更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw

食品藥物研究年報. 1 : 87-98 2010
Ann. Rept. Food Drug Res. 1 : 87-98 2010

水產品中壬基酚之檢驗方法探討及其殘留量調查

張美華　顏維良　高雅敏　施養志

研究檢驗組

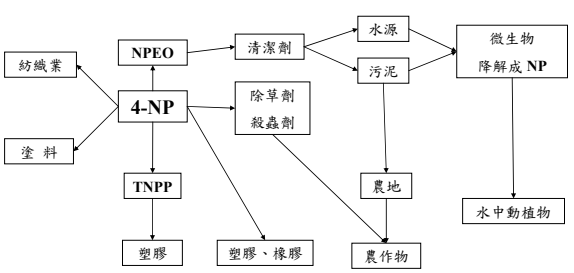
摘　要

本研究以超高效液相層析串聯質譜法(UPLC/MS/MS)分析水產品中壬基酚殘留量，檢體添加壬基酚$^{13}C_6$同位素標幟內部標準品，以乙腈萃取，經正己烷去油脂及矽酸鎂層析匣淨化後，檢液以標準品添加法經UPLC/MS/MS測定其壬基酚殘留量。檢體中分別添加25、50及100 ppb之壬基酚，平均回收率為93.6～102.2%，變異係數為8.6～11.4%；本方法之檢出限量為10 ppb。以所建立之方法分析31件市售水產品，有4件檢出，其殘留量為14.5～49.4 ppb。

關鍵詞：壬基酚、液相層析串聯質譜法、水產品、標準品添加法

前　言

壬基酚分子式為$C_{15}H_{24}O$，其結構式如圖一，壬基(C_9H_{19})可接於苯環的鄰位(ortho)、間位(meta)或對位(para)上，其中以鄰位及對位較普遍，有直鏈型態或複雜的分支型態[1]。一般而言，壬基酚商品(CAS No. 84852-15-3)為眾多分支異構物之混合物，呈粘稠無色液狀，沸點為295～320℃，可溶於苯、含氯有機溶劑、苯胺、正庚烷及乙二醇[2]等；直鏈態之壬基酚(4-n-NP, CAS No. 104-40-5)在室溫下很容易形成白色結晶。壬基酚理論上共有170種異構物[1]，分成直鏈型與支鏈型2類。



圖一、壬基酚用途及其分布

壬基酚(nonylphenol)為工業產品，屬內分泌干擾物(endocrine disruptor)，約有60%壬基酚用於生產壬基酚聚乙氧基醇類(nonylphenol polyethoxylates, NPEO)，廣泛使用於清潔劑中作為非離子界面活性劑；其次可添加於塑膠、橡膠中作為安定劑或分散劑；或合成三壬苯基亞磷酸酯〔tris(nonylphenol)phosphite, TNPP〕添加至塑膠材料中作為抗氧化劑；壬基酚亦可添加於殺蟲劑或除草劑中，有助其噴灑之分散效果，紡織業與塗料也會使用壬基酚[1]。圖一為其用途、代謝及影響範圍[3]。

1991年Soto等人[4]證實壬基酚導致乳癌細胞增生，造成雄魚的雌性化、精子數減少、受孕率降低；牡蠣幼體曝露於壬基酚48小時，造成後代長期性別影響，包括雌性比例增加、雌雄同體、胚胎存活性及發育變差[5]；河川中的烷基酚(alkylphenol)，特別是壬基酚造成中性魚，於雄魚中可偵測到卵黃前質(vitellogenin)[6]等。

壬基酚由於具安定性，於環境中不易分解，水中生物最容易受到壬基酚之危害，且其具親脂性，故水中底泥的壬基酚濃度遠高於水體。

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw

此外，魚體攝入壬基酚亦具生物濃縮及蓄積性[2,7,8]，我國環保署已將其歸為列管之第一類毒性化學物質[9]。

壬基酚之致突變性、致癌性低。由老鼠實驗，計算出人體壬基酚之無明顯效應劑量(no observable adverse effect level, NOAEL)為15 mg/kg/day[10]。人體暴露壬基酚來源為食物攝入，其中水產品貢獻度達17.97%僅次於米類，依據文獻指出德國成年人壬基酚攝入量為7.5 μg/day，紐西蘭25歲以上男性烷基酚攝入量為3.6 μg/day，臺灣學生壬基酚攝入量為28.04 ± 25.32 μg/day[11]。

由於壬基酚對環境、健康影響，歐盟自2005年起，規定壬基酚及其NPEO於清潔劑等產品之限量為0.1%[12]，行政院衛生署於2007年修訂「食品用洗潔劑衛生標準」，其中增訂壬基酚類界面活性劑(NP及NPEO)之限量標準為0.1% (重量比)以下[13]，而關於水產品之衛生標準則尚未規範此類物質。

一般分析壬基酚的方法有高效液相層析法配合光二極體陣列檢出器(HPLC/DAD)[14]、螢光檢出器(HPLC/FLU)[15-18]、電化學檢出器(HPLC/ED)[19]、質譜檢出器(HPLC/MS)[20,21]、氣相層析法配合火燄離子檢測器(GC/FID)[22]及質譜檢出器(GC/MS)[23-29]等。

本研究之目的在於以選擇性及靈敏度俱佳之液相層析串聯質譜儀建立水產品中壬基酚殘留量檢驗方法，並進行市售水產品殘留量調查，結果提供衛生單位行政管理之參考。

材料與方法

一、檢體來源

本研究所分析之水產品檢體係98年9月至10月間自台北市大賣場及台北魚市價購，包括海水魚16件、淡水魚5件、貝類3件、蝦類4件及軟體動物3件，共計31件檢體。

二、化學藥品

1. 對照標準品
壬基酚(nonylphenol, 4-NP; 94%)購自德國Riedel-deHaën公司(Seelze, Germany)，直鏈壬基酚同位素標準品($^{13}C_6$-n-NP, 99%)購自美國Cambridge Isotope Laboratories公司(Andover, MA, U.S.A.)。
2. 試藥
乙腈、正己烷及丙酮純度為LC級，氨水為試藥特級，均購自德國Merck公司(Darmstadt, Germany)。0.22 μm濾膜(PTFE, 13 mm)購自Chrom Tech (E-Chrom Tech Co., Taiwan)。Chromabond®矽酸鎂層析匣(玻璃製填充管, 6 mL, 1000 mg)購自德國Macherey-Nagel GmbH & Co. (Düren, Germany)。40 mL玻璃離心管附磨砂蓋。

三、裝置

1. 高效液相層析串聯質譜儀(Acquity UPLC及Xevo TQ MS)：美國Waters公司(Milford, MA, U.S.A.)產品。資料處理系統為Target Lynx控制積分軟體。
2. 震盪機(Shaker)：臺灣祥泰公司(泰山)產品。
3. 減壓濃縮機(Rotary evaporator)：瑞士Büchi公司(Flawil, Switzerland)產品。
4. 離心機(Centrifuge)：美國Beckman Coulter公司(Brea, CA, U.S.A.)產品。
5. 旋渦混合器(Vortex mixer)：美國Barnstead International公司(Dubuque, IA, U.S.A.)產品。

四、標準溶液之調製

1. 同位素內部標準溶液：
取$^{13}C_6$-n-NP標準品(100 μg/mL, 1.2 mL)置入100 mL容量瓶，以乙腈溶解並定容至100 mL，使成1.2 μg/mL之內部標準溶液。
2. 標準溶液：
稱取壬基酚標準品約10 mg，精確稱定，以乙腈溶解並定容至100 mL，精確量取0.125 mL，以乙腈定容至25 mL，濃度為0.5 μg/mL，供作壬基酚標準原液。使用時，精確量取壬基酚標準原液0.1～1 mL，分別置入10 mL容量瓶，各加入內部標準溶液0.2 mL，以

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw

乙腈定容並混合均勻，使濃度為0.005～0.05 μg/mL (含內部標準品濃度0.024 μg/mL)，供作標準溶液。

五、分析方法

1. 檢體取樣：
取各類水產品檢體可食部位，經切碎均質後，於-18℃冷凍貯藏備用。
2. 萃取：
精確稱取解凍後檢體約5 g，精確稱定，置於玻璃離心管中，添加$^{13}C_6$-n-NP同位素內部標準溶液0.2 mL，靜置30分鐘，添加乙腈25 mL，震盪萃取10分鐘後，取上清液5 mL，置於玻璃離心管，加入以乙腈飽合之正己烷溶液5 mL，震盪10分鐘後，靜置分層，取下層(乙腈層)，於40℃水浴減壓濃縮至乾，以正己烷1 mL溶解，供淨化用，每批次同時做空白分析。
3. 矽酸鎂層析匣(Florisil cartridge)淨化
將Chromabond®矽酸鎂層取匣(6 mL, 1000 mg)於130℃烘箱加熱16小時後，置於乾燥器中回復至室溫。以正己烷5 mL流洗矽酸鎂層析匣，棄流出液。注入供淨化用之溶液，以正己烷：丙酮(8：2, v/v)溶液40 mL進行沖提，並收集沖提液於濃縮瓶中，於40℃水浴減壓濃縮至乾，以乙腈1 mL溶解，經PTFE膜過濾後，供作檢液，進行壬基酚標準品添加。
4. 含量測定
⑴精確量取淨化後之空白檢液及壬基酚標準溶液各10 μL，分別注入UPLC/MS/MS，由建立之壬基酚標準曲線求得空白檢液中壬基酚之含量A (ppb)。
⑵取檢液0.05 mL，依下表分別添加壬基酚標準原液及乙腈，配製成0～50 ng/mL壬基酚之標準品添加溶液。精確量取各標準品添加溶液10 μL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，以下列UPLC及MS條件進行分析，就壬基酚*m/z* 133離子及內部標準品*m/z* 112離子之波峰面積比與對應之壬基酚添加濃度作圖，經回歸分析製作標準品添加曲線，並依下列計算式求出檢體中壬基酚之含量(ppb)。

檢液(mL)	0.05	0.05	0.05	0.05
NP標準原液(mL)	0	0.002	0.005	0.01
乙腈(mL)	0.05	0.048	0.045	0.04
總體積(mL)	0.1	0.1	0.1	0.1
NP濃度(ng/mL)	0	10	25	50

檢體中壬基酚之含量(ppb) =

$$\frac{(n \div m \times 2 - A) \times 5}{M}$$

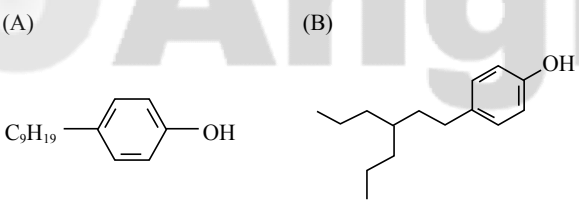
n：標準品添加曲線之y截距
m：標準品添加曲線之斜率
A：空白檢液中壬基酚之含量(ppb)
M：檢體重量(g)

5. UPLC/MS/MS分析條件
⑴UPLC分析條件
a. 層析管柱：Acquity UPLC® BEH C18，50 × 2.1 mm i.d.，1.7 μm，美國Waters公司(Milford, MA, U.S.A.)產品。
b. 管柱溫度：40℃。
c. 移動相溶液：(A) 0.05%氨水溶液，(B)乙腈。
以下列梯度程式進行：

Time (min)	A (%)	B (%)
0	50	50
3	5	95
4.2	5	95
4.3	50	50
5.5	50	50

d. 流速：0.6 mL/min。
e. 注入量：10 μL。
⑵MS條件
a. 離子化模式：電灑離子化負離子(ESI$^-$)。
b. 毛細管電壓：2.0 KV。
c. Cone voltage：36 V。
d. Desolvation gas: Nitrogen 1000 L/hr。

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw



圖二、壬基酚 (A) 與其一種支鏈異構物 (B) 之結構式

e. Desolvation temp: 600℃。

f. Source temp: 150℃。

g. Cone gas: Nitrogen 20 L/hr。

h. Acquisition: Multiple Reaction Monitoring (MRM)，偵測壬基酚之二代子離子*m/z* 133、147及同位素內部標準品二代子離子*m/z* 112。

i. Collision Gas: Argon, 3.5×10^{-3} mBar。

六、添加回收試驗

取均質後檢體約5 g，精確稱定，置入玻璃製離心管中，添加同位素內部標準溶液0.2 mL，分別添加標準溶液使之成為25、50及100 ppb之添加量，每一添加量作三重複，同時作空白試驗，依所建立之分析方法分析，經HPLC/MS/MS定量後，與添加濃度比較，計算其回收率。

結果與討論

一、檢體類別

由於壬基酚之使用，造成水資源、水生環境之污染，以及水生物之壬基酚殘留蓄積，故本研究所抽購之檢體包括各類水產品，以海水魚16件最多、其次為淡水魚5件、蝦類(草蝦、明蝦、沙蝦及白蝦) 4件、貝類(牡蠣、蜆及文蛤) 3件及軟體動物(魷魚、透抽及花枝) 3件，共計31件。

二、壬基酚之分析

1. 分析方法

壬基酚為一具多種異構物之混合物，以GC/MS分析，質譜掃描質荷比(*m/z*) 40～250，選擇*m/z* 107、121、135及149之離子片段作為監測，其選擇離子層析圖譜呈多波峰狀，儀器偵測極限約200 ppb，若要提高靈敏度，分析物必須先進行衍生化[29,31]，增加分析之變異性。以HPLC/FLU方法分析，優點為儀器設備便宜、靈敏度高，缺點為層析圖譜波峰較寬，檢出物須進行確認；UPLC/MS/MS分析之特點為感度高、分析速度快、且分析物可同時作鑑別，故本研究擬採用UPLC/MS/MS建立水產品中壬基酚殘留量之檢驗方法。

2. UPLC/MS/MS條件之探討

壬基酚標準品溶液及其$^{13}C_6$-n-NP內部標準品於ESI^-之離子化效果優於ESI^+，其分析參數如表一。選擇壬基酚之母離子為*m/z* 219、定量離子*m/z* 133、定性離子*m/z* 147，定性離子與定量離子比為7.5%，依據歐盟之鑑別標準[32]，因其相對離子強度小於等於10%，液相串聯質譜法檢出之容許範圍為±50%。同位素內部標準品$^{13}C_3N_3(^{15}NH_2)_3$之母離子為*m/z* 225、定量離子*m/z* 112，其層析圖如圖三，壬基酚及$^{13}C_6$-n-NP內部標準品滯留時間分別為1.70 min及2.09 min。

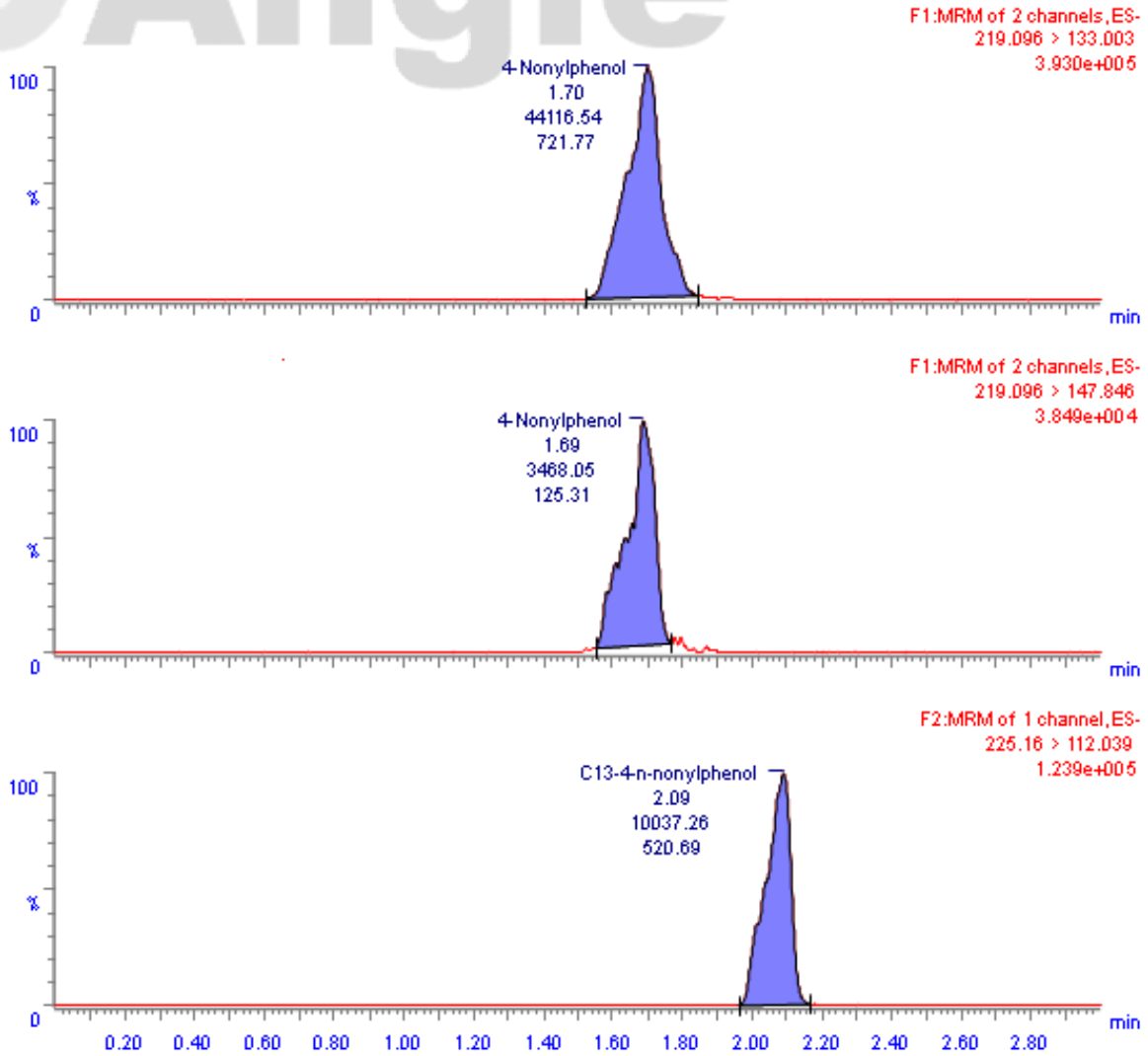
以HPLC/MS/MS分析時，為提高離子化效果及靈敏度，於移動相中添加醋酸銨或氨水，本研究參考儀器原廠資料以0.05%氨水：乙腈溶液為移動相，移動相中氨水必須使用時配製，因氨水揮發會影響離子化效果而降低感度。

本研究使用Acquity UPLC® BEH C18，50 ×

表一、壬基酚及同位素內標$^{13}C_6$-*n*-NP分析之質譜參數

Compound	Precursor ion (*m/z*)	Product ion (*m/z*)	Cone energy (V)	Collision energy (eV)
4-NP	219	133	36	26
	219	147	36	18
$^{13}C_6$-*n*-NP	225	112	38	20

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw



圖三、壬基酚標準品與同位素壬基酚內部標準品之層析圖譜

2.1 mm i.d.，1.7 μm層析管柱，由於層析管柱顆粒及內徑均較小，可提高解析度，且流速低(0.6 mL/min)，節省移動相溶劑之消耗量，同時檢體分析時間僅須6 min，顯著提高分析速度。

3. 前處理

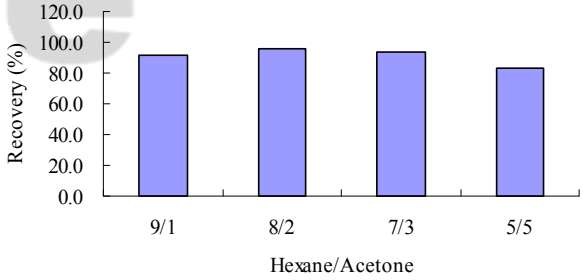
於測試過程中發現空白對照組壬基酚有過高之情形，污染源可能來自使用之裝置或器具，必須將空白對照之背景值降低到方法偵側極限以下。表二為各種不同材質濾膜之壬基酚溶出量，Nylon材質、直徑13 mm之濾膜壬基酚溶出量為3.87 ng/mL，同樣Nylon材質，直徑47 mm之濾膜壬基酚溶出量為88.68 ng/mL，GHP及PVDF材質壬基酚溶出量分別為19.2及4.35 ng/mL，惟PTFE材質濾膜無壬基酚之溶出，故使用直徑13 mm之PTFE材質濾膜進行分析。

食品中壬基酚萃取方法有乙腈溶劑萃取法，

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw

表二、不同材質之0.22 μm過濾膜之壬基酚溶出量

Material	Size (mm)	Amount (ng/mL)
Nylon	13	3.87
	45	88.68
GHP	13	19.20
PVDF	13	4.35
PTFE	13	ND



圖四、不同沖提液對 Chromabond® 矽酸鎂管柱中壬基苯酚之溶離效果

蒸氣蒸餾法[33]，或加壓液體萃取(pressurized liquid extraction)方式[20,27,34]等。因快速溶劑萃取裝置(accelerated solvent extractor, ASE)係於密閉系統中採用高溫、高壓萃取，具有回收率佳、節省萃取時間、減少溶劑使用量、穩定性及再現性佳之優點，但以乙腈溶劑經過ASE操作後，背景值超過100 ppb，主要來自萃取管中配件玻璃纖維墊片污染，故本研究不適宜採ASE萃取。

於聚丙烯(PP)材質之附蓋塑膠離心管、附螺旋橡膠蓋之玻璃離心管及附磨砂蓋之玻璃離心管中分別加入乙腈25 mL，以震盪器震搖10分鐘，取出乙腈5 mL，以氮氣吹至1 mL後進行分析，壬基酚背景值為2.4、10.7及0.3 ppb，顯示以磨砂蓋玻璃離心管背景值最低，PP材質塑膠離心管有微量溶出，而附螺旋橡膠蓋之玻璃離心管可能來自橡膠蓋有較高溶出，故採用磨砂蓋玻璃離心管進行萃取。

參考文獻資料，壬基酚檢測時使用之淨化層析匣如Oasis® HLB層析匣、Florisil層析匣等。將壬基酚標準品注入Chromabond®玻璃矽酸鎂層析匣，分別以40 mL正己烷：丙酮(9 : 1, 8 : 2, 7 : 3, 5 : 5, v/v)溶液沖提，結果如圖四，以正己烷：丙酮(8 : 2, v/v)溶液之沖提效果最佳，回收率為95.4%。以40 mL正己烷：丙酮 (8 : 2, v/v)溶液作為Chromabond®玻璃矽酸鎂萃取匣之沖提液，壬基酚背景值為6.9 ± 3.4 ppb，若矽酸鎂萃取匣先於130℃加熱16小時，背景值降為0.7 ± 0.1 ppb。Oasis® HLB塑膠層析匣活化後，以乙腈20 mL沖提，濃縮至乾後以乙腈1 mL溶解，背景值約20 ppb，故本研究採用熱處理後之玻璃矽酸鎂層析匣作為淨化層析匣。

將壬基酚(含200 ng/mL $^{13}C_6$-n-NP)標準溶液添加至檢體5 g中，使成200 ppb濃度，分別以乙腈萃取及以乙腈萃取並經矽酸鎂層析匣淨化，結果壬基酚與同位素內標之面積比於標準溶液、萃取液及淨化液分別為0.99 ± 0.02、1.69 ± 0.08及1.61 ± 0.05，顯示檢體產生之基質效應，無法由標準曲線定量，又此次調查之31件水產品檢體係不同基質，故每一檢體須分別進行標準品添加法求其殘留量，而空白分析因無基質干擾問題，故以標準曲線定量。水產品壬基酚殘留量分析之流程如圖五。

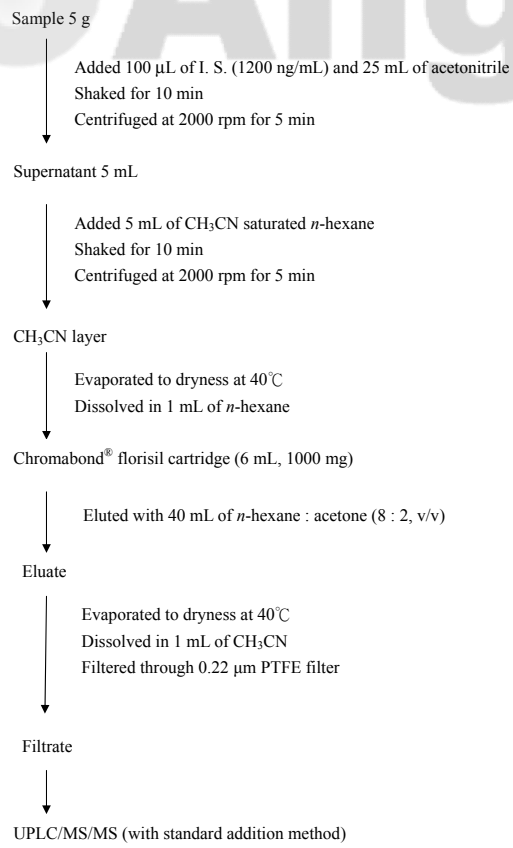
4. 標準品添加曲線之製作

圖六為水尖檢體之檢液(含內標)添加10、25及50 ng/mL標準溶液，所得之標準添加曲線，31件檢體各有其標準品添加曲線，其平均決定係數(r^2)為0.9977 ± 0.0034，顯示在基質干擾下，標準品添加量在50 ng/mL以內之濃度與波峰面積比有良好之線性關係。

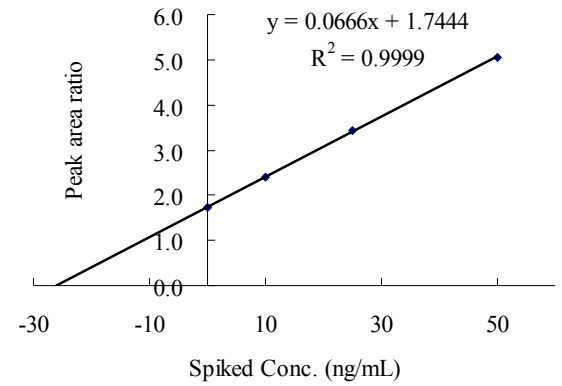
5. 添加回收試驗

於空白鱒魚檢體5 g，分別添加25、50及100 ppb之標準品，每一添加量作三重複，同時作空白試驗，依所建立之分析方法操作，經UPLC/MS/MS定量後，平均回收率介於93.6～102.2 %，變異係數為3.0～11.1%，如表三，顯示本檢驗方法具良好之準確性及穩定性。空白檢體添加25 ppb標準品，重覆測

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw



圖五、水產品壬基酚之檢驗方法流程



圖六、水產品水尖檢體之標準品添加曲線

試7次，測得之添加量為24.8 ppb，變異值為2.1 ppb，訊雜比(S/N ratio)平均為32.4，以訊雜比＞10估算之本方法之檢出限量為10 ppb。

表三、水產品中添加壬基酚之回收率

Compound	Recovery (%)[a]		
	25 ppb[b]	50 ppb	100 ppb
4-Nonylphenol	102.2 (0.5)[c]	99.5 (0.7)	100.2 (0.5)

[a]Average of triplicate
[b]Spiked level
[c]Number in parentheses represents coefficient of variation (%)

表四、水產品檢體中壬基酚之殘留量

Variety	Sample no.	Detected no.	Residue (ppb)
Sea fish	16	2	21.6, 49.4
Fresh water fish	5	0	-
Shellfish	3	1	14.5
Shrimp	4	0	-
Cephalopod	3	1	32.6

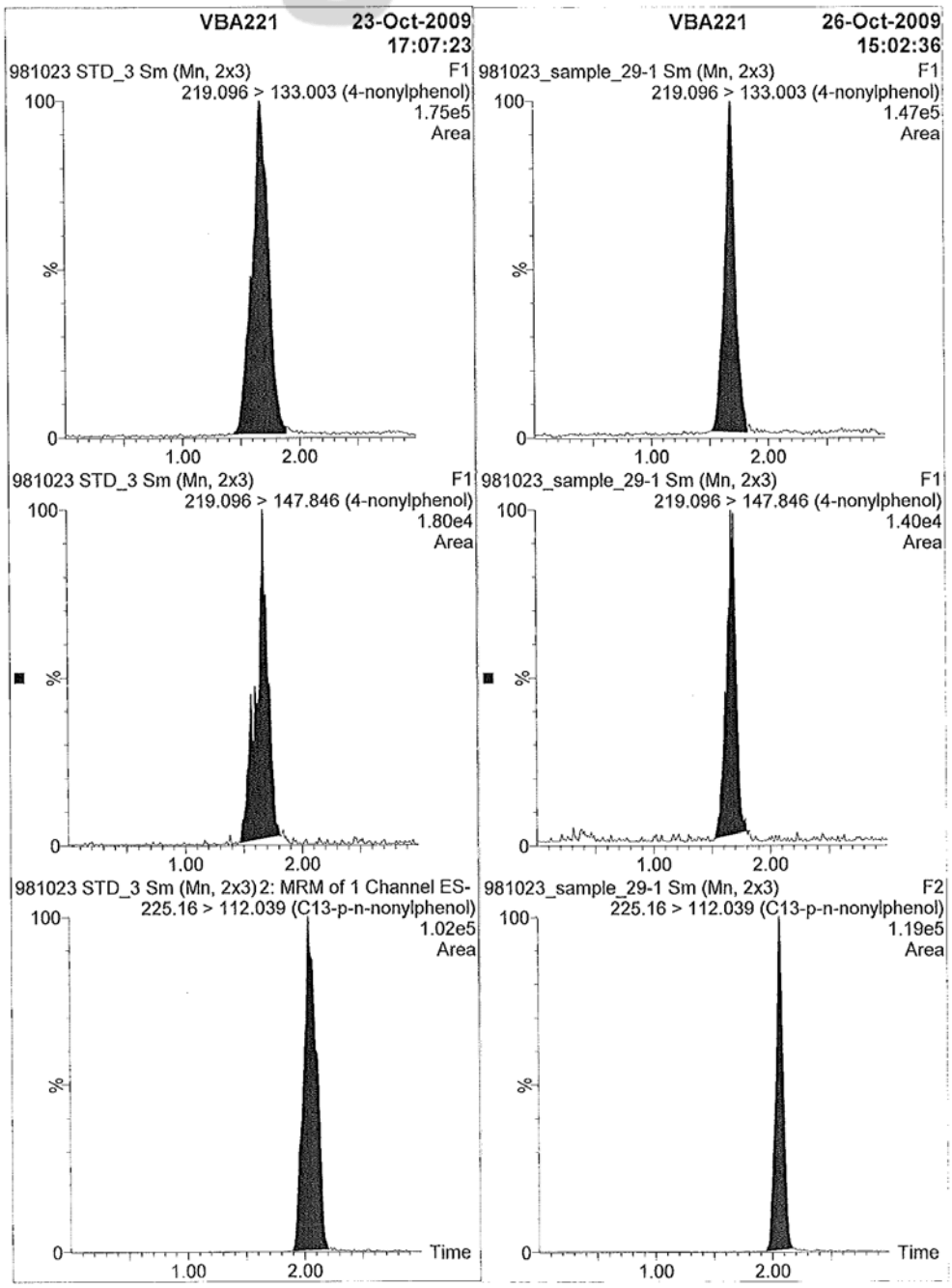
三、市售水產品中殘留量之調查

於台北市大賣場及台北魚市購得31件檢體，取可食部位，依本檢驗方法操作，經UPLC/MS/MS定量分析壬基酚殘留量，結果如表四所示。海水魚16件，14件未檢出，2件檢出量分別為21.6及49.4 ppb；淡水魚5件均未檢出；貝類3件，2件未檢出，1件檢出量為14.5 ppb；軟體動物3件，2件未檢出，1件檢出量為32.6 ppb；蝦類4件均未檢出。總計31件水產品中，27件未檢出，4件檢出量為14.5～49.4 ppb，圖七為水尖檢體檢出49.4 ppb壬基酚之多重反應層析圖譜。

四、本研究與國外調查結果比較

Tsuda等人(1999)[23]分析魚類等生物檢體中壬基酚含量為＜20～110 ppb，2000年調查魚類及貝類檢體[15]，8件檢體壬基酚含量為＜2～19 ppb。Datta等人(2002)[17]分析北美五大湖區中魚類壬基酚含量，結果壬基酚含量為119～1842 ppb。Ferrara等人(2005)[35]調查結果，義大利亞得里亞海中甲殼類及貝類中壬基酚含量分別為118～399 ppb及9.5～1431 ppb。Lu等人(2007)[11]之調查中壬基酚殘留量以牡蠣最高(235.8 ± 90.7 ppb)，其次

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw



圖七、水產品水尖檢體檢出壬基酚之多重反應偵測層析圖譜 (A) 標準溶液 50 ng/mL, (B) 檢體 49.4 ppb

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw

為鮭魚(123.8 ± 116.2 ppb)。Basheer等人(2004)[31]調查新加坡超市之水產品壬基酚殘留量，蝦、蟹、蛤蜊、烏賊及魚類中壬基酚殘留量分別為197.0 ± 13.1、103.1 ± 36.0、46.6 ± 11.4、64.8 ± 13.7及60.5 ± 10.4 ppb。Nemoto等人[29]研究，35件魚肉檢體中有24件檢出壬基酚，殘留量為9～800 ppb。本研究壬基酚殘留量與Tsuda等人於1999及2000年調查結果相當，均較其他國家之調查含量低，顯示國人日常攝食之水產品壬基酚殘留量風險不高。

結　論

本研究建立以UPLC/MS/MS分析水產品中壬基酚殘留量之檢驗方法，使用同位素內部標準品，並以標準品添加法定量，方法具選擇性、靈敏性及準確性及快速性。經分析探討，將空白背景值降到5 ppb以下。以建立之壬基酚檢驗方法進行添加回收，回收率為93.6～102.2%，變異係數為3.0～11.1%，檢出限量為10 ppb，檢驗方法具良好之準確性及穩定性。水產品壬基酚殘留量調查結果，31件檢體中有4件檢出，殘留量為14.5～49.4 ppb，顯示市售水產品之壬基酚風險並不高。

參考文獻

1. Environmental Health Department Ministry of the Environment of Japan. 2001. Report on the test result of endocrine disrupting effect of nonylphenol on fish (Draft).
2. Budavari, S., O'Neil, M. J., Smith, A. and Heckelman, P. E. 1989. The Merck Index. Merck & Co., Inc. New Jersey, U.S.A.
3. Kim, Y. S., Katase, T., Sekine, S., Inoue, T., Makino, M., Uchiyama, T., Fujimoto, Y. and Yamashita, N. 2004. Variation in estrogenic activity among fractions of a commercial nonylphenol by high performance liquid chromatography. Chemosphere 54: 1127-1134.
4. Soto, A. M., Justicia, H., Wray, J. W. and Sonnenschein. C. 1991. p-Nonylphenol: an estrogenic xenobiotic released from “modified” polystyrene. Environmental Health Perspectives 92: 167-173.
5. Vazquez-Duhalt, R., Marquez-Rocha, F., Ponce, E., Licea, A. F. and Viana, M. T. 2005. Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant. Applied Ecology and Environmental Research 4(1): 1-25.
6. Jobling, S., Sheahan, D., Osborne, J. A., Matthiessen, P. and Sumpter. 1996. Inhibition of testicular growth in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. Environmental Toxicology and Chemistry 15(2): 194-202.
7. Porter, A. J. and Hayden, N. J. 2002. Nonylphenol in the environment: a critical review. [http://www.emba.uvm.edu/~nhayden/npreview.pdf].
8. Nonylphenol. [http://en.wikipedia.org/wiki/Nonylphenol].
9. 行政院環境保護署。2009。公告之毒性化學物質一覽表。[http://www.epa.gov.tw/ch/SitePath.aspx?busin=324&path=1702&list=1702]。
10. United Nations Environment Programme International Labour Organization World Health Organization. 2004. Integrated risk assessment: nonylphenol case study.
11. Lu, Y. Y., Chen, M. L., Sung, F. C., Wang, P. S. G. and Mao, I. F. 2007. Daily intake of 4-nonylphenol in Taiwanese. Environmental International 33: 903-910.
12. Commission of the European Communities. 2003. Directive 2003/53/EC amending for the 26th time Council Directive 76/769/EEC relating to restrictions on the marketing and use of certain dangerous substances and preparations (nonylphenol, nonylphenol ethoxylate and cement).
13. 行政院衛生署。2007。食品用洗潔劑衛生標準。96.09.20衛署食字第0960404502號公告。
14. Gadzala-Kopciuch, R., Berecka, B., Ligor, T. and Buszewski, B. 2004. Isolation and determination

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw

of 4-nonylphenol in environmental samples using combined chromatographic techniques. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies 27(19): 2997-3012.

15. Tsuda, T., Suga, K., Kaneda, E. and Ohsuga, M. 2000. Determination of 4-nonylphenol, nonylphenol monoethoxylate, nonylphenol diethoxylate and other alkylphenols in fish and shellfish by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Chromatography B 746: 305-309.
16. Snyder, S. A., Keith, T. L., Naylor, C. G., Staples, C. A. and Giesy, J. P. 2001. Identification and quantitation method for nonylphenol and lower oligomer nonylphenol ethoxylates in fish tissues. Environmental Toxicology and Chemistry 20(9): 1870-1873.
17. Datta, S., Loyo-Rosales, J. E. and Rice, C. P. 2002. A simple method for the determination of trace levels of alkylphenolic compounds in fish tissue using pressurized fluid extraction, solid phase cleanup, and high-performance liquid chromatography fluorescence detection. Journal of Agriculture and Food Chemistry 50: 1350-154.
18. Keith, T. L., Snyder, S. A., Naylor, C. G., Staples, C. A., Summer, C., Kannan, K. and Giesy, J. P. 2001. Identification and quantitation of nonylphenol ethoxylates and nonylphenol in fish tissues from Environmental Science & Technology 35(1): 10-13.
19. Inoue, K., Kondo, S., Yoshie, Y., Kato, K., Yoshimura, Y., Horie, M. and Nakazawa, H. 2001. Migration of 4-nonylphenol from polyvinyl chloride food packaging films into food simulants and foods. Food Additives and Contaminants 18(2): 157-164.
20. Tavazzi, S., Benfenati, E. and Barcelo, D. 2002. Accelerated solvent extraction then liquid chromatography coupled with mass spectrometry for determination of 4-*t*-octylphenol, 4-nonylphenols, and bisphenol A in fish liver. Chromatographia 56(7/8): 463-467.
21. Loyo-Rosales, J. E., Rosales-Rivera, G. C., Lynch, A. M., Rice, C. P. and Torrents, A. 2004. Migration of nonylphenol from plastic containers to water and a milk surrogate. Journal of Agriculture and Food Chemistry 52: 2016-2020.
22. Lye, C. M., Frid, C. L. J., Gill, M. E., Cooper, D. W. and Jones, D. M. 1999. Estrogenic alkylphenols in fish tissues, sediments, and waters from the U.K. Tyne and Tees Estuaries. Environmental Science & Technology 33(7): 1009-1014.
23. Tsuda, T., Takino, A., Kojima, M., Harada, H. and Muraki, K. 1999. Gas chromatographic-mass spectrometric determination of 4-nonylphenols and 4-tert-octylphenol in biological samples. Journal of Chromatography B 723: 273-279.
24. Fries, E. and Püttmann, W. 2003. Occurrence and behavior of 4-nonylphenol in river water of Germany. Journal of Environmental Monitoring 5: 598-603.
25. Fernandes, A. R., Costley, C. T. and Rose, M. 2003. Determination of 4-octylphenol and 4-nonylphenol congeners in composite foods. Food Additives and Contaminants 20(9): 846-852.
26. Otaka, H., Yasuhara, A. and Morita, M. 2003. Determination of bisphenol A and 4-nonyphenol in human milk using alkaline digestion and cleanup by solid-phase extraction. Analytical Science 19: 1663-1669.
27. Ding, W. H. and Fann, J. C. H. 2000. Application of pressurized liquid extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry to determine 4-nonylphenols in sediments. Journal of Chromatography A 866: 79-85.
28. Kawamura, Y., Maehara, T., Iijima, H. and Yamada, T. 2000. Nonylphenol in food contact plastics and toys. Food Hygiene and Safety Science 41(3): 212-218.

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw

29. Nemoto, S., Takatsuki, S., Sasaki, K. and Toyoda, M. 2000. Determination of nonylphenol in fish on the market. Food Hygiene and Safety Science 41(6): 377-380.
30. Stuart, J. D. Capulong, C. P., Launer, K. D. and Pan, X. 2005. Analyses of phenolic endocrine disrupting chemicals in marine samples by both gas and liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1079: 136-145.
31. Basheer, C., Lee, H. K. and Tan, K. S. 2004. Endocrine disrupting alkylphenols and bisphenol-A in coastal waters and supermarket seafood from Singapore. Marine Pollution Bulletin 48: 1145-1167.
32. Commission Decision 2002/657/EC. 2002. Commission decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results.
33. Yang, D. K. and Ding, W. H. 2005. Determination of alkylphenolic residues in fresh fruits and vegetables by extractive steam distillation and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1088: 200-204.
34. Martínez R. C., Rodríguez-Gonzalo, E. and Revilla-Ruiz, P. 2006. Determination of endocrine-disrupting compounds in cereals by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-mass spectrometry study of background contamination. Journal of Chromatography A 1137: 207-215
35. Ferrara, F., Fabietti, F., Delise, M. and Funari, E. 2005. Alkylphenols and alkylphenol ethoxylates contamination of crustaceans and fishes from the Adriatic Sea (Italy). Chemosphere 59: 1145-1150.

更多期刊、圖書與影音講座，請至【元照網路書店】www.angle.com.tw

Studies on the Analysis of 4-Nonylphenol in Seafood

MEI-HUA CHANG, WEI-LIANG YAN, YA-MIN KAO AND DANIEL YANG-CHIH SHIH

Division of Research and Analysis

ABSTRACT

In this study, the residual 4-nonylphenol in seafood samples was analyzed by ultra performance liquid chromatography with tandem mass spectrometer (UPLC/MS/MS). Approximately 5 g sample was added to $^{13}C6$ isotope labeled n-nonylphenol as an internal standard, and then 4-nonylphenol was extracted with acetonitrile, partitioned with *n*-hexane saturated with acetonitrile, cleaned up with Florisil cartridge and quantified by UPLC/MS/MS with standard addition method. The average recoveries of 4-nonylphenol at the spike levels of 25, 50 and 100 ppb ranged 93.6~102.2%. The coefficients of variance were 8.6~11.4%. The detection limit of 4-nonylphenol was 10 ppb. Thirty-one seafood samples were analyzed by this method. Four samples were detected with residues of 4-nonylphenol ranging between 14.5 and 49.4 ppb.

Key words: 4-nonylphenol, UPLC/MS/MS, seafood, standard addition method