

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

總計劃：環境荷爾蒙丙二酚-A 之流佈調查與光催化分解

子計畫 2：環境水體中丙二酚-A 之流佈調查

計畫類別：個別型計畫

整合型計畫

計畫編號：CNEE94-04

執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

子計畫主持人：藥學系 楊竹茂 副教授

執行單位：藥學系

中華民國 95 年 2 月 20 日

中文摘要

本研究計劃系群體總計畫「環境荷爾蒙丙二酚-A 之流佈調查與光催化分解」之子計畫，主要探討環境水體中丙二酚-A 之含量，以期能從測定結果了解來自設於本校附近之奇美化工廠所排放廢水中丙二酚-A 含量是否可能造成本校四周環境的危害或污染。

實驗中，採用高壓液體色層分析法，配合螢光偵測器，以乙氰、四氫呋喃及水（比例為 70：40：90）為移動相(mobile phase)及逆相 RP-18(Reverse Phase RP-18)管柱為固定相(Stationary phase)，進行標準品及廢水樣品之分析。在此分析條件下，標準品在 $0.2 \sim 10 \mu\text{g/ml}$ 之濃度範圍內其直線回歸方程式為 $Y=9.08 \times 10^4 X + 1.80 \times 10^4$; $R^2=0.99967$ ，顯現標準品之校正曲線之直線性良好。以同條件測定不定時取自奇美化工廠之排放廢水中所含丙二酚-A 之含量，結果在標準品相對滯留時間(Retention time)並未發現丙二酚-A 的蹤跡，在提高 1000 倍靈敏度後也得到相同結果。因此就所測得結果判斷，並無證據足以懷疑排放水對環境的危害。

關鍵字： 丙二酚-A；高壓液體色層分析；螢光偵測器

計畫緣由與目的

丙二酚-A (Bisphenol A ; BPA; 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane)是近年來備受重視的環境賀爾蒙之一，一般在工業上常做為塑膠及樹脂製品之基本原料，尤其用於各種光碟片之製造，每年全世界之產量超過 9 億 3 千磅，而且有日漸增加的趨勢。台灣也是全世界產製最高的地區之一，本校附近的奇美化工即是產製此類產品的知名工廠。依據美國環境保護協會 (EPA ; Environmental Protection Agency) 之評估，BPA 對脊椎動物及魚類具有中度的毒性，雖然有學者認為其不具有致突變性，然而已有諸多研究顯示其具有類似雌激素的活性，能與雌激素接受體產生結合，因此對於人類健康與野生生物具有危害。尤其此化合物在環境中存在非常大量，對環境生態的影響不容漠視。

本計畫為總計劃「環境荷爾蒙丙二酚-A 之流佈調查與光催化分解」之子計畫。本計劃旨在評估本校四周環境水體中丙二酚-A 之含量。本校位於二仁溪畔，而包含奇美化工廠等化學作業廠位於保安工業區及周邊地區，大部分廢水皆排漏於二仁溪，因此有必要針對工廠排放水加以分析，以瞭解本校四周環境是否遭受此化合物之衝擊。

材料與方法

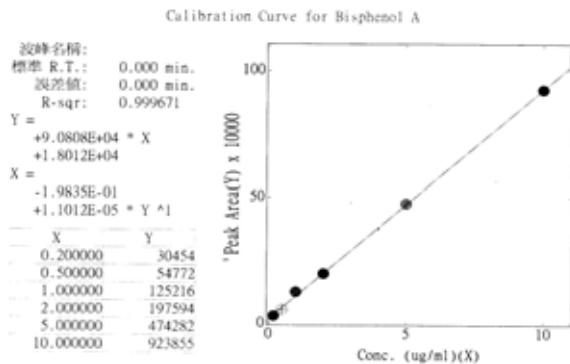
- I. 試藥及其他耗材：丙二酚-A 及其他分析試藥皆為西德 E. Merck 產品。
- II. 儀器：HPLC (Shimadzu, Japan)包含 LC 10AD Pump; SCL-10A controller; SIL-10A autoinjector; RF-535 Fluorescence Detector
- III. 水體來源：不定時取自奇美化工廠廢水放流口(位於寶安工業區圍牆外)，經以濾紙過濾後再以 0.45 μm 之濾膜減壓過濾供測。

IV. 實驗方法

1. 丙二酚-A標準曲線之製作：精確秤取丙二酚-A 10 mg 置於100-ml量瓶，以甲醇溶解並稀釋至100-ml刻度，作為Stock solution。再量取適量Stock solution以甲醇連續稀釋至0.2、0.5、1.0、2.0、5.0與10 μg/ml等6種濃度之標準溶液。
2. 移動向之配製：取Acetonitrile、THF與去離子水依70:40:90比例混合，經以0.45 μm之濾膜減壓過濾。
3. 實驗條件：
Pump rate : 1 ml/min.
Detection : Ex. 275 nm Em. 300 nm
Injection Volume: 25 μl
Column : LiChrospher 100 RP-18 (5 μm) 250 x 4 mm
Sensitivity : Low

結果與討論

1. 丙二酚-A 之校正曲線

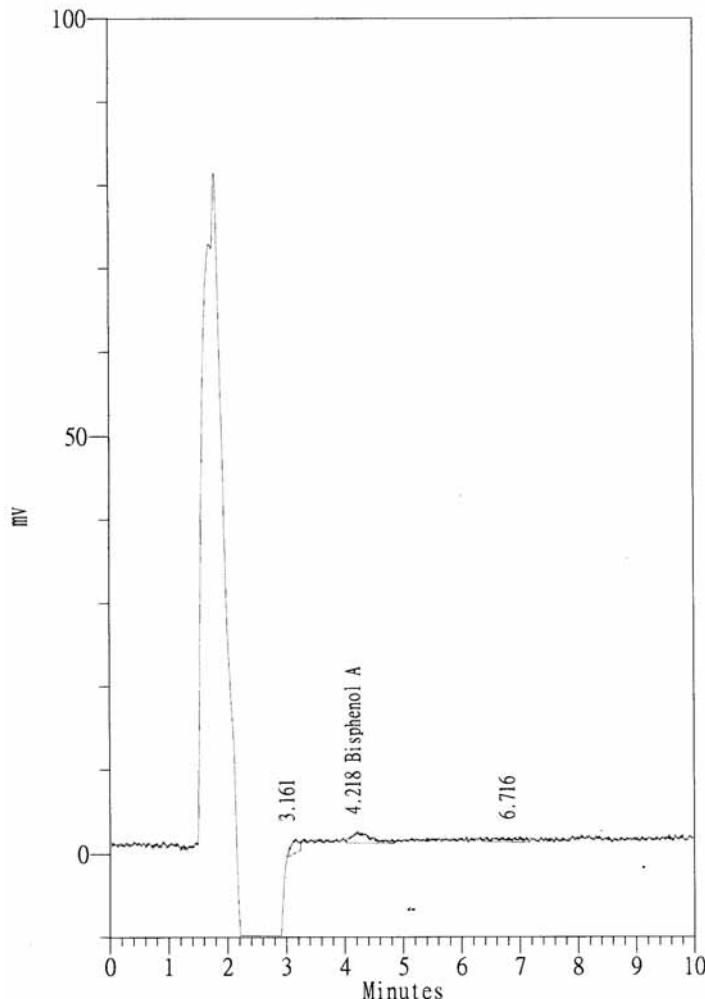


2. 丙二酚-A 之 HPLC 圖譜

Typical chromatogram of Bisphenol A by Fluorescence Detection

檔名:BPACAL4.CHR BPA 200 ng/ml
注射試樣日期:02-08-206 時間:15:05:41
印表日期:02-10-2006 時間:14:37:14

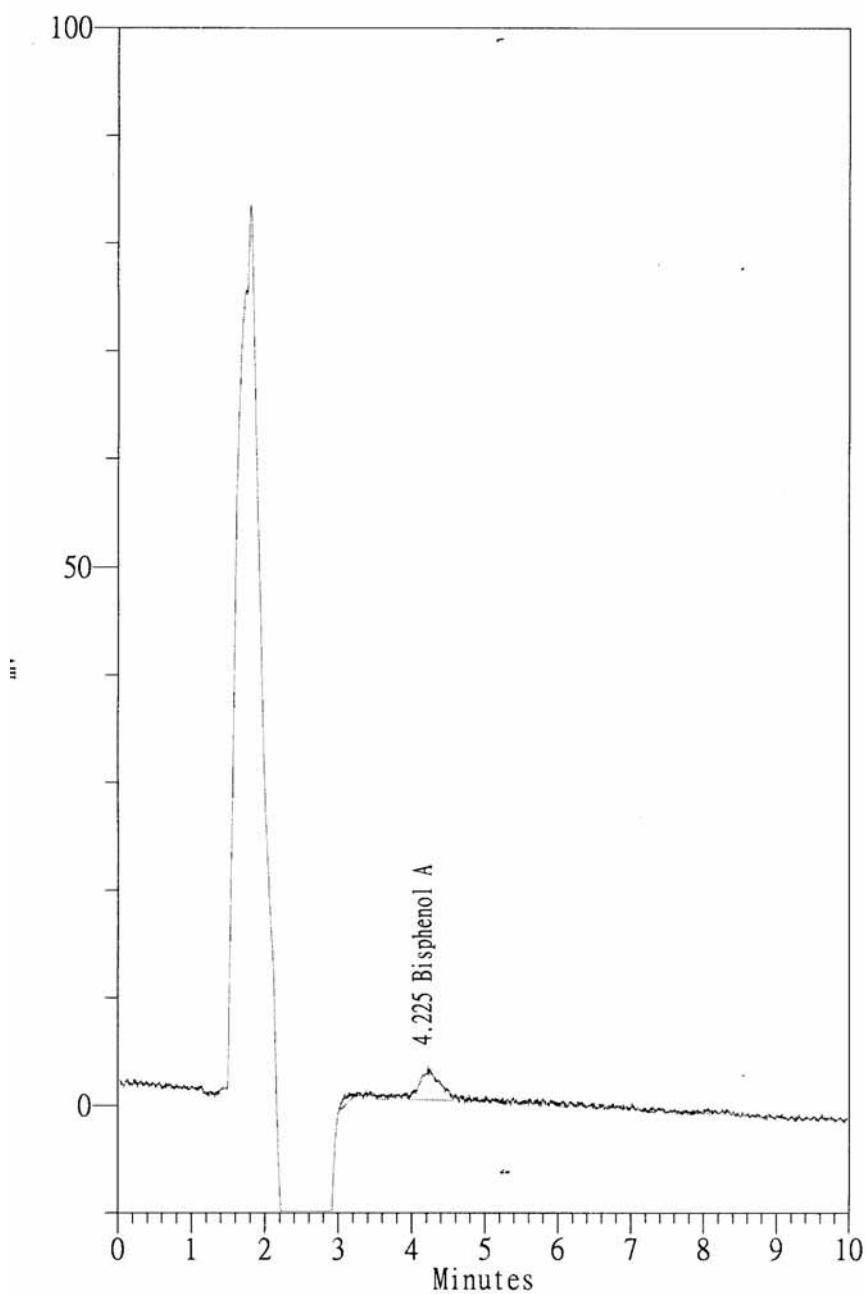
編號	滯留時間	波峰面積	相對高度	半波峰寬度	起始時間	停止時間	左端基線	右端基線	基線碼	成份名稱
1	3.161	15384	1.615	0.000	3.003	3.237	3.003	3.471	PV	
2	4.218	30454	1.363	0.000	4.020	4.836	3.885	4.836	VP	Bisphenol A
3	6.716	15492	0.638	0.756	6.391	7.170	6.391	7.170	PP	
總和		61330	3.616	-						



Typical chromatogram of Bisphenol A by Fluorescence Detection

名:BPACAL5.CHR BPA 500 ng/ml
射試樣日期:02-08-206 時間:15:17:03
表日期:02-10-2006 時間:14:36:09

編號	滯留時間	波峰面積	相對高度	半波峰寬度	起始時間	停止時間	左端基線	右端基線	基線碼	成份名稱
1	4.225	54772	3.135	0.299	3.962	4.565	3.962	4.565	PP	Bisphenol A
	總和	54772	3.135							



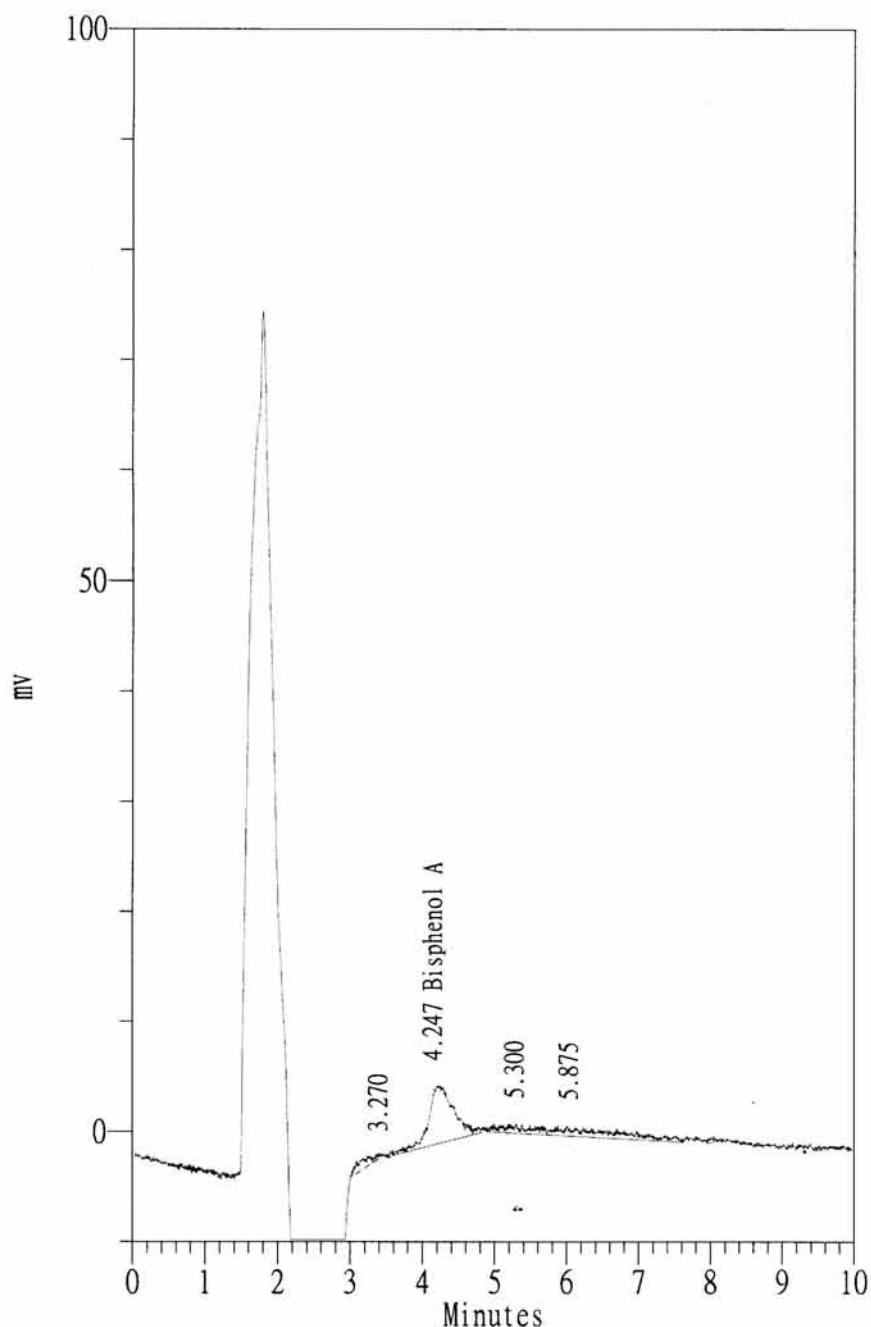
Typical chromatogram of Bisphenol A by Fluorescence Detection

檔名:BPACAL6.CHR BPA 1000 ng/ml (1 ug/ml)

注射試樣日期:02-08-206 時間:15:28:25

印表日期:02-10-2006 時間:14:34:09

編號	滯留時間	波峰面積	相對高度	半波峰寬度	起始時間	停止時間	左端基線	右端基線	基線碼	成份名稱
1	3.270	11600	0.801	0.000	3.003	3.307	3.003	3.428	PV	Bisphenol A
2	4.247	125216	5.352	0.000	3.603	4.701	3.603	4.810	PV	
3	5.300	23026	0.991	0.000	4.898	5.732	4.898	7.638	PV	
4	5.875	51648	1.052	0.000	5.732	7.638	4.898	7.638	VP	
總和		211490	8.195							



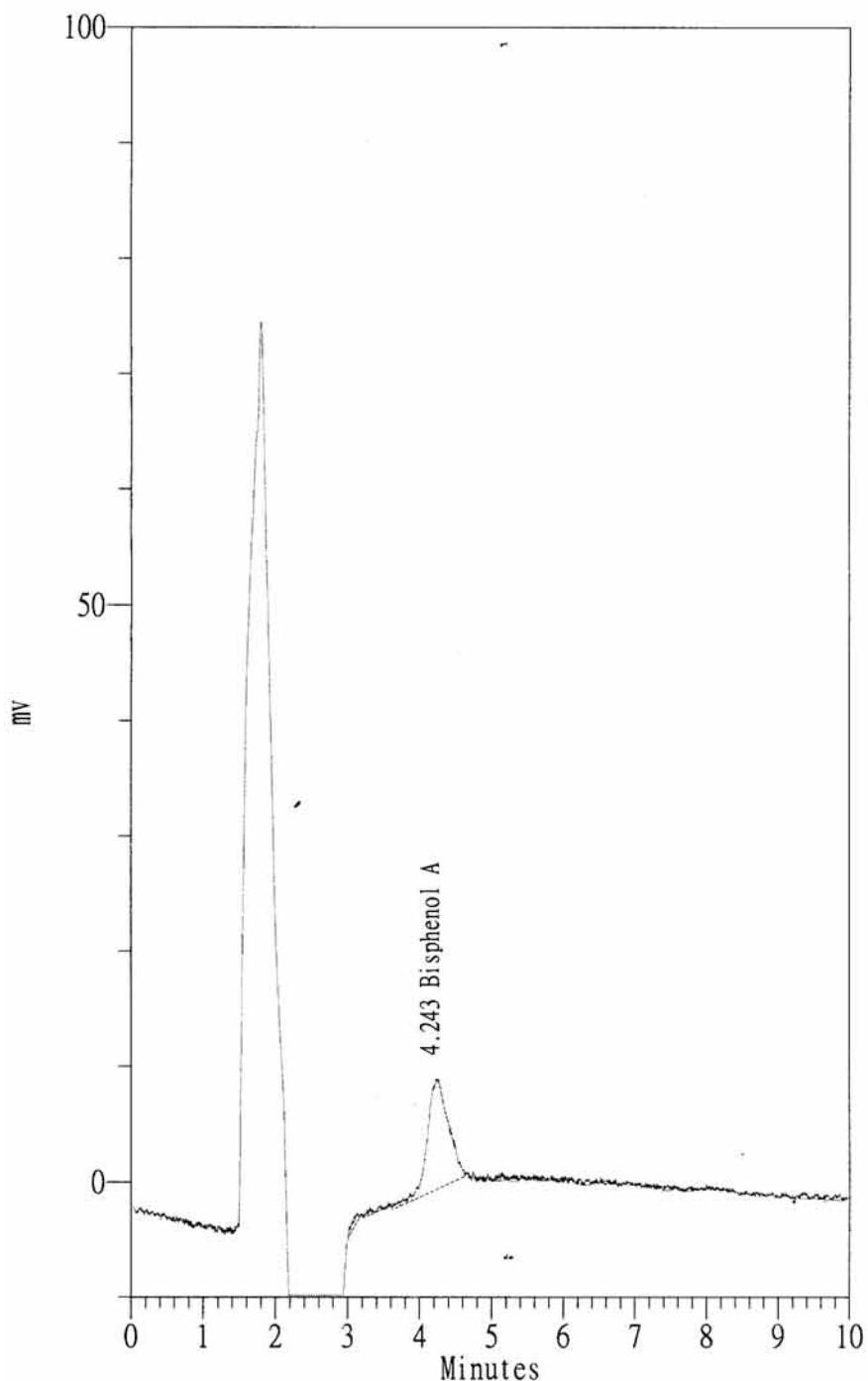
Typical chromatogram of Bisphenol A by Fluorescence Detection

檔名:BPACAL7.CHR BPA 2000 ng/ml (2 ug/ml)

注射試樣日期:02-08-206 時間:15:39:46

印表日期:02-10-2006 時間:14:29:38

編號	滯留時間	波峰面積	相對高度	半波峰寬度	起始時間	停止時間	左端基線	右端基線	基線碼	成份名稱
1	4.243	197594	9.590	0.316	3.614	4.624	3.614	4.624	PP	Bisphenol A
	總和	197594	9.590							



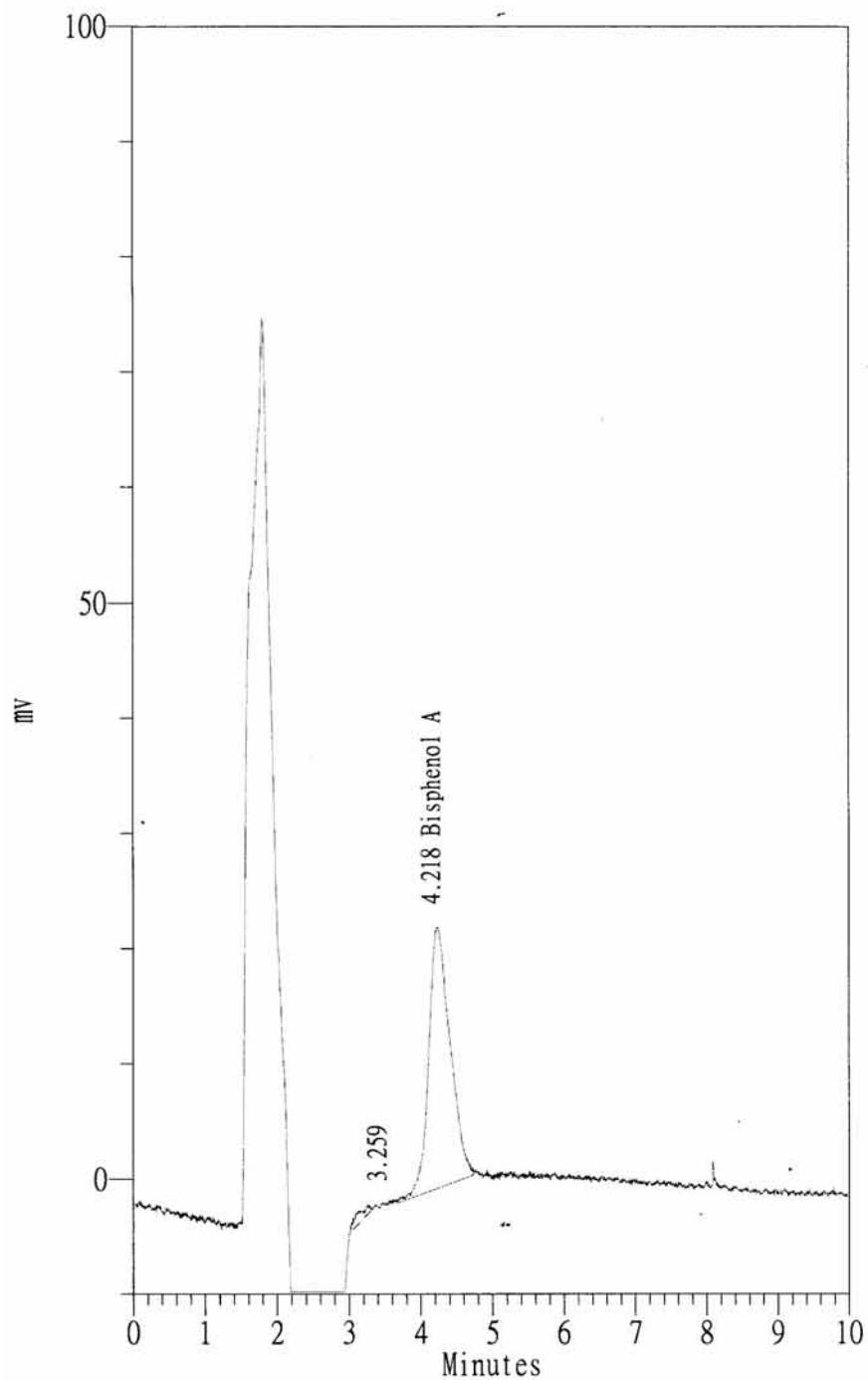
Typical chromatogram of Bisphenol A by Fluorescence Detection

檔名:BPACAL8.CHR BPA 5000 ng/ml (5 ug/ml)

注射試樣日期:02-08-206 時間:15:51:07

印表日期:02-10-2006 時間:14:27:18

編號	滯留時間	波峰面積	相對高度	半波峰寬度	起始時間	停止時間	左端基線	右端基線	基線碼	成份名稱		
1	3.259	12512	0.772	0.243	3.000	3.300	3.000	3.300	PP			
2	4.218	474282	22.756	0.321	3.673	4.733	3.673	4.733	PP	Bisphenol A		
總和		486793	23.528									



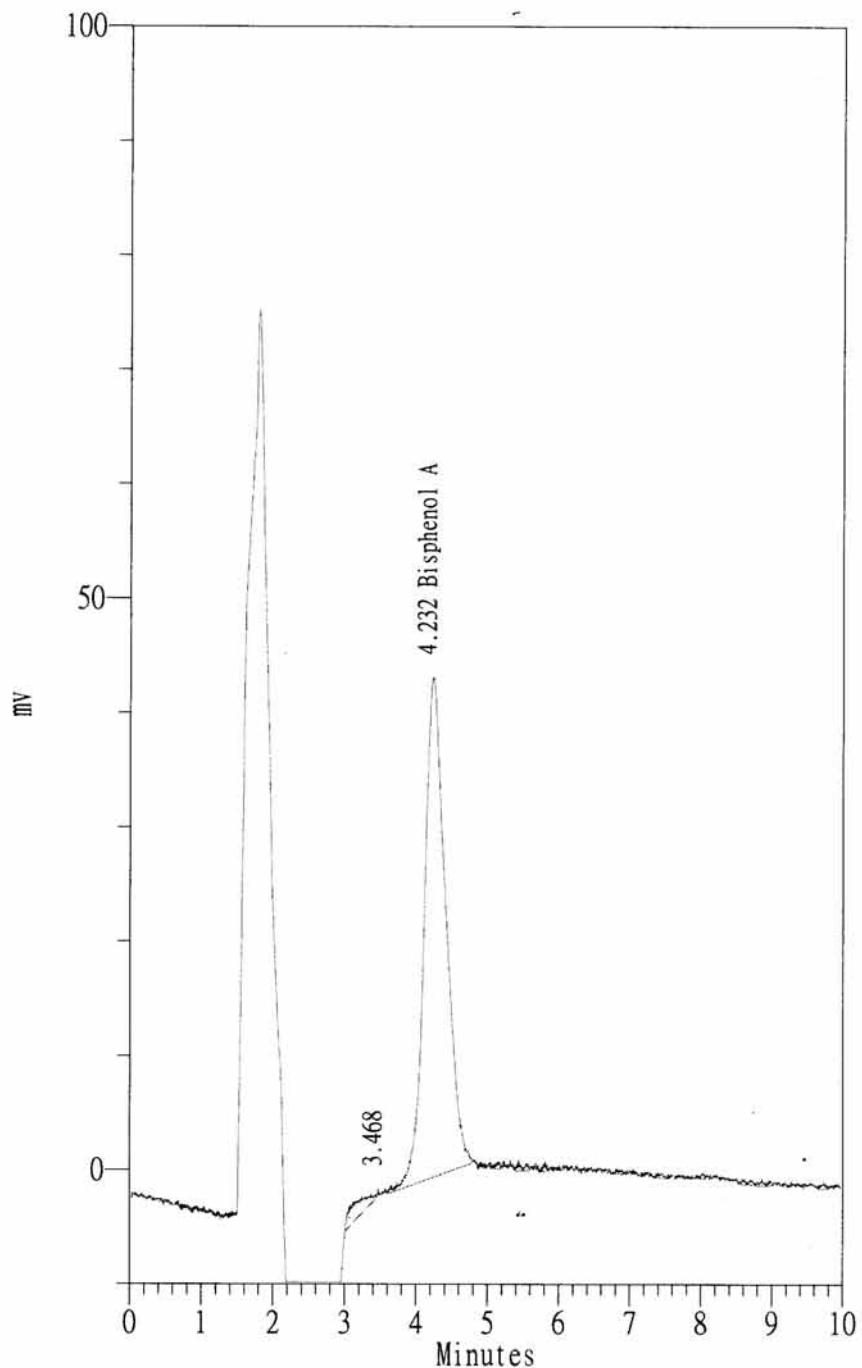
Typical chromatogram of Bisphenol A by Fluorescence Detection

檔名:BPACAL9.CHR BPA 10000 ng/ml (10 ug/ml)

注射試樣日期:02-08-206 時間:16:02:28

印表日期:02-10-2006 時間:14:25:52

編號	滯留時間	波峰面積	相對高度	半波峰寬度	起始時間	停止時間	左端基線	右端基線	基線碼	成份名稱
1	3.468	28504	0.609	0.421	3.000	3.479	3.000	3.479	PP	
2	4.232	923855	43.857	0.320	3.607	4.785	3.607	4.785	PP	Bisphenol A
總和		952358	44.466							



3. 奇美化工廠放流水中丙二酚-A 含量之分析結果

經以標準品校正曲線所採用之相同條件測定放流水，結果在相對應滯留時間(retention time)點並未呈現丙二酚-A 之波峰，再經提高偵測器 1000 倍靈敏度後也未發現相對之波峰。

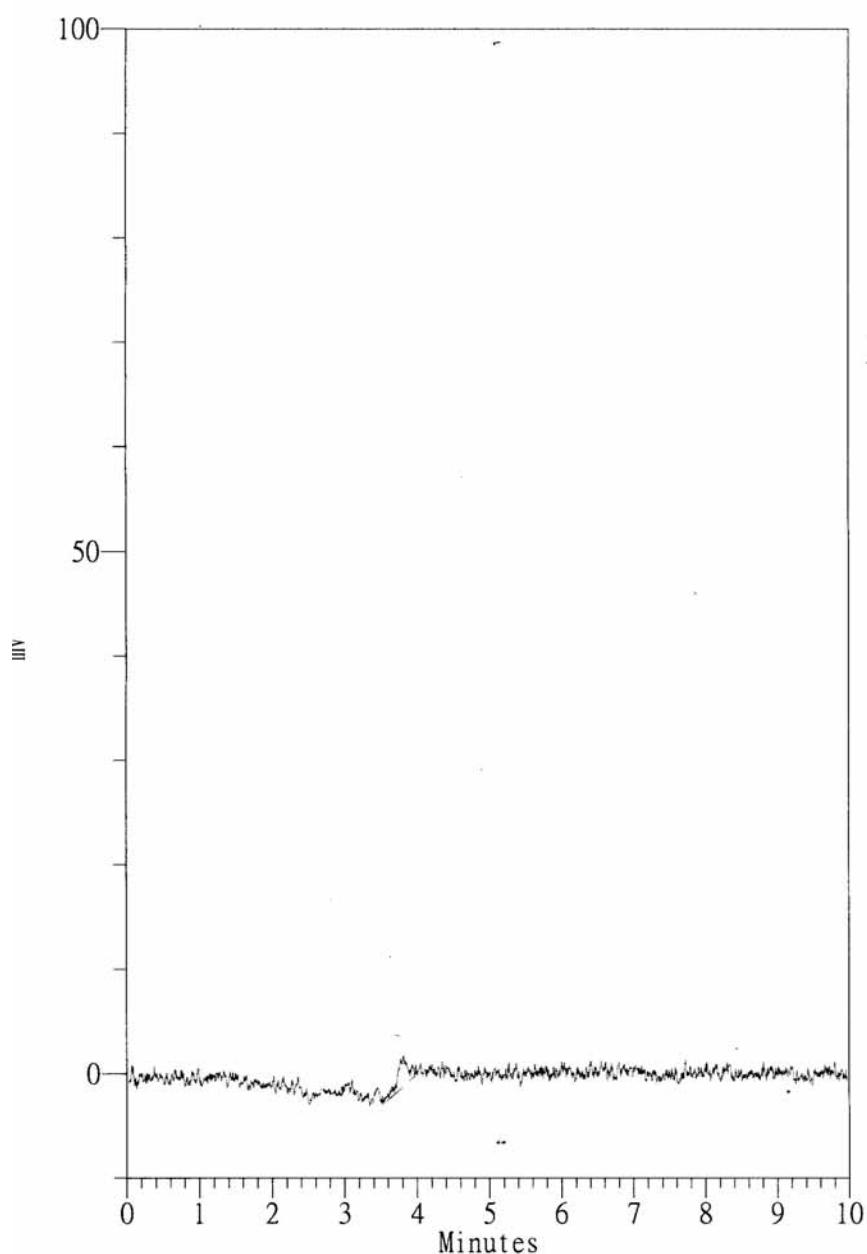
Waste Water drained from Chi-Mei Chemical Factory

樣名: WAST4.CHR Waste water; Ex. 275nm Em. 300 nm; Low Sen.

射試樣日期: 02-14-206 時間: 13:50:25

表日期: 02-20-2006 時間: 12:42:44

編號	滯留時間	波峰面積	相對高度	半波峰寬度	起始時間	停止時間	左端基線	右端基線	基線碼	成份名稱
1	3.804	31160	3.038	0.209	3.523	3.965	3.523	3.965	PP	Bisphenol-A
	總和	31160	3.038							



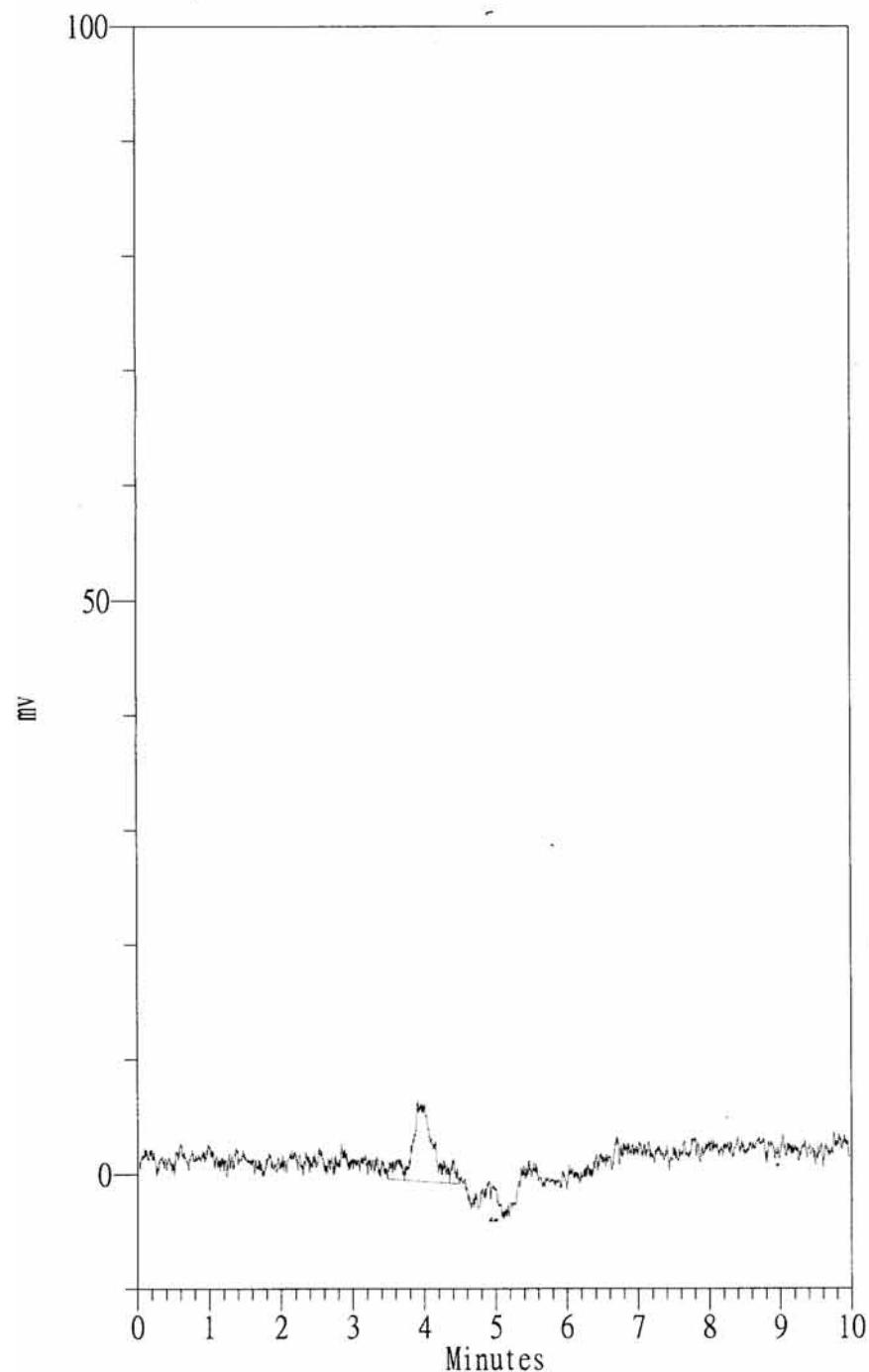
Waste Water drained from Chi-Mei Chemical Factory

當名: CALNG7.CHR Waste water; Ex. 275 nm Em. 300 nm; High Sen.

主射試樣日期: 02-14-206 時間: 17:14:45

印表日期: 02-20-2006 時間: 12:40:38

編號	滯留時間	波峰面積	相對高度	半波峰寬度	起始時間	停止時間	左端基線	右端基線	基線碼	成份名稱
1	3.621	16550	1.819	0.000	3.479	3.713	3.479	4.488	PV	
2	3.907	122523	7.065	0.000	3.713	4.349	3.479	4.488	VV	Bisphenol-
總和		139073								



在本研究中丙二酚-A 標準品之分析採用 RF-535 螢光偵測器，靈敏度設定在”LOW”，如果提高螢光偵測器靈敏度至”HIGH”，因為靈敏度高，雜訊也同時增大，丙二酚-A 呈現相連波峰，改變移動相組成並未能將之分離，其原因可能是丙二酚-A 中含有微量的結構類似化合物，因此最低可測定濃度限於上述原因只能偵測到 200 ng/ml。此外，因未找到適合的內部標準品，所有測定皆採外部標準品法。在此分析條件下，標準品在 0.2~10 µg/ml 之濃度範圍內其直線回歸方程式為 $Y=9.08 \times 10^4 X + 1.80 \times 10^4$ ； $R^2=0.99967$ ，顯現標準品校正曲線之直線性良好。

以同條件測定在不定時取自奇美化工廠之排放廢水中所含丙二酚-A 之含量，結果在標準品相對滯留時間(Retention time)並未發現丙二酚-A 的蹤跡，在提高 1000 倍靈敏度後也得到相同結果。因此就本研究所測得結果判斷，並無證據足以懷疑排放水對環境的危害。

結論

在本研究條件下測定奇美化工廠之放流水並未偵測到丙二酚-A 之存在。

參考文獻

- Akira Motoyama, Ayako Suzuki, Osamu Shirota, Ryujiro Namba, Direct determination of bisphenol A and nonylphenol in river water by column-switching semi-microcolumn liquid chromatography/electrospray mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 13, 2204-2208, 1999
- Chen, M.Y., Ike, M. and Fujita, M., Acute Toxicity, Mutagenicity, and Estrogenicity of Bisphenol-A and Other Bisphenols, *Environ. Toxicol.*, 17, 80-86, 2002.
- Hideaki Kanai, J. Carl Barrett, Manfred Metzler, Takeki Tsutsui, Cell-transforming activity and estrogenicity of bisphenol-A and 4 of its analogs in mammalian cells *International Journal of Cancer*, 93, 20-25, 2001
- Hiroyuki Kataoka, Megumi Ise, Shizuo Narimatsu, Automated on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the analysis of bisphenol A, alkylphenols, and phthalate esters in foods contacted with plastics, *Journal of Separation Science*, 25, 77-85, 2002.
- Michihiko Ike, Min-Yu Chen, Chang-Suk Jin, Masanori Fujita, Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of biodegradation products of bisphenol-A *Environ. Toxicol.*, 17, 457-461, 2002

Shuhao Wang, Xinting Wei, Lingyun Du, Huisheng Zhuang, Determination of bisphenol A using a flow injection inhibitory chemiluminescence method
Luminescence, 20, 46-50, 2005.

Timothy J. Schrader, I. Langlois, K. Soper, W. Cherry, Mutagenicity of bisphenol A (4,4'-isopropylidenediphenol) in vitro: effects of nitrosylation, *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 22, 425-441, 2002.

Tara E. Schafer, Carol A. Lapp, Carole M. Hanes, Jill B. Lewis, John C. Wataha, George S. Schuster, Estrogenicity of bisphenol A and bisphenol A dimethacrylate in vitro, *Journal of Biomedical Materials Research*, 45, 192-197, 1999

Yen Sun, Miki Irie, Naoya Kishikawa, Mitsuhiro Wada, Naotaka Kuroda, Kenichiro Nakashima, Determination of bisphenol A in human breast milk by HPLC with column-switching and fluorescence detection, *Biomedical Chromatography*, 18, 501-507, 2004.

Yen Sun, Mihoko N. Nakashima, Masakatsu Takahashi, Naotaka Kuroda, Kenichiro Nakashima, Determination of bisphenol A in rat brain by microdialysis and column switching high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Biomedical Chromatography*, 16, 319-326, 2002.

Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S.A. and Esparza, M., HPLC-fluorescence Detection and Adsorption of Bisphenol A, 17 β -estradiol, and 17 α -ethynodiol estradiol on Powdered Activated Carbon, *Water Res.*, 37, 3530-3537, 2003.