

罐裝飲料中丙二酚A及丙二酚A二環氧甘油醚 檢驗方法之建立

張美華 李鳳綺 高雅敏 周薰修

第四組

摘 要

丙二酚A (bisphenol A, BPA)、丙二酚A二環氧甘油醚 (bisphenol A diglycidyl ether, BADGE) 及其衍生物, 包括2種水合物丙二酚A二環氧甘油醚單水合物 (bisphenol A (2,3-dihydroxypropyl) glycidyl ether, BADGE·H₂O)、丙二酚A二環氧甘油醚二水合物 (bisphenol A bis(2,3-dihydroxypropyl) ether, BADGE·2H₂O) 及3種含氯化物丙二酚A二環氧甘油醚氫氯化物 (bisphenol A (3-chloro-2-hydroxypropyl) glycidyl ether, BADGE·HCl)、丙二酚A二環氧甘油醚二氫氯化物 (bisphenol A bis(3-chloro-2-hydroxypropyl) ether, BADGE·2HCl) 和丙二酚A二環氧甘油醚水合物氫氯化物 (bisphenol A (3-chloro-2-hydroxypropyl)(2,3-dihydroxypropyl) ether, BADGE·H₂O·HCl), 為罐頭塗料溶出物, 本研究使用高效液相層析法配合螢光檢出器建立罐裝飲料其含量之檢測方法。依飲料類型, 檢體分別以甲基第三丁基醚或乙腈萃取, 經乙腈飽和之正己烷去油脂, 再以Sep-Pak C18及Sep-Pak Florisil過濾層析淨化、或濾膜過濾, 以高效液相層析儀分析定量。使用之層析管柱Luna C18(2) (25 cm × 4.6 mm i.d., 5 μm thickness), 以水/乙腈/甲醇梯度移動相溶液, 於激發波長230 nm、放射波長304 nm可同時分離檢測7種化合物。添加0.2、0.4及0.8 ppm混合標準溶液於咖啡檢體中, 其平均回收率為80.9~108.8%, 變異係數皆小於5.5%; 添加0.05、0.1及0.2 ppm混合標準溶液於蕃茄汁檢體中, 其平均回收率為81.1~109.8%, 變異係數皆小於5.7%。本方法之檢出限量BADGE·2H₂O、BADGE·H₂O·HCl及BADGE·2HCl均為0.003 ppm, BPA、BADGE、BADGE·H₂O及BADGE·HCl均為0.005 ppm。

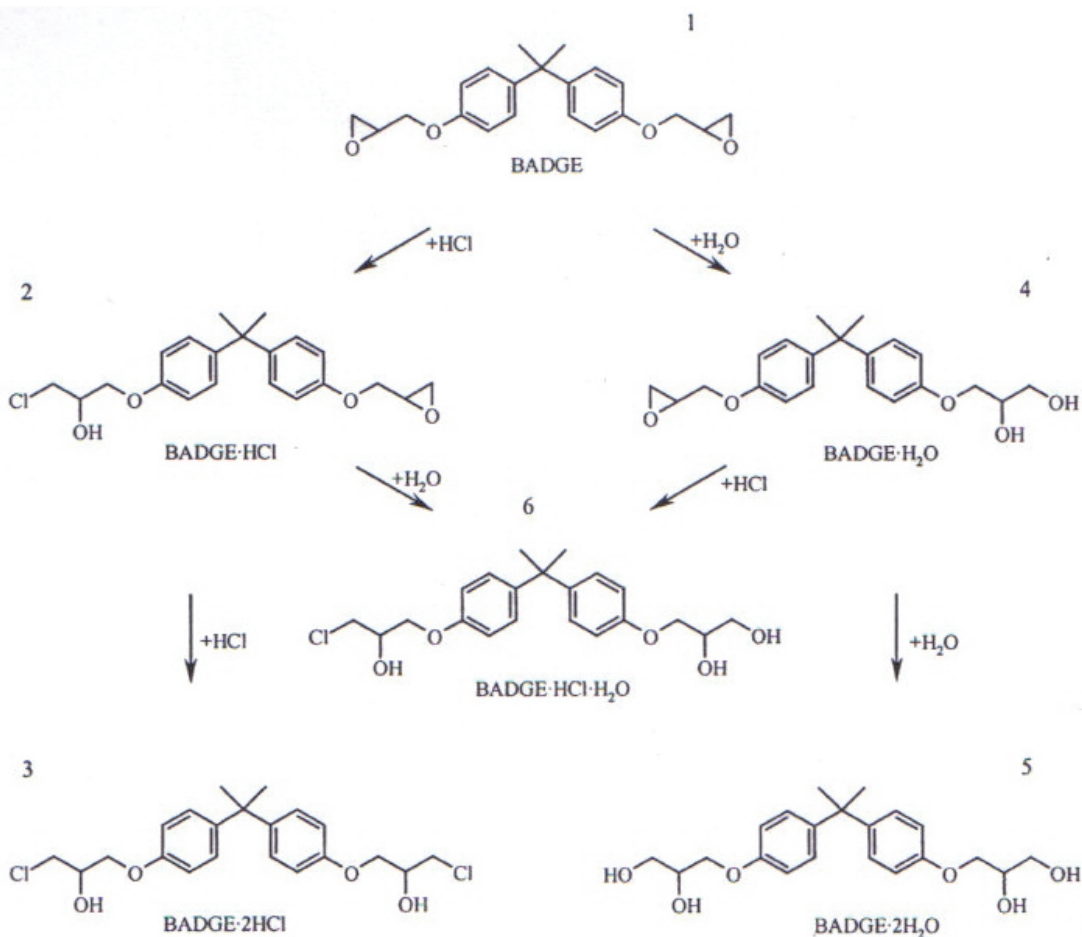
關鍵詞：丙二酚A、丙二酚A二環氧甘油醚、高效液相層析

前 言

丙二酚A (bisphenol A) 為工業製品, 可用來製造多種塑料、磁牙的充填物或密合劑, 以及火燄阻攔劑 (flame retardant) 等, 主要用途為製造多元碳酸酯 (polycarbonate, PC) 容器如嬰兒奶瓶等, 其次大約有25%丙二酚A用於生產食品或飲料罐頭內壁塗料如環氧樹脂⁽¹⁾等, 因為它可能從特定產品溶出影響健康而廣泛被研究。丙二酚A二環氧甘油醚 (bisphenol A diglycidyl ether, BADGE) 之用途, 除作為環氧樹脂的單體外, 亦添加於氯乙烯有機溶膠 (organosol) 中作為安定劑及塑化劑, 或於聚酯 (polyester) 中作為強化劑 (enhancer)。

丙二酚A類似雌性激素 (estrogen), 被視為荷爾蒙干擾物 (hormone disruptor) 或內分泌干擾物 (endocrine disruptor), 其干擾內分泌的能力約為雌性激素的萬分之一。哺乳動物 (mammal) 之經口實驗, 其LD₅₀為6500 mg/kg, 大鼠 (rat) 的LD₅₀為3250 mg/kg, 對於眼睛、皮膚及氣管亦具腐蝕性⁽²⁾。研究顯示丙二

酚A為畸胎原 (teratogen), 會引起過敏、降低精蟲數、影響生殖系統及增加與荷爾蒙有關的癌症發生率, 如乳癌、睪丸癌及前列腺癌等。而BADGE也被推測為致癌物質 (carcinogen) 或突變劑 (mutagen), 可能作用於中樞神經系統、肝臟及腎臟⁽³⁾。BADGE可溶於大部分有機溶劑, 為脂溶性物質, 在含水分組成中並不安定, 會轉變形成水合物丙二酚A二環氧甘油醚單水合物 (bisphenol A (2,3-dihydroxypropyl) glycidyl ether, BADGE·H₂O) 及丙二酚A二環氧甘油醚二水合物 (bisphenol A bis(2,3-dihydroxypropyl) ether, BADGE·2H₂O), 在氯乙烯有機溶膠製備時, 因移除氫氯酸或與食品中氯離子作用形成含氯化物丙二酚A二環氧甘油醚氫氯化物 (bisphenol A (3-chloro-2-hydroxypropyl) glycidyl ether, BADGE·HCl)、丙二酚A二環氧甘油醚二氫氯化物 (bisphenol A bis(3-chloro-2-hydroxypropyl) ether, BADGE·2HCl) 和丙二酚A二環氧甘油醚水合物氫氯化物 (bisphenol A (3-chloro-2-hydroxypropyl)(2,3-dihydroxypropyl) ether, BADGE·H₂O·HCl)⁽⁴⁾, 如圖一。BADGE及其5種衍生物因其含有氯分子或帶有環氧基或同時含有氯及環氧基



圖一、BADGE衍生物之形成

而被認為具不同程度的基因毒性⁽⁵⁾ (genotoxicity)。

一般分析丙二酚A及BADGE的方法大部分採用高效液相層析法配合電化學檢出器 (HPLC/ECD)⁽⁶⁾、紫外光檢出器 (HPLC/UV)⁽⁷⁾或螢光檢出器 (HPLC/FLU)⁽⁸⁻¹⁵⁾；有些研究採用氣相層析質譜儀^(3,16-18) (GC/MS) 或液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS)⁽⁵⁾作檢測，但此類檢測方法的感度不高，且採GC/MS檢測時化合物必須經衍生化處理。有關罐裝飲料塗料的溶出，大多僅檢測丙二酚A⁽⁵⁾，Biles等人⁽¹⁹⁾以HPLC/FLU分析可樂及液體嬰兒配方中BADGE及其衍生物，Uematsu⁽²⁰⁾等人以正相HPLC/FLU分析易開罐咖啡飲料中BADGE·2HCl，檢出的咖啡檢體再以逆相HPLC/FLU分析BADGE·2HCl、BADGE·2H₂O及BADGE·H₂O·HCl。

本局94年度已利用HPLC/FLU建立金屬罐中丙二酚A、BADGE及其衍生物之分析方法，結果發現以模擬溶液，包括水、4%醋酸溶液、20%酒精溶液及正庚烷進行金屬空罐溶出，丙二酚A溶出量於20%酒精溶液之溶出條件下 (60°C，30分鐘) 最高，但仍低於

Kawamura等⁽²¹⁾研究採120°C，30分鐘加熱處理之溶出量，為瞭解熱殺菌處理對於罐裝飲料中此類化合物之溶出情形，本研究進一步建立罐裝飲料中丙二酚A、BADGE及其衍生物之檢驗方法。

材料與方法

一、檢體來源

本研究使用之罐裝飲料檢體係於95年3月至10月間購自台北市及台北縣之便利商店及超級市場，包括咖啡、運動飲料、啤酒、碳酸飲料、蔬果汁、茶飲料及奶茶等。

二、試藥

(一) 對照用標準品

丙二酚A (bisphenol A, BPA; 純度 ≥ 99.0%) 及丙二酚A二環氧甘油醚 (bisphenol A diglycidyl ether, BADGE; 純度 ≥ 99.0%) 均購自日本東京化成工業株式會社 (Tokyo)。bisphenol A(3-chloro-2-

hydroxypropyl) glycidyl ether(BADGE·HCl; 純度93.7%)、bisphenol A bis(3-chloro-2-hydroxypropyl) ether(BADGE·2HCl; 純度99.7%)、bisphenol A(3-chloro-2-hydroxypropyl)(2,3-dihydroxypropyl) ether(BADGE·H₂O·HCl; 純度96.5%)、bisphenol A(2,3-dihydroxypropyl)glycidyl ether(BADGE·H₂O; 純度95.8%)及 bisphenol A bis(2,3-dihydroxypropyl) ether(BADGE·2H₂O; 純度98.1%) 均購自美國Sigma-Aldrich公司 (Saint Louis)，以上共計7種對照用標準品。

(二)試藥

乙腈、甲醇、正丙醇、正己烷及甲基第三丁基醚 (*tert*-butyl methyl ether, TBME) 均購自德國Merck公司 (Darmstadt)，純度為液相層析級。氯化鈉購自德國Merck公司，純度為試藥特級。

三、器具及材料

(一)過濾層析匣：Sep-pak C18及Sep-pak Florisil過濾層析匣：含量500 mg，均購自美國Waters公司 (Milford, Massachusetts)

(二)濾膜：孔徑0.45 μm ，Nylon材質

四、裝置

(一)離心機 (Centrifuge)：Labofuge 400，德國Heraeus Instruments公司 (Hanau) 產品

(二)螢光分光光度計 (Fluorescence spectrophotometer)：F-4500，日本Hitachi公司 (Tokyo) 產品

(三)高效液相層析儀 (High performance liquid chromatograph)：日本Hitachi產品，包括配有Hitachi organizer、DG2410除氣器 (degasys)、L-2130三相溶媒輸送系統 (tertiary pump)、L-2200自動注射器 (autosampler) 及L-2480螢光檢出器。資料處理系統為EZChrom Elite 控制積分軟體

(四)層析管柱：Luna C18(2)，(25 cm $\times$ 4.6 mm i.d., 5 μm thickness)，美國Phenomenex公司 (Torrance, California) 產品

(五)減壓濃縮機 (Rotary evaporator)：瑞士Buchi公司 (Flawil) 產品

(六)旋渦混合器 (Vortex mixer)：美國Barnstead International公司 (Iowa) 產品

五、標準溶液之調製

(一)標準原液：分別取BPA、BADGE、BADGE·2HCl、BADGE·H₂O·HCl、BADGE·H₂O及BADGE·2H₂O各約10 mg，精確稱定，分別以乙腈溶解並定容至100 mL，另取BADGE·HCl 約25 mg，精確稱定，以乙腈溶解並定容至100 mL，供作標準原液

(二)混合標準溶液：取上述各標準原液以乙腈稀釋，配製成0.05~0.4 $\mu\text{g/mL}$ 之混合標準溶液

六、檢液製備

(一)萃取

1. 蕃茄汁：取檢體約2 g，精確稱定，加入TBME

5 mL，旋渦混合1分鐘後，經3500 rpm離心10分鐘，取上清液，下層液再以TBME重複萃取1次，合併上清液於濃縮瓶中，於38°C水浴減壓濃縮至約1 mL。

2. 咖啡、奶茶類飲料：取檢體約2 g，精確稱定，加入氯化鈉2 g及乙腈5 mL，旋渦混合1分鐘後，經3500 rpm離心10分鐘，取上清液，下層液再以乙腈重複操作1次，合併上清液於分液漏斗中，加入以乙腈飽和之正己烷溶液25 mL，振盪萃取5分鐘，下層 (乙腈層) 移至濃縮瓶中，加入正丙醇5 mL，於38°C水浴減壓濃縮至約1 mL。

(二)Sep-pak C18過濾層析匣淨化

將上述萃取液加水10 mL，注入預先以甲醇5 mL、水5 mL活化之Sep-pak C18過濾層析匣中，原濃縮瓶以10%乙腈溶液5 mL潤洗2次，注入層析匣，棄流出液，再以甲醇/乙腈 (2:8, v/v) 溶液5 mL潤洗2次，注入層析匣，收集沖提液於濃縮瓶。

1. 蕃茄汁、奶茶：沖提液於38°C水浴減壓濃縮至乾，以乙腈溶解並定容至2 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2. 咖啡：沖提液直接注入以正庚烷5 mL活化之Florisil層析匣，收集流出液，加正丙醇5 mL，於38°C水浴減壓濃縮至乾，以乙腈溶解並定容至2 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

(三)啤酒：精確量取檢體5 mL，直接以Sep-pak C18層析匣淨化後，以乙腈溶解並定容至5 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

(四)其他飲料如運動飲料、碳酸飲料及蔬菜汁：檢體直接以0.45 μm 濾膜過濾，供作檢液。

七、HPLC定量分析

(一)HPLC分析條件

移動相溶液：(A) 乙腈，(B) 甲醇，(C) 水以下列梯度程式進行：

Time (min)	A (%)	B (%)	C (%)
0	42	3	55
14	42	3	55
16	60	0	40
28	60	0	40
30	100	0	0
44	100	0	0
45	42	3	55
60	42	3	55

a. 流速：1 mL/min

b. 注入量：20 μL

c. 螢光檢測器：激發波長230 nm，放射波長304 nm

(二)標準曲線之製作

取前述BPA、BADGE及其衍生物的標準原液以乙

腈配製為0.1、0.2、0.3及0.4 $\mu\text{g/mL}$ 共四種濃度之混合標準溶液，精確量取混合標準溶液各20 μL ，分別注入高效液相層析儀，以上述HPLC分析條件進行三重複分析，由積分之波峰面積對濃度作圖，經回歸分析製作標準曲線。

(三)含量測定

精確量取檢液及混合標準溶液各20 μL ，分別注入高效液相層析儀，就檢液與混合標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並由標準曲線中求得檢液中各丙二酚A化合物含量 (ppm)，計算式如下：

$$\text{檢體中各丙二酚A化合物含量 (ppm)} = \frac{C \times V}{W}$$

C：由標準曲線求得檢液中各丙二酚A化合物之濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V：檢體最後定容之體積 (mL)

W：取樣分析檢體之重量 (g)

八、添加回收試驗

(一)添加0.2、0.4及0.8 ppm各丙二酚A化合物之混合標準溶液於咖啡檢體中，每一添加量作三重複，同時作空白試驗，以建立之檢驗方法分析其含量，並計算回收率。

(二)添加0.05、0.1及0.2 ppm各丙二酚A化合物之混合標準溶液於蕃茄汁檢體中，依上述同樣程序計算回收率。

結果與討論

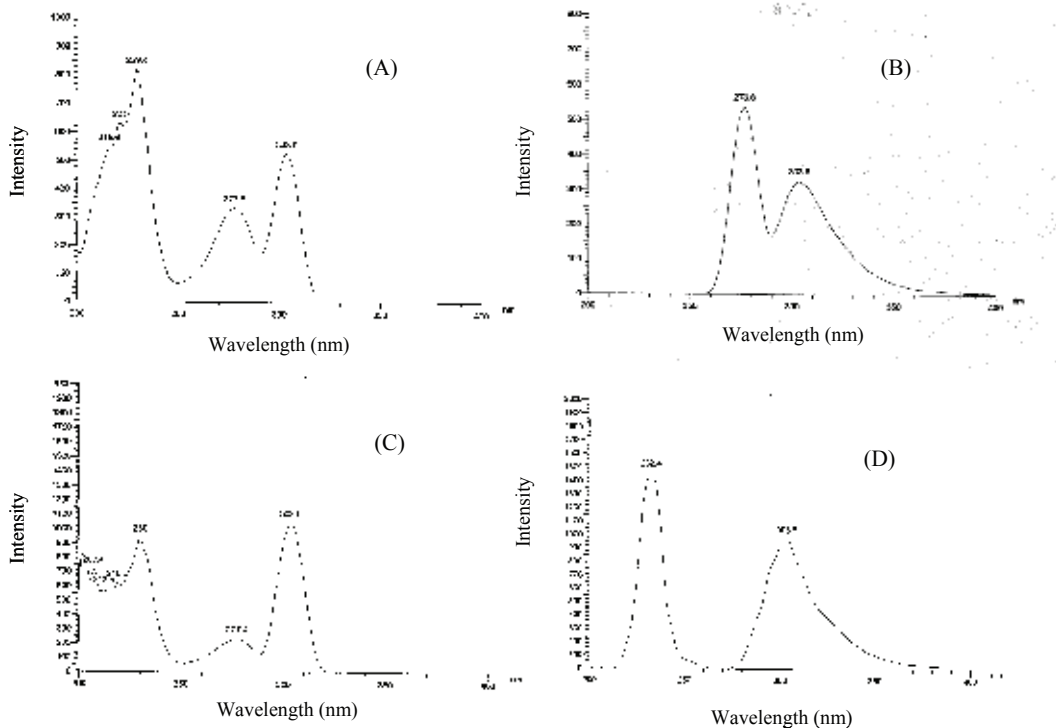
一、高效液相層析條件之探討

(一)最適偵測波長之選擇

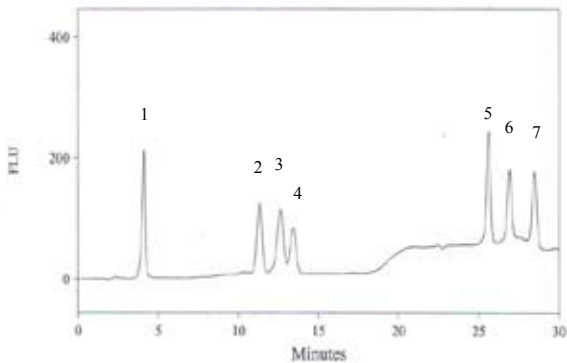
丙二酚A、BADGE及其衍生物以螢光分光光度計進行吸收圖譜掃描，結果除丙二酚A外，BADGE等化合物有相似的吸收圖譜。圖二為丙二酚A及BADGE於波長200~400 nm之區間偵測所得之吸收圖譜，丙二酚A及BADGE的激發波長均為230、304 nm，丙二酚A的放射波長為277、304 nm而BADGE的放射波長為230、304 nm，故本研究選擇230 nm及304 nm作為螢光偵測之最適激發波長及放射波長。

(二)移動相之探討

由於BADGE水合物的極性較高，含氮化合物的極性較低，為了縮短分析時間，一般對於丙二酚A、BADGE及其衍生物的分析大多採用乙腈/水溶液作為梯度移動相溶液，參考Lintschinger及Rauter⁽¹²⁾方法，結果發現，於HPLC分析時，BPA、BADGE·H₂O及BADGE·H₂O·HCl三種化合物滯留時間太接近，且使用乙腈與水溶液的等梯度或梯



圖二、丙二酚A及BADGE之螢光圖譜 (A), (B) excitation/emission spectra of bisphenol A; (C), (D) excitation/emission spectra of BADGE



圖三、丙二酚A、BADGE及其衍生物標準品之HPLC圖譜
peaks: 1. BADGE·2H₂O; 2. BPA; 3. BADGE·H₂O·HCl;
4. BADGE·H₂O; 5. BADGE·2HCl; 6. BADGE·HCl;
7. BADGE

度移動相均無法充分將三種化合物分離，但若於移動相中加入不同極性的甲醇溶液，可以明顯改善分離效果。圖三為七種化合物的層析圖譜，前四種化合物以等梯度的乙腈/甲醇/水溶液（42：3：55, v/v）沖提，而後增加移動相溶液之乙腈比例，加速後三種化合物之沖提，不僅分離效果良好，且大幅縮短分析時間。

二、前處理之探討

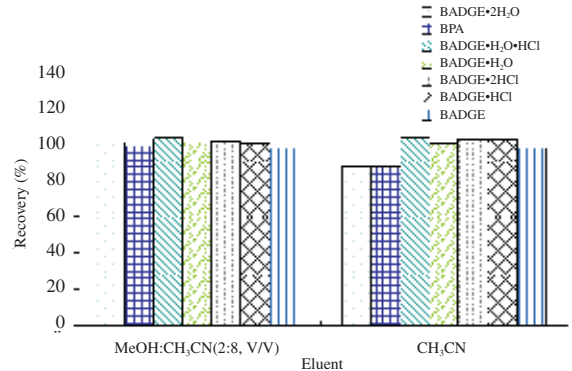
(一) 溶媒萃取之探討

有關罐裝飲料中丙二酚A分析文獻，絕大部份以固相萃取匣萃取^(6, 9, 13-15, 18)，少部份採用液-液萃取⁽²⁰⁾。而檢體中的蕃茄汁飲料，由於其共存的固形物及粘稠性，注入萃取匣會有堵塞情形，以固相層析匣萃取並不適合，參考Leepipatpiboon等人⁽¹¹⁾及Lintschinger等人⁽¹²⁾之萃取方法，以TBME作為萃取溶媒，配合Sep-pak C18過濾層析匣淨化，由於該溶媒對於丙二酚A、BADGE及其衍生物的萃取效率均佳且層析圖譜不會受到基質干擾，故本研究採用TBME作為黏稠性較高檢體如蕃茄汁之萃取溶劑。

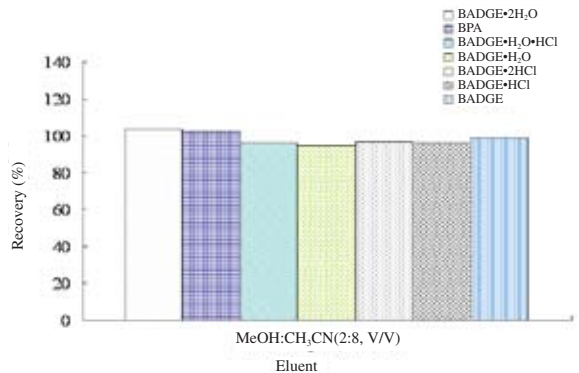
咖啡飲料直接以固相層析匣淨化，HPLC分析顯示，BADGE、BADGE·HCl及BADGE·2HCl的回收率約只有70%，且層析圖譜有明顯基質干擾；又咖啡飲料之脂質成份會影響分析，必須以正己烷去除，但若以TBME作為萃取溶媒，二者無法完全不互溶，以致影響回收率。參考Leepipatpiboon等人⁽¹¹⁾方法，以乙腈作為萃取溶媒，在飽和氯化鈉鹽析作用下形成分層，重複乙腈萃取，合併乙腈層於分液漏斗，加入乙腈飽和之正己烷，以去除油脂，再經固相層析匣淨化，便可克服基質干擾問題。

(二) 淨化條件之探討

文獻所用的固相層析匣大多為GL-Pak PLS-2、Supelco Envi-chrom P及C18，考量本研究分析物



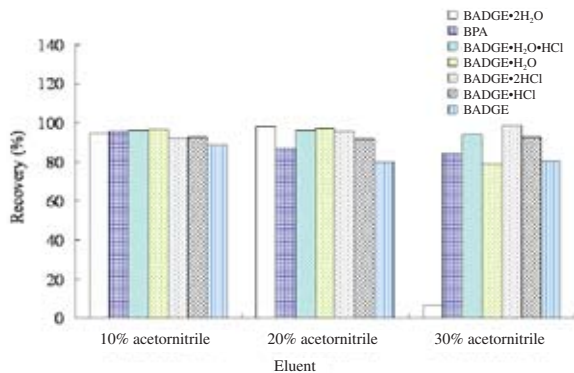
圖四、二種沖提溶液對於丙二酚A、BADGE及其衍生物自Oasis HLB層析匣分離回收率之比較



圖五、以甲醇/乙腈(2/8, v/v)沖提液自Sep-pak C18層析匣分離丙二酚A、BADGE及其衍生物之效果

具有不同的極性，先以Oasis HLB層析匣及丙二酚A等標準溶液探討沖提條件。層析匣先以甲醇5 mL、水5 mL活化備用，將0.1 µg/mL丙二酚A等混合標準溶液1 mL以水10 mL稀釋後，注入層析匣中，以水5 mL沖洗層析匣，重複沖洗1次，洗液棄置，再分別以甲醇/乙腈之不同比例（20/80、0/100, v/v）溶液5 mL作為沖提液，沖提2次，合併沖提液，以HPLC分析。結果發現，若在乙腈中添加20%甲醇作為沖提液，可提高極性成份（如BADGE·2H₂O及BPA）的回收率（如圖四）。比較Sep-pak C18（500 mg）與Oasis HLB層析匣，發現二者回收效果相當（如圖五）。以不同比例（10%、20%及30%）乙腈溶液探討洗液組成對回收率之影響，發現以10%乙腈溶液作為洗液不會影響分析物之回收（如圖六）。

飲料檢體中以蕃茄汁、奶茶類及咖啡飲料成份較複雜，文獻指出咖啡基質會干擾丙二酚A之分析^(18, 20)，因此以上述之淨化條件來測試這些檢體。結果由HPLC圖譜顯示，蕃茄汁及奶茶之淨化效果良好，然而咖啡飲料雖然基質沒有干擾到丙二酚A波峰，但滯留時間較短的BADGE·2H₂O波峰仍然受



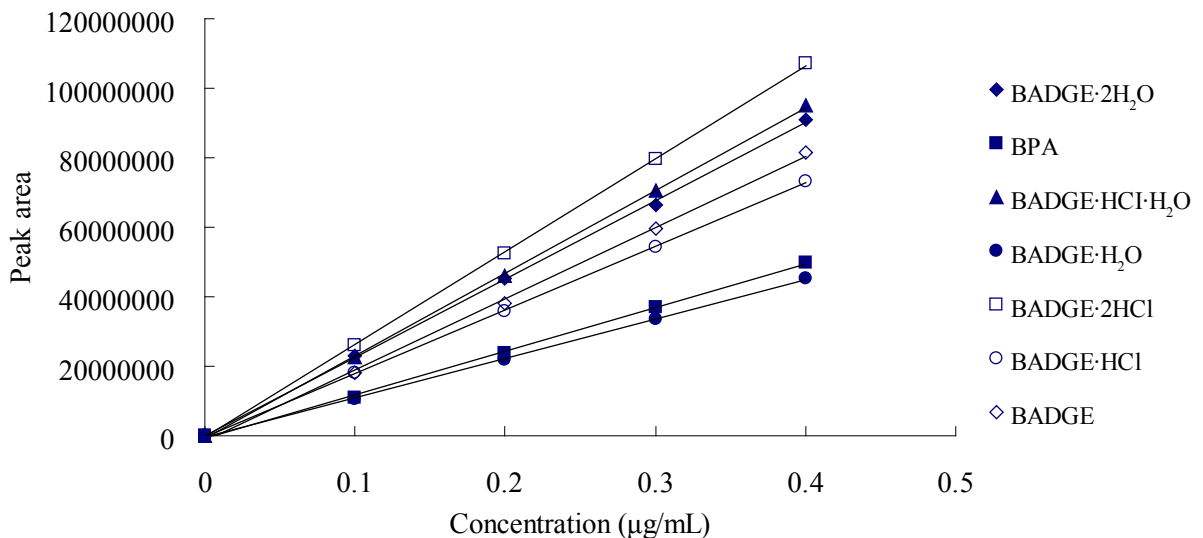
圖六、比較不同比例乙腈/水沖提液自Sep-pak C18層析匣溶離丙二酚A、BADGE及其衍生物之效果

影響。經測試發現，將經Sep-pak C18層析匣淨化之咖啡沖提液，再直接注入預先以正庚烷5 mL活化之Florasil層析匣中，收集流出液以HPLC分析，可進一步改善基質干擾問題。

其他飲料如啤酒、運動飲料、碳酸飲料及蔬菜汁，因其基質澄清，可與移動相溶液互溶，故直接經0.45 μ m濾膜過濾，以HPLC分析，結果顯示，只有啤酒檢體之BADGE·2H₂O波峰受到嚴重干擾，此基質干擾可藉由Sep-pak C18層析匣淨化予以去除。

三、標準曲線

圖七為丙二酚A等七種化合物依照標準曲線之製作所得之標準曲線，其線性迴歸關係如表一，所有曲線之相關係數 (r^2) 皆在0.99以上，表示各化合物在濃度0.4 μ g/mL以內有良好之線性關係。



圖七、丙二酚A、BADGE及其衍生物之標準曲線

表一、丙二酚A、BADGE及其衍生物以高效液相層析法分析之線性關係

Compound	Slope	Intercept	r^2
BPA	125756210	- 894676	0.9987
BADGE	204364641	- 147633	0.9985
BADGE·H ₂ O	113406925	- 481684	0.9995
BADGE·2H ₂ O	225053917	56840.6	0.9996
BADGE·HCl	182513323	- 243389	0.9999
BADGE·2HCl	267366788	- 413880	0.9999
BADGE·H ₂ O·HCl	238109373	- 745908	0.9997

四、添加回收試驗及最低檢出限量

添加0.2、0.4及0.8 ppm各丙二酚A化合物之混合標準溶液於咖啡檢體中，每一添加量作三重複，同時作空白試驗，以建立之檢驗方法分析其含量，並計算回收率，結果如表二，各化合物之回收率介於80.9~108.8%，變異係數小於5.5%；添加0.05、0.1及0.2 ppm各丙二酚A化合物之混合標準溶液於蕃茄汁檢體中，同上述進行回收試驗，結果如表三，各化合物之回收率介於81.1~109.8%，變異係數小於5.7%，HPLC層析圖譜如圖八。本方法之最低檢出限量以S/N比大於3作為判斷標準，BADGE·2H₂O、BADGE·H₂O·HCl及BADGE·2HCl均為0.003 ppm；BPA、BADGE、BADGE·H₂O及BADGE·HCl均為0.005 ppm。

五、同日內及異日間之再現性

為了解以乙腈溶劑配製之各丙二酚A化合物之混合標準溶液的安定性及分析系統的穩定性，以新鮮配製

表二、咖啡飲料中添加丙二酚A、BADGE及其衍生物之回收率

Compound	Recovery ^a (%)		
	0.2 ppm	0.4 ppm	0.8 ppm
BPA	90.2 (3.6) ^b	98.3 (1.8)	104.6 (4.0)
BADGE	97.0 (1.3)	95.1 (3.5)	88.0 (1.8)
BADGE·H ₂ O	104.0 (0.9)	108.8 (0.3)	94.7 (3.1)
BADGE·2H ₂ O	80.9 (0.1)	107.9 (0.1)	81.8 (0.3)
BADGE·HCl	97.4 (4.1)	91.6 (3.6)	97.1 (2.0)
BADGE·2HCl	102.6 (1.3)	96.5 (2.1)	87.4 (1.1)
BADGE·H ₂ O·HCl	97.3 (1.3)	94.2 (5.5)	94.8 (2.1)

^aAverage of triplicate^bValue in parenthesis is the coefficient of variation (%)

及連續7天的0.1 µg/mL混合標準品溶液，進行HPLC三重複分析，分析期間標準溶液均保存於4℃冰箱，分別計算同日內及異日間波峰面積及滯留時間之變異值，結果如表四，同日內波峰面積之變異值小於1.67%，滯

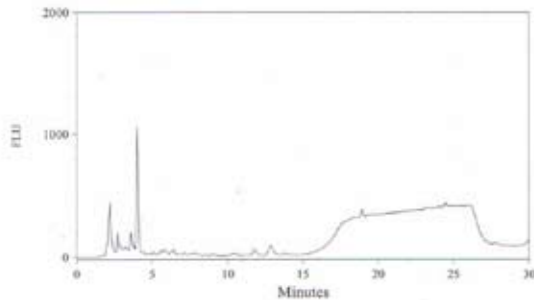
表三、蕃茄汁中添加丙二酚A、BADGE及其衍生物之回收率

Compound	Recovery ^a (%)		
	0.05 ppm	0.1 ppm	0.2 ppm
BPA	104.1 (3.6) ^b	99.9 (1.9)	88.3 (4.6)
BADGE	91.1 (1.3)	95.0 (2.0)	84.3 (2.4)
BADGE·H ₂ O	89.7 (0.9)	90.4 (1.7)	81.8 (5.3)
BADGE·2H ₂ O	101.6 (0.1)	109.8 (2.7)	107.4 (1.5)
BADGE·HCl	104.0 (4.1)	81.1 (2.4)	95.0 (2.0)
BADGE·2HCl	98.3 (1.3)	83.7 (5.7)	88.0 (2.7)
BADGE·H ₂ O·HCl	96.6 (1.3)	81.5 (4.5)	94.0 (4.7)

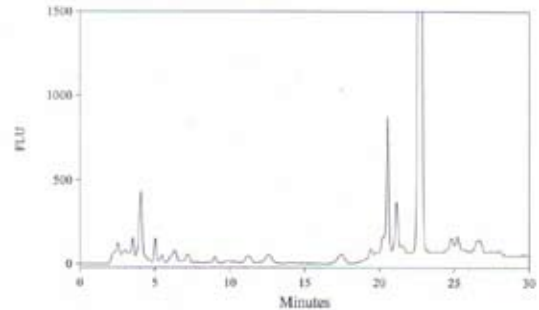
^aAverage of triplicate^bValue in parenthesis is the coefficient of variation (%)

留時間之變異值小於0.31%；異日間波峰面積之變異值小於7.24%，滯留時間之變異值小於0.84%，顯示本分析方法之精密度可接受性。

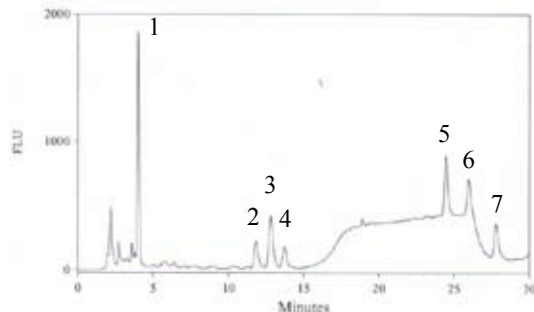
(A) Blank canned coffee drink



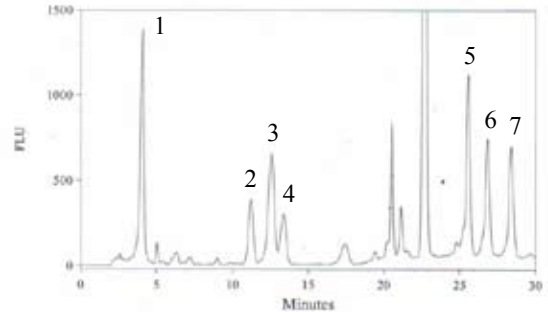
(C) Blank canned tomato juice



(B) Spiked canned coffee drink



(D) Spiked canned tomato juice



圖八、罐裝咖啡飲料及蕃茄汁檢體中添加七種丙二酚A、BADGE及其衍生物之層析圖譜

Peak identification is the same as Figure 3

表四、丙二酚A、BADGE及其衍生物之同日內及異日間之重複性分析

Compound	Intra-day (CV, %) (n=3)		Inter-day (CV, %) (n=21)	
	Peak area	RT*	Peak area	RT
BPA	1.55	0.31	2.80	0.84
BADGE	1.06	0.12	2.70	0.43
BADGE·H ₂ O	1.45	0.20	5.23	0.47
BADGE·2H ₂ O	1.02	0.09	7.24	0.55
BADGE·HCl	1.02	0.11	3.01	0.34
BADGE·2HCl	1.67	0.10	2.28	0.26
BADGE·H ₂ O·HCl	0.22	0.14	2.73	0.56

*RT: Retention time

結 論

本研究以高效液相層析配合螢光檢出器建立罐裝飲料中丙二酚A、BADGE及其衍生物共7種化合物之檢驗方法，移動相為水/乙腈/甲醇梯度溶液，操作方便、分析系統穩定性高、再現性佳，感度高。

罐裝飲料依其種類不同，各有不同之前處理，基質較複雜的蕃茄汁及咖啡飲料須先以適當溶劑萃取，再經Sep-Pak C18及Sep-Pak Florisil層析匣淨化，方可將大部份干擾的雜質去除。不同檢體之添加回收試驗，其回收率均在80%以上，變異係數均小於5.7%。本方法之偵測極限：BADGE·2H₂O、BADGE·H₂O·HCl及BADGE·2HCl為0.003 ppm，BPA、BADGE、BADGE·H₂O及BADGE·HCl為0.005 ppm。

參考文獻

- World Wildlife Fund. 2002. Bisphenol A: a known endocrine disruptor. World Wildlife Fund (WWF) European Toxics Programme Report.
- Physical & Theoretical Chemistry Laboratory Oxford University. Safety (MSDS) data for bisphenol A. [http://ptcl.chem.ox.ac.uk/MSDS/BI/bisphenol_A.html].
- Jordáková, I., Dobláš, J., Voldřich, M. and Poustka, J. 2003. Determination of bisphenol A, bisphenol F, bisphenol A diglycidyl ether and bisphenol F diglycidyl ether migrated from food cans using gas chromatography-mass spectrometry. Czech J. Food Sci. 21(3): 85-90.
- Hammarling, L., Gustavsson, H., Svensson, K. and Oskarsson, A. 2000. Migration of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) and its reaction products in canned foods. Food Addit. Contam. 17(11): 937-943.
- García, R. S. and Losada, P. P. 2004. Determination of bisphenol A diglycidyl ether and its hydrolysis and chlorohydroxy derivatives by liquid chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr. A 1032: 37-43.
- Miyakawa, H., IBE, A., Tabata, S., Sadamasu, Y., Yasui, A., Yasuda, K. and Saito, K. 2001. HPLC-ECDによる缶入り飲料中のビスフェノール Aの分析. 東京衛研年報 52: 66-72.
- Yoshida, T., Horie, M., Hoshino, Y. and Nakazawa, H. 2001. Determination of bisphenol A in canned vegetables and fruit by high performance liquid chromatography. Food Addit. Contam. 18(1): 69-75.
- Nerín, C., Philo, M. R., Salafranca, J. and Castle, L. 2002. Determination of bisphenol-type contaminants from food packaging materials in aqueous foods by solid-phase microextraction - high performance liquid chromatography. J. Chromatogr. A 963: 375-380.
- Kang, J. H. and Kondo, F. 2002. Bisphenol A migration from cans containing coffee and caffeine. Food Addit. Contam. 19(9): 886-890.
- Simoneau, C., Theobald, A., Hannaert, P., Roncari, P., Roncari, A., Rudolph, T. and Anklam, E. 1999. Migration of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) in canned fish in oil. Food Addit. Contam. 16(5): 189-195.
- Leepipatiboon, N., Sae-Khow, O. and Jayanta, S. 2005. Simultaneous determination of bisphenol-A-diglycidyl ether, bisphenol-F-diglycidyl ether, and their derivatives in oil-in-water and aqueous-based canned foods by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. J. Chromatogr. A 1073: 331-339.
- Lintschinger, J. and Rauter, W. 2000. Simultaneous determination of bisphenol A diglycidyl ether, bisphenol F diglycidyl ether, and their hydrolysis and chlorohydroxy derivatives in canned foods. Eur. Food Res. Technol. 211: 211-227.
- Biles, J. E., McNeal, T. P. and Begley, T. H. 1997. Determination of bisphenol A migrating from epoxy can coatings to infant formula liquid concentrates. J. Agric. Food Chem. 45: 4697-4700.
- Inoue, K., Murayama, S., Takeba, K., Yoshimura, Y. and Nakazawa, H. 2003. Contamination of xenoestrogens bisphenol A and F in honey: safety assessment and analytical method of these compounds in honey. J. Food Compos. Anal. 16: 497-506.
- Lambert, C. and Larroque, M. 1997. Chromatographic analysis of water and wine samples for phenolic compounds released from food-contact epoxy resins. J. Chromatogr. Sci. 35: 57-62.
- Goodson, A., Robin, H., Summerfield, W. and Cooper, I. 2004. Migration of bisphenol A from can coatings - effects of damage, storage conditions and heating. Food Addit. Contam. 21(10): 1015-1026.
- Goodson, A., Summerfield, W. and Cooper, I. 2002. Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. Food Addit. Contam. 19(8): 796-802.
- Kawamura, Y., Sano, H. and Yamada, T. 1999. Migration of bisphenol A from can coatings to drinks. J. Food

- Hygenic Soc. Japan. 40(2): 158-165.
19. Biles, J. E., White, K. D., McNeal, T. P. and Begley, T. H. 1999. Determination of the glycidyl ether of bisphenol A and its derivatives in canned foods. J. Agric. Food Chem. 47: 1965-1969.
 20. Uematsu, Y., Hirata, K., Suzuki, K., Iida, K. and Saito, K. 2001. Chlorohydrins of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) and of bisphenol F diglycidyl ether (BFDGE) in canned foods and ready-to-drink coffees from the Japanese market. Food Addit. Contam. 18(2): 177-185.
 21. Kawamura, Y., Inoue, K., Nakazawa, H., Yamada, T. and Maitani, T. 2001. Cause of bisphenol A migration from cans for drinks and assessment of improved cans. J. Food Hygenic Soc. Japan. 42(1): 13-17.

Quantitative Assay of Bisphenol A, Bisphenol A Diglycidyl Ether in Canned Drinks

MEI-HUA CHANG, HUANG-CHI LEE, YA-MIN KAO AND SHIN-SHOU CHOU

Food Chemistry Division

ABSTRACT

Bisphenol A(BPA), bisphenol A diglycidyl ether(BADGE) and its derivatives, including 2 hydrolyzed products, bisphenol A(2,3-dihydroxypropyl) glycidyl ether(BADGE·H₂O) and bisphenol A bis(2,3-dihydroxypropyl) ether(BADGE·2H₂O), and 3 chlorohydrin products, bisphenol A(3-chloro-2-hydroxypropyl) glycidyl ether(BADGE·HCl), bisphenol A bis(3-chloro-2-hydroxypropyl) ether(BADGE·2HCl), and bisphenol A(3-chloro-2-hydroxypropyl)(2,3-dihydroxypropyl) ether(BADGE·H₂O·HCl), can dissolve out of can coatings into food. A quantitative method was developed to assay these compounds in canned drinks by high performance liquid chromatography(HPLC) coupled with a fluorescence detector. Depending on the drink types, these compounds were extracted using *tert*-butyl methyl ether or acetonitrile, defatted with *n*-hexane, cleaned up with Sep-Pak C18 and Florisil columns, and then analyzed by HPLC. The chromatographic separation was effected with gradient elution of water, acetonitrile and methanol on a Phenomenex Luna C18(2) column. Recovery analysis was performed by spiking standard compounds into tomato juice at 0.05, 0.1 and 0.2 ppm levels and coffee drinks at 0.2, 0.4 and 0.8 ppm levels. Average recoveries were higher than 80% and the coefficients of variation were less than 5.7%. The detection limits of method were 0.003 ppm for BADGE·2H₂O, BADGE·H₂O·HCl and BADGE·2HCl, and 0.005 ppm for BPA、BADGE、BADGE·H₂O and BADGE·HCl.

Key words: bisphenol A, bisphenol A diglycidyl ether, high performance liquid chromatography