

包裝飲用水中鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯之檢驗研究

陳冠妤 張嫻楨 張美華 廖家鼎 高雅敏 王德原 陳惠芳

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(di (2-ethylhexyl)phthalate, DEHP)為廣泛使用的塑化劑之一，用以增加塑膠材質的彈性。但消費者對於DEHP是否會自食品容器中溶出，因而造成危害之風險仍有疑慮。國際癌症研究署(International Agency for Research on Cancer, IARC)將DEHP歸為2B級可能致癌物(possibly carcinogenic to humans)。106年消費者文教基金會進行高溫環境下儲存後包裝飲用水之DEHP溶出試驗並發布新聞指出，食藥署公開之食品中鄰苯二甲酸酯類檢驗方法之定量極限(limit of quantification, LOQ)高於國際標準，無法判定瓶裝水於高溫儲存後DEHP溶出之結果。因目前公開之建議檢驗方法適用範圍為食品基質之塑化劑檢測，定量極限訂定為0.05 mg/kg，故需開發適用於包裝飲用水之DEHP之檢驗方法。本研究參考「食品中鄰苯二甲酸酯類塑化劑檢驗方法」，取去離子水製備標準曲線，線性範圍為2 - 50 ng/mL，並調整內標添加量，搭配液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)進行分析。添加回收試驗為於去離子水中添加0.002及0.005 mg/L之標準品，其平均回收率分別為98.4及98.0%；去離子水中添加0.002 mg/L標準品之同日與異日變異係數分別為5.6及5.4%，顯示方法之準確度與重複性皆良好，本方法之定量極限為0.002 mg/L。以建立之方法檢測10件市售包裝飲用水，其包裝材質皆為PET，分別儲藏於室溫與高溫(50或60°C) 7日，於儲藏前與儲藏第1、4及7天取樣分析，結果皆未檢出DEHP。

關鍵詞：鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯、包裝飲用水、高溫儲藏、液相層析串聯質譜儀

前言

鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(di (2-ethylhexyl)phthalate, DEHP)為最廣泛使用之塑化劑，可用以增加塑膠材質彈性，常見的應用像是聚氯乙烯製成的玩具、地板建材、纜索、輸血管和血袋等⁽¹⁾。DEHP可能自聚合物產品中遷移到環境或食品，而人們透過皮膚接觸、吸入與飲食攝入三種途徑接觸到塑化劑，

其中又以飲食攝取暴露機率最高。長期動物餵食試驗指出DEHP對大鼠、小鼠有肝臟致癌性⁽²⁾，而國際癌症研究署(International Agency for Research on Cancer, IARC)於2013年將DEHP歸為2B級可能致癌物(possibly carcinogenic to humans)。

DEHP對水溶解度低，約0.0006 - 1.3 mg/L⁽¹⁾。許多國家或組織皆有訂定飲用水中DEHP限量規範，例如：世界衛生組織(World

Health Organization, WHO)於飲用水水質指引中訂定DEHP殘留限量為0.008 mg/L⁽³⁾，美國環保署(United States Environmental Protection Agency, USEPA)國家飲用水主要標準中規範DEHP最大容許污染濃度為0.006 mg/L⁽²⁾，紐西蘭及澳洲則分別對飲用水中DEHP訂有0.009及0.01 mg/L之管制標準^(4,5)。目前臺灣「飲用水水質標準」和「包裝飲用水及盛裝飲用水衛生標準」尚未訂定DEHP之限量標準。

105年消費者文教基金會(消基會)進行高溫環境下包裝飲用水中塑化劑溶出試驗⁽⁶⁾，於車廂內(溫度28 - 50°C)放置7日，試驗結果顯示DEHP含量雖低於「食品中鄰苯二甲酸酯類塑化劑檢驗方法」之定量極限(limit of quantification, LOQ) 0.05 mg/kg⁽⁷⁾，但因方法之LOQ高於國際限量標準(如：USEPA訂定之0.006 mg/L)，難以作為判定依據。

為了解瓶裝水經高溫存放後，是否增加DEHP之暴露風險，擬以「食品中鄰苯二甲酸酯類塑化劑檢驗方法」為基礎，開發包裝飲用水中鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯之檢驗方法，並進行市售包裝飲用水室溫或加溫儲藏期間塑化劑溶出調查。

材料與方法

一、材料與試藥

(一)檢體來源

106年11、12月自台北地區賣場及便利商店購買礦泉水、地下水、鹼性水、氣泡水等10件包裝飲用水產品，每件產品同批號各兩瓶，儲放於室溫備用。

(二)儲存試驗流程

儲藏高溫條件參考消基會⁽⁶⁾與Batch等人⁽⁸⁾之試驗，並選擇較極端的儲藏溫度。每件檢體有兩瓶，其中5件檢體一瓶放置於室溫(20 - 25°C)，另一瓶儲放於50°C之恆溫

恆濕箱。其他5件檢體一瓶放置於室溫(20 - 25°C)，另一瓶儲放於60°C之恆溫恆濕箱。分別於儲藏試驗前與儲藏第1、4及7天進行取樣檢測。儲存試驗流程如圖一。

(三)溶劑與標準品

1. 鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(99.7%) (Fluka, USA)
2. 鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯同位素內部標準品(DEHP-d₄) (97%) (Toronto Research Chemicals, Canada)
3. 乙腈及甲醇為LC-MS級，丙酮採用LC級(Avantor Performance Materials, USA)
4. 甲酸採用試藥特級(Nacalai Tesque, Japan)

(四)內部標準溶液之配製

取鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯-d₄同位素內部標準品約10 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至10 mL，作為內部標準原液，於4°C貯存備用。臨用時取適量內部標準原液，加去離子水稀釋至1 mg/mL，供作內部標準溶液。

(五)標準溶液之配製

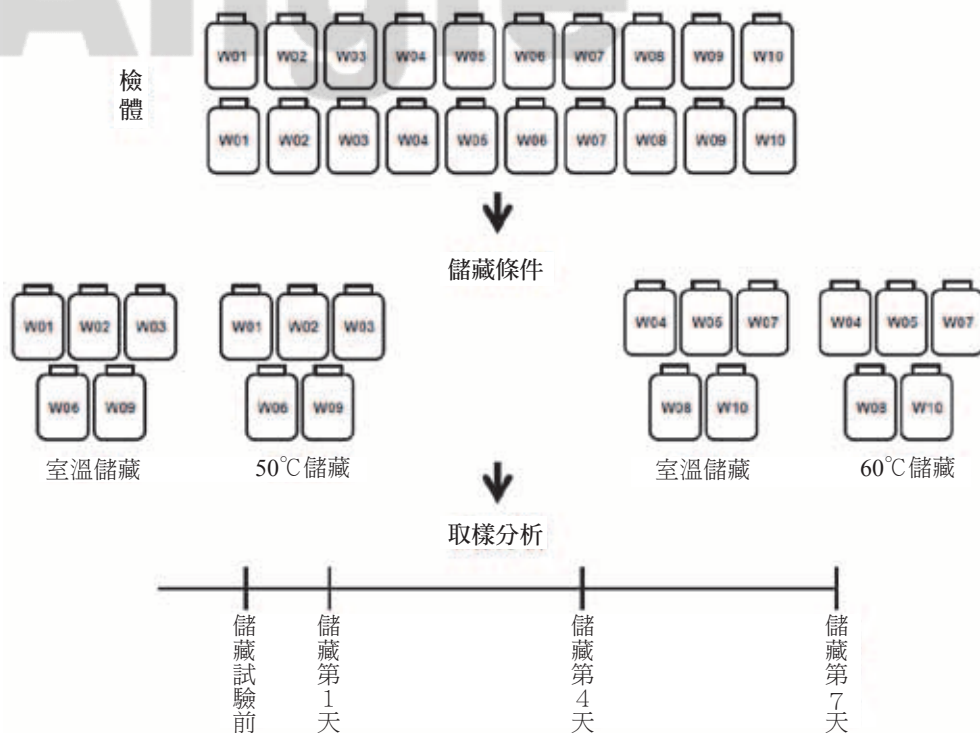
取鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯對照用標準品約100 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至10 mL，作為標準原液，於4°C貯存備用。臨用時取適量標準原液，加去離子水稀釋至1 mg/mL，供作標準溶液。

二、儀器設備

(一)液相層析串聯質譜儀：包含液相層析系統(Acquity UPLC[®], Waters, USA)與串聯質譜(Xevo[®] TQ MS, Waters, USA)

(二)層析管柱(Acquity CSH[™] Phenyl-Hexyl, 1.7 mm, 2.1 mm × 10 cm, Waters, USA)；捕捉管柱(Acquity UPLC[®] BEH C18, 1.7 mm, 2.1 mm × 3 cm, Waters, USA)

(三)去離子水製造機(Millipore milli-Q, Millipor, USA)



圖一、儲藏試驗流程示意圖

(四)旋渦混合器(Vortex-Genie 2 mixer, Scientific Industries, USA)

(五)超音波震盪器(VCX-600, Sonics & Materials, USA)

(六)恆溫恆濕箱(EFL-3, ESPEC, Japan)

三、檢液之調製

(一)檢液之調製^(註1)

精確量取檢體980 μL ，加入內標溶液20 μL ，旋渦混合均勻，供作檢液。

註1：含二氧化碳之檢體，先以超音波振盪15分鐘去除二氧化碳⁽⁴⁾。

(二)流程空白檢液之調製

另取去離子水980 μL ，加入內標溶液20 μL ，旋渦混合均勻，供作流程空白檢液。

四、標準曲線之製作

精確量取1 mg/mL標準溶液2 - 50 μL ，添加1 mg/mL內部標準溶液20 μL 及去離子水，使體積為1 mL，旋渦混合均勻，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析，就DEHP與DEHP-d₄之定量離子波峰面積之比值，與DEHP添加之濃度，製作2 - 50 ng/mL之標準曲線(使用加權線性回歸1/X進行校正，以提高低濃度數值之準確性)。

五、儀器參數之設定

(一)UPLC分析條件

1. 移動相溶液：(A)含0.1%甲酸之乙腈溶液，(B) 0.1%甲酸溶液，並依表一梯度條件進行分析。

2. 管柱溫度：40°C
3. 流速：0.4 mL/min
4. 注入量：10 µL

表一、超高壓液相層析儀動相梯度

Time (min)	A (%)	B (%)
0 → 2.0	25 → 50	75 → 50
2.0 → 7.2	50 → 50	50 → 50
7.2 → 7.3	50 → 80	50 → 20
7.3 → 9.5	80 → 80	20 → 20
9.5 → 9.6	80 → 100	20 → 0
9.6 → 12.5	100 → 100	0 → 0
12.5 → 12.6	100 → 25	0 → 75
12.6 → 15.0	25 → 25	75 → 75

(二)質譜條件

1. 離子化模式：電灑離子化正離子(ESI⁺)
2. 毛細管電壓：3.2 kV
3. 溶煤揮散流速：Nitrogen 800 L/hr
4. 溶煤揮散溫度：500°C
5. 離子源溫度：120°C
6. 進樣錐氣體流速: Nitrogen：100 L/hr
7. 偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)，偵測離子對、進樣錐電壓(cone voltage)與碰撞能量(collision energy)如下表二。

表二、鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯及其內標多重反應偵測模式參數

分析物	離子對	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)
	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)		
DEHP	391 > 149 ^a	19	23
	391 > 167	19	9
DEHP-d ₄	395 > 153	18	20

^a定量離子對

六、鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液、流程空白檢液及標準溶液

各10 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，以上述條件進行分析，就檢液與標準曲線溶液之波峰滯留時間與相對離子強度比鑑別，並依下列計算式求出檢體中DEHP含量(mg/L)：

檢體中DEHP之含量(mg/L) =

$$\frac{(C - Co) \times V}{M \times 1000}$$

C：由標準曲線求得檢液中DEHP之濃度 (ng/mL)

Co：由標準曲線求得流程空白檢液中 DEHP之濃度(ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之體積(mL)

七、添加回收試驗

取空白檢體(去離子水)分別添加1 mg/mL標準溶液各2及5 µL及1 mg/mL內部標準溶液20 µL，使體積為1 mL，標準品添加濃度分別為0.002及0.005 mg/L。依檢驗步驟分析，進行五重複檢測，計算五重複試驗間之平均回收率及變異係數(coefficient of variation, CV)，評估本方法之準確度及精密度。

八、定量極限之評估

含有已知量之最低濃度檢體，經處理分析後，層析圖譜中待測物波峰之定量離子對訊號/雜訊比(signal/noise ratio, S/N ratio) ≥ 10；定性離子對S/N ≥ 3，且回收率和重複性符合「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽⁹⁾要求。

結果與討論

一、標準曲線配製條件

本研究首先參考食藥署建議檢驗方法「食品中鄰苯二甲酸酯類塑化劑檢驗方法」，取標準品DEHP及內標DEHP-d₄於甲醇中配製標準曲線，但此標準曲線配製方法易受甲醇中殘留

物之干擾，導致感度難以降低，線性範圍只可達到5 - 200 ng/mL，不符合本研究定量極限之需求。為避免甲醇中殘留物之干擾，研究以去離子水稀釋標準溶液及內部標準溶液，以此建立標準曲線。

參考食藥署建議檢驗方法，於去離子水中添加0.005 mg/L內標，發現內標穩定度不佳，進而影響標準品DEHP定量結果，因此進行水中內標添加濃度的試驗。分別添加0.01、0.02、0.03及0.05 mg/L之內標及標準品於去離子水中，進行七次重複分析，計算標準品與內標波峰面積比值(relative response, RR)之平均值與變異係數，結果如表三。添加0.02、0.03及0.05 mg/L內標之變異係數小於10，穩定度較高，考量檢體水中DEHP應屬低濃度，故選擇0.02 mg/L作為本次內標添加濃度。

表三、內部標準品之穩定性試驗

DEHP-d4添加量 ^a (mg/L)	DEHP添加量 (mg/L)	RR ^b 平均值	RR變異係數 (%)
0.01	0.01	3.3	19.2
0.02	0.02	3.7	8.8
0.03	0.03	4.2	7.6
0.05	0.05	4.0	1.5

^a n=7^b RR (Relative response): DEHP與DEHP-d4波峰面積比值

二、方法確效

於空白檢體(去離子水)中添加標準品2、5、10、20及50 ng/mL含內部標準品20 ng/mL，其線性回歸方程式為 $Y = 2.08035 * X + 0.60263$ ，決定係數達0.9991，符合食品化學檢驗方法確效規範之0.99以上⁽⁹⁾。

(一)添加回收試驗

以空白檢體(去離子水)進行添加回收試驗，分別在去離子水中添加0.002及0.005 mg/L兩個濃度之標準品，進行五重複檢測。準確度結果如表四所示，平均回收率

分別為98.4及98.0%，皆介於60 - 125%之間。另外，於異日重複0.002 mg/L添加回收試驗，結果如表五，同日之變異係數為5.6%，異日之變異係數為5.4%，分別小於30及32%。故本方法之準確度和精密度符合食品化學檢驗方法確效規範⁽⁹⁾。

表四、去離子水中添加DEHP之準確度分析

濃度次數	添加量 (mg/L)	檢測值 (ng/mL)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	
低 濃 度	重複數1	0.002	1.80	91.7	
	重複數2	0.002	1.90	97.0	
	重複數3	0.002	2.10	106.4	98.4 ± 5.6 ^a
	重複數4	0.002	2.00	100.5	
	重複數5	0.002	1.90	96.3	
中 濃 度	重複數1	0.005	5.10	101.1	
	重複數2	0.005	4.90	97.9	
	重複數3	0.005	4.80	96.9	98.0 ± 2.6 ^a
	重複數4	0.005	4.70	94.5	
	重複數5	0.005	5.00	99.7	

^a平均回收率±變異係數(%)

表五、去離子水中添加DEHP之精密度分析

日別	添加量 (mg/L)	重複數	平均回收率 (%)	變異係數 (%)
同日	0.002	5	98.4	5.6
異日	0.002	10	101.1	5.4

(二)方法定量極限(LOQ)評估

於去離子水中添加0.002 mg/L標準品，其層析圖譜如圖二，DEHP定量離子訊噪比為221，大於10。且相同濃度進行五重複檢測後，計算平均回收率與變異係數分別為98.4及5.6% (表五)，回收率介於60 - 125%之間，變異係數小於30%，符合食品化學檢驗方法確效規範⁽⁹⁾，故本方法之LOQ訂為0.002 mg/L。



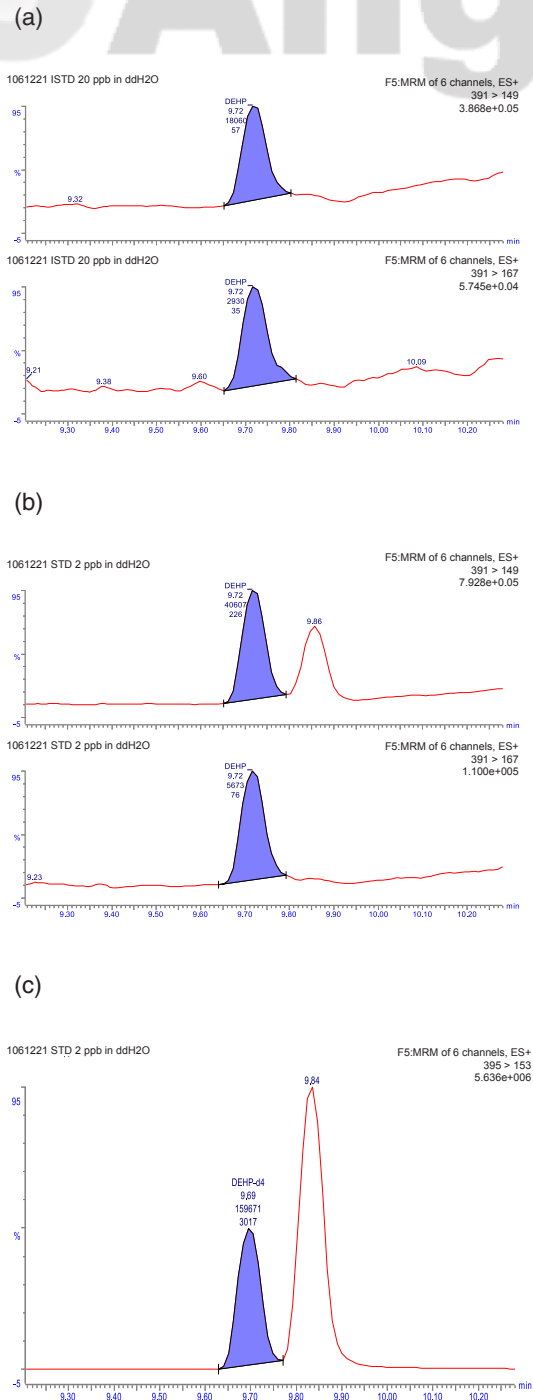
三、檢體檢測結果

PET為包裝飲用水最常見之包裝材質，本次試驗調查10件市售包裝飲用水之包裝材質皆為PET。Keresztes等人將PET瓶裝水可能檢測出塑化劑的原因歸為幾類：使用回收的PET瓶子、使用被汙染的水源、環境中的塑化劑交叉污染及被瓶蓋汙染等⁽¹⁰⁾。

本次試驗參考消基會之試驗，並調整為較極端的儲藏條件，於50及60°C進行連續7日之高溫處理。先取5件檢體，每件檢體一瓶放置室溫一瓶放置50°C儲存7日，儲放期間皆未檢出DEHP。由於50°C儲放7日結果皆為未檢出，故將第二批檢體提高儲存溫度至60°C。第二批試驗取另5件檢體，每件兩瓶分別在室溫或60°C儲藏7日。儲藏期間包裝雖有明顯變形，但DEHP溶出結果皆為未檢出。Bach等人將PET包裝飲用水置於60°C高溫儲放10天，塑化劑檢測結果皆為未檢出，與本次試驗結果雷同⁽⁸⁾。參考Erythropel等人的研究，PET為對苯二甲酸與乙二醇酯化產物之聚合物，聚合物結構不含DEHP且一般製造過程中也不會添加⁽¹¹⁾。故推論PET包裝之DEHP含量低，使得瓶裝水在50及60°C高溫儲放下，DEHP溶出率低。

結 論

本研究以「食品中鄰苯二甲酸酯類塑化劑檢驗方法」為基礎，以去離子水製備標準曲線，並調整內標添加量。經確效後，DEHP標準曲線之決定係數達0.9991，定量極限訂為0.002 mg/L，0.002及0.005 mg/L兩個添加濃度之平均回收率分別為98.4及98.0%，同日和異日之變異係數分別為5.6及5.4%，顯示本方法之回收率與重複性皆良好。本檢驗方法之前處理簡單，分析時間短，適用於包裝飲用水之檢驗。另，將10件市售檢體於室溫及高溫(50或



圖二、以LC/MS/MS分析去離子水之空白檢體 (a)、添加0.002 mg/L DEHP(b)及0.02 mg/L DEHP-d₄(c)之MRM層析圖譜

60°C)儲藏7日，於儲藏前與儲藏第1、4及7天取樣分析，DEHP溶出結果皆為未檢出。本研究結果可做為日後行政管理之參考。

參考文獻

1. European Commission Joint Research Centre. 2008. Summary risk assessment report - bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). [<https://echa.europa.eu/documents/10162/060d4981-4dfb-4e40-8c69-6320c9debb01>].
2. United States Environmental Protection Agency. 2009. National primary drinking water regulations. [<https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulation-table>].
3. World Health Organization. 2017. Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum. pp. 361-362. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
4. Ministry of Health. 2008. Drinking-water standards for New Zealand 2005 (Revised 2008). pp. 9. Ministry of Health, Wellington, New Zealand.
5. NHMRC and NRMCC. 2011. Australian drinking water guidelines paper 6 national water quality management strategy, version 3.4. pp. 859-861. National Health and Medical Research Council, National Resource Management Ministerial Council, Commonwealth of Australia, Canberra, Australia.
6. 中華民國消費者文教基金會。2017。置高溫環境包裝水，塑化劑及鉛檢測報告和銻溶出調查，優先訂定與國際接軌的標準。 [http://www.consumers.org.tw/contents/events_ct?id=320]。
7. 食品藥物管理署。2013。食品中鄰苯二甲酸酯類塑化劑檢驗方法。 [<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mid=133&id=7479&t=s>]。
8. Bach, C., Dauchy, X., Severin, I., Munoz, J.F. and *et al.* 2013. Effect of temperature on the release of intentionally and non-intentionally added substances from polyethylene terephthalate (PET) bottles into water: chemical analysis and potential toxicity. *Food Chem.* 139: 672-680.
9. 食品藥物管理署。2012。食品化學檢驗方法之確效規範。 [<http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?mid=133&id=10975&t=s>]。
10. Keresztes, S., Tatár, E., Czégény, Z., Zárny, G. and *et al.* 2013. Study on the leaching of phthalates from polyethylene terephthalate bottles into mineral water. *Sci. Total Environ.* 458: 451-458.
11. Erythropel, H.C., Maric, M., Nicell, J.A., Leask, R.L. and *et al.* 2014. Leaching of the plasticizer di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) from plastic containers and the question of human exposure. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98: 9967-9981.

Investigation of Test Method for Di (2-ethylhexyl) phthalate Residue in Bottled Water

KUAN-YU CHEN, HSIEN-CHEN CHANG, MEI-HUA CHANG,
CHIA-DING LIAO, YA-MIN KAO, DER-YUAN WANG
AND HWEI-FANG CHENG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Di (2-ethylhexyl) phthalate, also called DEHP, is used worldwide as a plasticizer to increase the flexibility of plastics. Because of the possible migration of DEHP from plastic package toward other media kept in contact such as food, consumers may expose to this harmful chemical. DEHP is classified into Group 2B (possibly carcinogenic to humans) by IARC. Recently, Consumers' Foundation, Chinese Taipei (CFCT) suggested a lower limit of quantification (LOQ) for the testing method of DEHP in bottled water, because the current method, "Method of Test for Phthalates Plasticizers in Foods" offered a higher LOQ than international drinking water regulations. Therefore, this study aimed on developing a new detection method of DEHP in water and conducting a survey on the migration of DEHP from the plastic package of bottled water toward its media, water. Particularly, for the bottled water exposed to high temperature. The current method was modified to the calibration range of 2 - 50 ng/mL by adding the standard to deionized water. Moreover, isotopic internal standard DEHP-d₄ was applied. The LC/MS/MS testing method of DEHP in water was validated through the following testing. A recovery study for DEHP was done at spiked levels of 0.002 and 0.005 mg/L in deionized water. The average recoveries were obtained as 98.4 and 98.0%, respectively. The coefficients of variation (CV) in repeatability and intermediate precision were 5.6 and 5.4%, respectively. The above results showed this method performed well in accuracy and precision. LOQ was assigned to 0.002 mg/L. In the surveillance study, ten brands of PET-bottled water were purchased. Two samples for each brand were stored at room temperature or higher temperature for seven days, respectively. The results showed that all samples were not detected during the 7-days storage period.

Key words: DEHP, bottled water, high temperature storage, LC/MS/MS