

# 高效液相色谱法测定PC奶瓶中双酚A的含量及其迁移量

田 泉, 刘英丽\*, 王 静, 孙宝国

(北京工商大学 食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 北京 100048)

**摘 要:** 建立高效液相色谱法对PC奶瓶中残留双酚A(BPA)含量的检测方法, 并以水为模拟液, 固相萃取法富集处理, 研究不同浸泡时间BPA的迁移变化规律。结果表明: 市售某品牌PC奶瓶内可检测到BPA, 其总残留量为10.7mg/kg; 对PC奶瓶中残留BPA向水样中迁移的检测表明在1~6h内BPA迁移率为最大, 6h后迁移量变化不明显, 10h后基本到达饱和, 整个过程中BPA的特定迁移量为0.36mg/kg, 在水中的终质量浓度为0.025mg/L。该方法检测限( $R_{SN}=3$ )为0.6ng/mL, 回收率在85.9%~89.5%之间, 相对标准偏差0.78%~1.43%。

**关键词:** 奶瓶; 高效液相色谱; 双酚A; 迁移

## Determination of Bisphenol Residues and Migration in Baby Milk Bottles A by HPLC

TIAN Quan, LIU Ying-li\*, WANG Jing, SUN Bao-guo

(Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients,  
Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

**Abstract :** A high performance liquid chromatographic (HPLC) method was developed for determining bisphenol A (BPA) residue and migration in polycarbonate (PC) baby milk bottles. Solid-phase extraction (SPE) for analyte enrichment was used to study the effect of soaking time on BPA migration from PC baby bottles. BPA residues were detected in a certain brand of baby bottle at a level of 10.7 mg/kg. The migration of residual BPA from PC baby bottles to water reached the maximum level after exposure for 1–6 h, showed no obvious changes with increasing exposure time and basically reached equilibrium after 10 h exposure. During the whole process, the specific migration amount of BPA was 0.36 mg/kg, and the final concentration in water was 0.025 mg/L. The limit of detection of the HPLC method was 0.6 ng/mL ( $R_{SN} = 3$ ). The average recovery rates of BPA across three spike levels were 85.9%–89.5% with a relative standard deviation (RSD) of 0.78%–1.43% ( $n = 4$ ).

**Key words :** baby bottles; high performance liquid chromatography (HPLC); bisphenol A (BPA); migration

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)22-0255-04

双酚A(BPA)是2,2-双(4-羟基苯基)丙烷的俗称, 又称双酚基丙烷, 由苯酚和丙酮在酸性介质中合成。它是生产聚碳酸酯(polycarbonate, PC)及环氧树脂(epoxy resin, EP)的主要原料, 又可用作酚醛树脂、可塑性聚酯、抗氧化剂及聚氯乙烯(polyvinylchloride, PVC)稳定剂等, 在食品包装材料、容器内壁涂料等方面有着重要的用途, 添加双酚A可以使原料具有无色透明、耐用、轻巧和突出的防冲击性等特性, 尤其可以防止酸性果蔬从内部侵蚀金属内壁, 是制造婴儿奶瓶、水瓶及罐装瓶的内壁涂层的关键物质。基于这一优点, 世界上每年BPA的产量以数千万吨计, 但是近几年的研究表明, 双酚A在加热及长期使用的过程中会析出到食品中, 作为一种“环

境激素”, 具有雌激素活性, 在人体内能起到干扰体内正常激素分泌的作用, 从而影响生殖功能, 尤其对婴幼儿发育和免疫力有影响, 并可能导致恶性肿瘤的产生<sup>[1-3]</sup>。欧盟从2011年3月1日起禁止生产含双酚A的塑料奶瓶, 6月起全面禁止任何含双酚A塑料奶瓶流入其27个成员国, 我国六部委也于2011年6月1日起禁止生产含双酚A的婴幼儿奶瓶。目前, 多家大型超市、商场、孕婴专卖店已经将含有双酚A的制品下架, 但在一些批发市场、小店内还会看见含有双酚A的制品出售。

关于双酚A残留的检测方法有多种, 如极谱法<sup>[4]</sup>、免疫分析法<sup>[5-7]</sup>、荧光分析法<sup>[8]</sup>、电化学法<sup>[9-10]</sup>、传感器法<sup>[11-16]</sup>、色谱-质谱联用法<sup>[17]</sup>等, 其中酶联免疫和传感器

收稿日期: 2012-06-07

基金项目: 北京市科技新星项目(2008B07)

作者简介: 田泉(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品质量与安全。E-mail: spring-tq@163.com

\*通信作者: 刘英丽(1981—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为食品质量与安全。E-mail: liuyingli@th.btbu.edu.cn

法的灵敏度最高,最低检出限可达0.05ng/mL甚至更低,但是制备较为复杂。本实验选取市售PC材质的婴儿奶瓶为对象,采用溶剂萃取的方法通过高效液相色谱紫外检测器(high performance liquid chromatography-ultraviolet detector, HPLC-UV)检测PC奶瓶中BPA的总残留量,并以PC奶瓶中水为模拟液,固相萃取法富集处理,研究不同浸泡时间BPA的迁移变化规律。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

市售某品牌PC奶瓶,容量约为300mL。

甲醇、二氯甲烷(均为色谱纯);双酚A标品(AR)美国Sigma公司;去离子水 Millipore纯水器制备。

### 1.2 仪器与设备

Sigma 3K15高速离心机 塞维斯科技有限公司;HT-SPE 100固相萃取仪 上海月旭公司;固相萃取柱(Welchrom C<sub>18</sub>E, 200mg/3mL; Welchrom BRP, 200mg/6mL);FD-1PF冷冻干燥设备 北京德天佑科技有限公司;1200高效液相色谱仪(带紫外检测器) 美国安捷伦科技有限公司;Xtimate™ C<sub>18</sub>柱(4.6mm×250mm, 5μm)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 标准曲线绘制

采用外标法定量。将标准BPA样品用甲醇稀释至0.5、1、2.5、5、10、20μg/mL标准系列溶液,再按上述色谱条件分别测定峰面积,以6种标准品的质量浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

#### 1.3.2 PC奶瓶中残留BPA的提取

将PC奶瓶经液氮低温冷冻后,用研磨机磨成粉末,取已粉碎的样品1g,加入50mL二氯甲烷,用玻璃棒搅拌溶解,向溶液内缓慢滴加甲醇100mL,有白色高分子化合物析出,静置5min后,8000r/min离心20min,反复萃取,取上清液过氮吹后,以2mL甲醇溶解,过0.45μm滤膜, HPLC检测待用。

#### 1.3.3 色谱条件

Xtimate™ C<sub>18</sub>柱(4.6mm×250mm, 5μm);流动相:乙腈-水(42:58);流速:1.0mL/min;柱温:30℃;进样量:20μL;紫外检测波长:273nm。

#### 1.3.4 固相萃取柱选择优化

根据双酚A的物化性质、极性的特点,选用Welchrom C<sub>18</sub>E与Welchrom BRP两种不同固定相对水样进行富集处理,采用空白加标检测回收率的方法进行比较。空白液中BPA质量浓度分别设定为10μg/L和15μg/L。

#### 1.3.5 PC奶瓶内水样中BPA的富集处理

此款奶瓶为圆柱形,半径为2.6cm,高度(去掉盖子)

为13cm,总表面积约为233cm<sup>2</sup>。将奶瓶用清水洗净晾干,按照每8cm<sup>2</sup>的塑料接触面积对应接触10mL模拟浸泡液的规则,向奶瓶样品中倒入约300mL蒸馏水,瓶口用锡纸密封放入烘箱中,100℃条件下分别浸泡1、2、3、4、5、6h和12h。于固相萃取装置上,依次用2倍柱体积甲醇及高纯水过小柱,控制流速3~5mL/min,流出液弃去;在小柱上接入大体积进样器,将水样加入小柱,流出液弃去;用真空泵抽干柱内的水分后用2倍柱体积甲醇洗脱柱子收集滤液,60℃条件下用氮吹仪吹近干,然后用2mL甲醇定容,过0.45μm滤膜, HPLC检测待用。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线的绘制

BPA含量标准曲线回归方程为  $y=17.223x-1.9207$ ,  $R^2=0.9996$ ,说明BPA在质量浓度0~20μg/mL范围内具有良好的线性关系。

### 2.2 BPA(10μg/mL)的标准溶液HPLC色谱图

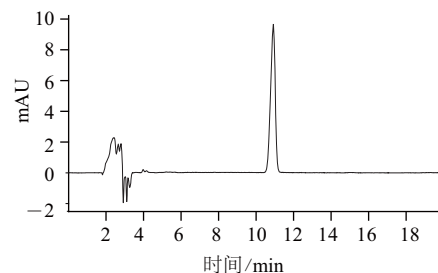


图1 BPA(10μg/mL)标准液HPLC色谱图  
Fig.1 HPLC chromatogram of standard BPA (10 μg/mL)

将质量浓度为10μg/mL的BPA标准液进样至HPLC进行检测,由图1可以看出BPA的出峰时间大约在10.7min左右。

### 2.3 PC奶瓶中残留BPA的检测

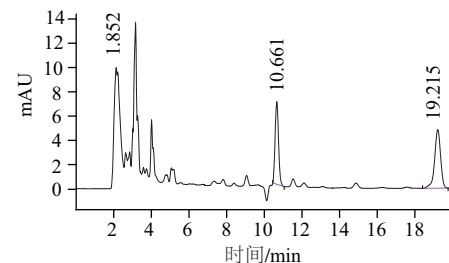


图2 PC奶瓶中BPA残留量检测HPLC色谱图  
Fig.2 HPLC chromatogram of BPA residues in PC baby bottles

对PC奶瓶中BPA残留量进行检测,结果如图2所示,可以看出6min前伴随着其他杂质峰,大约10.7min左右的时候出现一个锐利的峰形,与标准曲线对照可确定为BPA,通过计算可知经溶剂萃取测得的BPA质量浓度为5.337μg/mL,

1g样品中共计溶出BPA量为10.7μg,因此此法检测到的PC奶瓶中残留的BPA终质量浓度为10.7mg/kg。

2.4 PC奶瓶中BPA向水样的迁移测定

2.4.1 固相萃取柱选择优化

表1 两种固定相C<sub>18</sub>E and BRP柱对BPA的富集结果  
Table 1 Recoveries of C<sub>18</sub>E and BRP columns for BPA

空白液中BPA质量浓度/(μg/L)	C <sub>18</sub> E回收率/%	BRP回收率/%
10	85.9~89.5	76.5~87.5
15	80.7~90.0	72.5~86.5

选用Welchrom C<sub>18</sub>E与Welchrom BRP两种不同固相萃取柱对水样进行富集处理, BPA的上样质量浓度分别是10μg/L和15μg/L,测得的回收率见表1。由表1可知,在相同的上样条件下使用C<sub>18</sub>E的固相萃取柱具有更高的回收率,可达80%以上,对BPA富集处理效果更显著,可以满足本实验的需求,因此后续实验采用C<sub>18</sub>E柱进行样品的富集。

2.4.2 PC奶瓶中BPA随时间变化向水样的迁移规律

按照每8cm<sup>2</sup>的塑料接触面积对应接触10mL模拟浸泡液的规则,向奶瓶中倒入蒸馏水,烘箱100℃放置1h,富集,检测。与标准曲线对照,计算测得水样中BPA含量为3.802μg/L。

在相同温度下,随着时间的延长,放置2、3、4、5、6h和12h之后,再对PC奶瓶内残留BPA在水中的迁移量进行检测,其结果如图3所示。

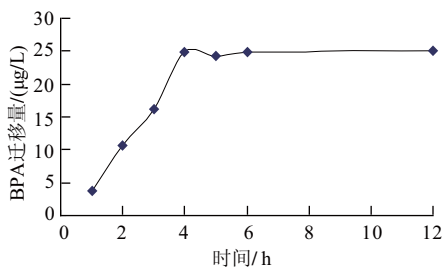


图3 BPA水中迁移量随时间的变化图

Fig.3 Time course of BPA migration from PC baby bottles to water

由图3可以看出,随着时间的延长,PC奶瓶内残留BPA向水内发生的迁移在1~6h内呈递增趋势,迁移率最大,质量浓度可达24.9μg/L。6h后,即使时间延长,BPA迁移量也不再有明显的变化,10~12h其迁移量达到饱和,最终停留在0.025mg/L左右。奶瓶容量约为300mL,共计迁移量为7.5μg,奶瓶身质量21g,因此最终迁移水平为0.36mg/kg。

2.5 方法的精密度及回收率测定

分别移取质量浓度为1mg/L和5mg/L的BPA标准溶液,连续6次进样,观察低质量浓度和高质量浓度情况下连续进样的误差大小,考察方法的精密度,测得的结果如表2所示。

表2 两种不同质量浓度BPA标液连续进样结果

Table 2 Comparison of results obtained by successive injection of two different BPA concentrations

质量浓度/(mg/mL)	指标	1#	2#	3#	4#	5#	6#	平均值	RSD/%
1.0	保留时间/min	10.661	10.668	10.67	10.669	10.674	10.656	10.666	0.062
	峰面积	5297	5373	4916	5171	5224	5246	5205	1.430
5.0	保留时间/min	10.672	10.671	10.675	10.665	10.66	10.68	10.67	0.066
	峰面积	35570	36087	35373	35302	35674	35563	35595	0.780

在已知双酚A含量为3.8μg/mL的水样中进行分别添加低浓度到高浓度BPA标准品的回收率实验,3个添加水平分别为0.3、0.7μg/mL和10μg/mL,每个添加实验平行测定4次,结果如表3所示。

表3 3种不同质量浓度标准液的加标回收率结果

Table 3 Recoveries of BPA from BPA spiked water

添加量/(mg/kg)	样品量/(mg/kg)	峰面积	测定量/(mg/kg)	回收率/%
0.3	0.0038	1535	0.2718	89.5
0.7	0.0038	4410	0.6116	86.9
10.0	0.0038	726170	8.6231	85.9

表2结果表明,不同质量浓度BPA样品连续6次进样,其峰面积的相对标准偏差RSD范围为0.78%~1.43%,控制在2%以下,说明该操作具备较高的精密度;表3回收率实验平均回收率均在85%以上,为85.9%~89.5%,说明该方法具备较高的可信性。同时,以信噪比大于等于3( $R_{SN} \geq 3$ )的最低质量浓度为最低检测限,测得为0.6ng/mL。以上实验数据说明该操作的精密度符合方法学要求,说明方法有效,可用于对食品接触塑包制品中BPA的检测。

3 讨论

本实验选取市售PC材质的奶瓶为对象,主要采用HPLC-UV检测PC奶瓶内BPA的总残留量以及研究不同时间下PC奶瓶中残留BPA向水样中的迁移变化规律。结果表明,市售某品牌PC奶瓶内BPA残留可被检测到,其总残留量为10.7mg/kg。对于PC奶瓶中残留BPA向水样中迁移的检测,通过选择最佳的固相萃取柱C<sub>18</sub>E进行富集,HPLC-UV检测可知:在1~6h内BPA迁移率为最大,6h后迁移量变化不明显,10h后基本到达饱和,整个过程中BPA迁移总量为7.5μg,在水中的质量浓度为0.025mg/L左右,以PC材料计,其溶出量为0.36mg/kg,说明PC食品包装材料中的双酚A在存放过程中向水中发生了微量的迁移。虽然我国已于2011年6月1日起禁止生产含双酚A的婴幼儿奶瓶,但双酚A允许用于生产除婴幼儿奶瓶以外的其他食品包装材料、容器和涂料。我国2009年3月对食物接触材料中双酚A的迁移量做了限量标准(GB/T 23296.16—2009《食品接触材料 高分子材料 食品模拟物中2,2-(4-羟基苯基)丙烷(双酚A)的测定:高效液相色谱法》),

规定水基食品模拟物中双酚A的测定低限为0.03mg/L, GB 9685—2008《食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准》中规定塑料、涂料和黏合剂中BPA的迁移限量规定为0.6mg/kg, 从这个角度来说, 此种PC材料的奶瓶迁移量并未超标, 可用于其他食品包装材料、容器和涂料的使用, 但是在婴儿奶瓶中的检出是严格禁止的。与GB/T 23296.16—2009对双酚A水基模拟物迁移量的测定方法相比, 本实验的检测方法通过固相萃取技术(SPE)对双酚A进行富集, 比较Welchrom C<sub>18</sub>E和BRP后确定以C<sub>18</sub>为吸附材料进行富集, SPE的使用降低了检测限, 提高了灵敏度, 该检测方法双酚A检测限( $R_{SN}=3$ )达0.6ng/mL, 平均回收率为85.9%~89.5%, 相对标准偏差为0.78%~1.43%, 适合对食品包装材料中双酚A迁移量进行检测。

目前, 欧美日本等对食品包装材料中BPA的检测技术及相关标准都比较完善, 我国在此方面还有一定的距离, 加大对BPA检测技术的研究力度, 为国家制定相关标准迫在眉睫。首个双酚A国标GB/T 28113—2011《工业用双酚A》将于2012年10月1日开始实施, 此国标的实施将对市场中双酚A制品的生产与销售起到有力的管理和监督, 对消费者的健康也将起到积极的保护作用。

#### 参考文献:

- [1] 杨淋清, 庄志雄. 低剂量双酚A与乳腺癌关系研究进展[J]. 中国公共卫生, 2010, 26(12): 1557-1559.
- [2] 秦定霞, 刘嘉茵. 双酚A对生殖系统的影响及其作用机制[J]. 国际生殖健康杂志, 2010, 29(1): 26-29.
- [3] VANDENBERG L N, HAUSER R, MARCUS M, et al. Human exposure to bisphenol A(BPA)[J]. *Reprod Toxicol*, 2007, 24(2): 139-177.
- [4] 张文德, 马志东, 郭忠. 食品包装材料中双酚A的极谱测定[J]. 分析化学, 2003, 31(2): 249-250.
- [5] 石春红. 酶联免疫法检测双酚A的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- [6] 魏孔吉, 赵美萍, 李元宗, 等. 生物素-亲和素放大酶联免疫吸附法测定双酚A[J]. *分析化学研究简报*, 2005, 33(8): 1122-1124.
- [7] KIM A, LI Chunri, JIN Chunfeng, et al. A sensitive and reliable quantification method for bisphenol A based on modified competitive ELISA method[J]. *Chemosphere*, 2007, 68(7): 1204-1209.
- [8] 余宇燕, 庄蕙生, 沙玫. 荧光法测定食品包装材料中的双酚A[J]. *分析测试学报*, 2006, 25(5): 99-101.
- [9] 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.
- [10] ZHONG Shuxian, TAN Sweengin, GE Liya, et al. Determination of bisphenol A and naphthols in river water samples by capillary zone electrophoresis after cloud point extraction[J]. *Talanta*, 2011, 85(1): 488-492.
- [11] TSURU N, KIKUCHI M, KAWAGUCHI H, et al. A quartz crystal microbalance sensor coated with MIP for "bisphenol A" and its properties[J]. *Thin Solid Films*, 2006, 499(1/2): 380-385.
- [12] SHANKARAN D R, GOBI K V, MIURA N. Recent advancements in surface plasmon resonance immunosensors for detection of small molecules of biomedical[J]. *Food and Environmental Interest Sens Actuators B*, 2007, 121(1): 158-177.
- [13] SOH N, WATANABE T, ASANO Y, et al. Indirect competitive immunoassay for bisphenol A, based on a surface plasmon resonance sensor[J]. *Sens Mater*, 2003, 15(8): 423-438.
- [14] MATSUMOTO K, SAKAI T, TORIMARU A, et al. A surface plasmon resonance-based immunosensor for sensitive detection of bisphenol A[J]. *J Fac Agric Kyushu Univ*, 2005, 50(2): 625-634.
- [15] HEGNEROVÁ K, PILIARIK M, ŠTEINBACHOVÁ M. Detection of bisphenol A using a novel surface plasmon resonance biosensor[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 398(5): 1963-1966.
- [16] FAN Haixia, LI Yan, WU Dan, et al. Electrochemical bisphenol A sensor based on N-doped graphene sheets[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 711(2): 24-28.
- [17] 丁红春, 李建林, 徐逸云, 等. 婴幼儿奶瓶中迁移双酚A的高效液相色谱-电喷雾串联质谱检测方法研究[J]. *化学分析计量*, 2010, 19(5): 42-45.