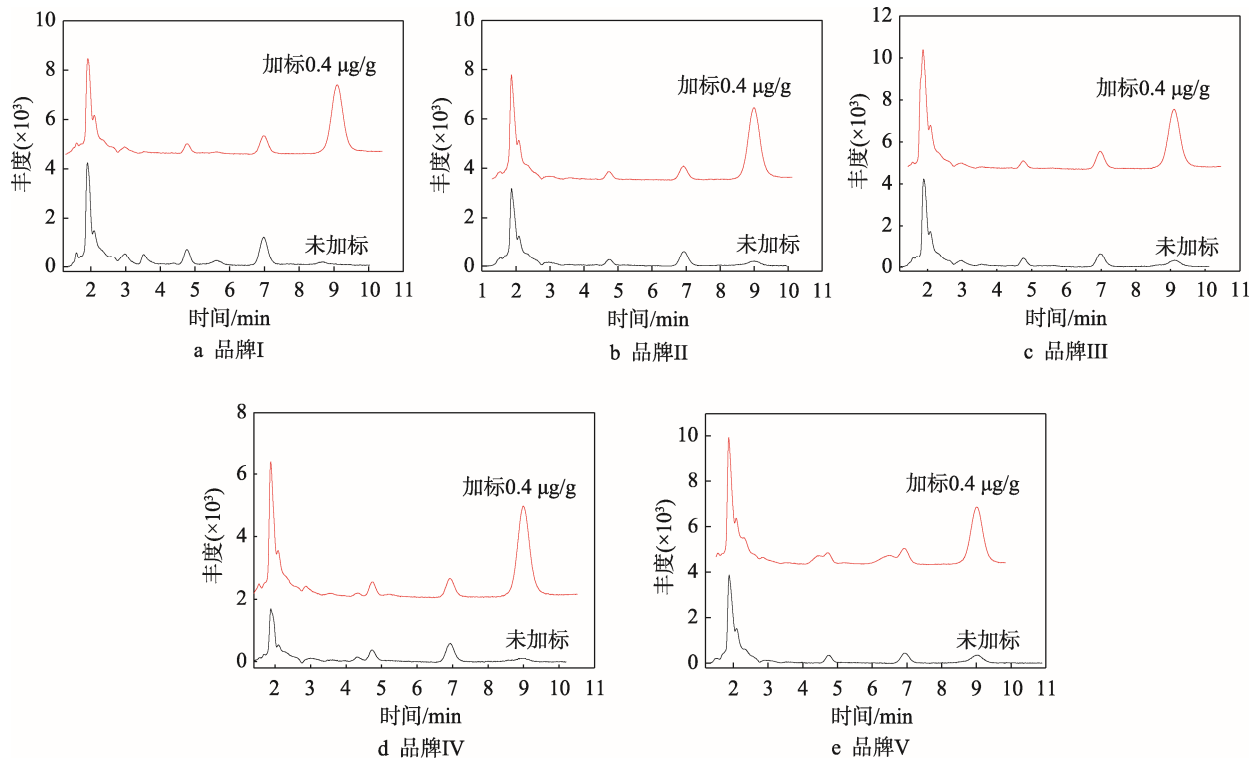


图 2 襄阳市售品牌 I—V 的瓶装水包装中双酚 A 检测色谱
Fig.2 HPLC chromatogram of bisphenol A in the packaging of bottled drinking water from Brands I-V in Xiangyang

表 3 瓶装水中双酚 A 迁移量的回收率 Tab.3 Recoveries of bisphenol A migration in of the bottled drinking water			
样品名称	加标含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	加标含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	回收率/%
品牌 I	0	—	—
	0.1	0.11 ± 0.0006	113.6
	1	1.09 ± 0.0044	109
	10	10.71 ± 0.0835	107.1
品牌 II	0	—	—
	0.1	0.11 ± 0.0003	109.4
	1	1.13 ± 0.0134	113
	10	10.72 ± 0.0536	107.2
品牌 III	0	—	—
	0.1	0.11 ± 0.0005	115.1
	1	0.95 ± 0.0455	90
	10	10.86 ± 0.0401	108.6
品牌 IV	0	—	—
	0.1	0.10 ± 0.0001	102.2
	1	1.11 ± 0.0203	111
	10	10.96 ± 0.0044	109.6
品牌 V	0	—	—
	0.1	0.10 ± 0.0003	104.2
	1	1.19 ± 0.0322	119
	10	10.71 ± 0.0441	107.1

中，因而饮用水中的双酚 A 含量极低，低于方法检出限，检测结果符合 GB 14942—1994 要求。

为验证此方法在实际样品分析中的准确性，对这 5 种样品进行了加标回收实验，加标含量为 0.1，1，10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，计算加标回收率在 90.00%~119.00% 间，加标回收结果良好。

3 结语

选取襄阳市售 PET 瓶装引用水为研究对象，建立了高效液相色谱法，对 PET 瓶装饮用水塑料包装中的双酚 A 含量及迁移量进行了分析检测，此方法简便、高效、准确。选取 5 种主流品牌的市售 PET 瓶装引用水塑料包装进行检测，5 种塑料包装中均含有一定量的双酚 A，检出量低于国家对食品包装中双酚 A 的限量规定。对 5 种主流品牌的市售 PET 瓶装引用水中双酚 A 的迁移量进行了检测，并未检出双酚 A，满足包装食品对双酚 A 的安全要求。

参考文献：

[1] VANDENBERG L N, LUTHI D, QUINERLY D A. Plastic Bodies in a Plastic World: Multi-disciplinary Approaches to Study Endocrine Disrupting Chemicals[J]. Journal of Cleaner Production, 2017, 140: 373—385.

[2] 李慧艳. 双酚 A 人群暴露情况和健康风险研究进展

- [J]. 中国公共卫生, 2018, 34(10): 1442—1445.
LI Hui-yan. Human Exposure to Bisphenol A and Its Health Risks: a Review[J]. Chinese Journal of Public Health, 2018, 34(10): 1442—1445.
- [3] GARCIA-ESPIEIRA M, TEJEDA-BENITEZ L, JESUS O V. Toxic Effect of Bisphenol A, Propyl Paraben, and Triclosan on *Caenorhabditis Elegans*[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2018, 15(4): 684.
- [4] YOUSSEF M M, EL-DIN E, ABUSHADY M M, et al. Urinary Bisphenol A Concentrations in Relation to Asthma in a Sample of Egyptian Children[J]. Human & Experimental Toxicology, 2018, 37: 1180—1186.
- [5] EU 2018/213, On the Use of Bisphenol A in Varnishes and Coatings Intended to Come into Contact with Food and Amending Regulation[S].
- [6] EU 2011/8, As Regards the Restriction of Use of Bisphenol A in Plastic Infant Feeding Bottles[S].
- [7] EU 2011/321, As Regards the Restriction of Use of Bisphenol A in Plastic Infant Feeding Bottles[S].
- [8] 王静怡, 郭启悦, 梁俊. 双酚 A 的检测现状及其发展趋势[J]. 包装工程, 2019, 40(3): 54—60.
WANG Jing-yi, GUO Qi-yue, LIANG Jun. Detection Status and Development Trend of Bisphenol A[J]. Packing Engineering, 2019, 40(3): 54—60.
- [9] 谢宇奇, 凌绍明, 唐婷艳. 藏红 T 分光光度法测定奶瓶中双酚 A[J]. 塑料科技, 2015, 43(1): 81—84.
XIE Yu-qi, LING Shao-ming, TANG Ting-yan. Study on Determination of Bisphenol A by Spectrophotometry with Safranin T[J]. Plastics Science and Technology, 2015, 43(1): 81—84.
- [10] 凌绍明, 欧阳辉祥, 黄宝敬. 基于固绿褪色反应的分光光度法测定双酚 A 的含量[J]. 理化检验(化学分册), 2016, 52(6): 625—628.
LING Shao-ming, OUYANG Hui-xiang, HUANG Bao-jing. Spectrophotometric Determination of Bisphenol A with Color-fading Reaction of Fast Green[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2016, 52(6): 625—628.
- [11] 张海容, 温婧, 高瑞苑, 等. Brij35 增敏荧光法测定塑料饮料瓶中双酚 A[J]. 分析科学学报, 2017, 33(3): 435—438.
ZHANG Hai-rong, WEN Jing, GAO Rui-yuan, et al. Determination of Bisphenol A in Plastic Beverage Bottle by Brij35 Sensitized Fluorescence[J]. Journal of Analytical Science, 2017, 33(3): 435—438.
- [12] GUAN T, SUN Y, ZHANG T, et al. Simultaneous Determination of Bisphenol A and Its Halogenated Analogues in Soil by Fluorescence Polarization Assay[J]. Journal of Soils and Sediments, 2018, 18: 845—851.
- [13] ABNOUS K, DANESH N M, RAMEZANI M, et al. A Novel Electrochemical Sensor for Bisphenol A Detection Based on Nontarget-induced Extension of Aptamer Length and Formation of a Physical Barrier[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2018, 119: 204—208.
- [14] 汪辉, 李晰晖, 常晓途, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定饮用水中 4 种痕量双酚类化合物[J]. 食品科技, 2016, 41(11): 269—273.
WANG Hui, LI Xi-hui, CHANG Xiao-tu, et al. Simultaneous Determination Traces of Four Bisphenols in Drinking Water by Solid Phase Extraction-high Performance Liquid Chromatography[J]. Food Science and Technology, 2016, 41(11): 269—273.
- [15] 王涛, 马明, 邵敏, 等. 高效液相色谱法同时测定塑料食品接触材料中双酚 S、双酚 A 和 4,4'-二氯二苯砜的迁移量[J]. 理化检验(化学分册), 2017, 53(12): 1398—1402.
WANG Tao, MA Ming, SHAO Min, et al. Simultaneous Determination of Migration of Bisphenol S, Bisphenol A and 4,4'-Dichlorodiphenyl Sulfo[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2017, 53(12): 1398—1402.
- [16] 曹博, 丁健桦, 苗佩佩, 等. 液相微萃取-HPLC 法测定复杂样品中的双酚 A[J]. 包装工程, 2015, 36(11): 65—70.
CAO Bo, DING Jian-hua, MIAO Pei-pei, et al. Determination of BPA in Complex Samples by Liquid Phase Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography[J]. Packing Engineering, 2015, 36(11): 65—70.
- [17] GB 14942—1994, 食品容器、包装材料用聚碳酸酯成型品卫生标准[S].
GB 14942—1994, Hygienic Standard for Polycarbonate Products Used as Food Containers and Packaging Materials[S].