

分子印迹聚合物为涂层的吸附萃取搅拌棒 在环境水样双酚 A 含量测定中的应用

林福华, 黄晓佳*, 袁东星, 刘宝敏

(厦门大学近海海洋环境国家重点实验室, 厦门大学环境科学研究中心, 福建 厦门 361005)

摘要 :以双酚 A (BPA) 为单体, 利用整体材料“原位”聚合技术制备以分子印迹聚合物为涂层的吸附萃取搅拌棒 (MIP-SBSE), 然后与高效液相色谱 (HPLC)-二极管阵列检测器联用, 探讨其对环境水样 BPA 的选择萃取性能。优化萃取过程中吸附和解吸时间、解吸液种类以及基底 pH 值和离子强度对目标化合物的选择吸附性能。在最佳条件下, MIP-SBSE 可对模板分子进行有效的选择吸附, 线性范围为 1.0 ~ 200 $\mu\text{g/L}$, 检出限 ($S/N=3$) 和定量限 ($S/N=10$) 分别为 0.28 $\mu\text{g/L}$ 和 0.94 $\mu\text{g/L}$ 。在实际水样分析中, 具有良好的加标回收率, 其值为 96.0% ~ 108.7%。研究结果表明, 所建立的方法具有简便、灵敏和环境友好等特点。

关键词 :高效液相色谱; 搅拌棒吸附萃取; 分子印迹聚合物; 双酚 A

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2010)05-0507-06

Determination of bisphenol A in environmental water samples by stir bar sorptive extraction based on molecularly imprinted polymer

LIN Fuhua, HUANG Xiaojia*, YUAN Dongxing, LIU Baomin

(State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract : A new stir bar sorptive extraction (SBSE) based on molecularly imprinted polymer (MIP) with bisphenol A as template was prepared. Based on it, a simple, selective and sensitive method for the determination of bisphenol A (BPA) was developed combined with high performance liquid chromatography (HPLC) with diode array detection. To achieve the optimum extraction performance, several main parameters, including extraction and desorption time, the nature of desorption solvent, pH value and contents of inorganic salt in the sample matrix, were investigated. The optimized parameters for the extraction of BPA from water matrix with the MIP-SBSE are as follows: extraction and desorption time were 120 min and 10 min, respectively; the pH value of matrix was 10.0; using acetonitrile (including 1% acetic acid) as desorption solvent; no salt was added in the matrix. Under the optimized experimental conditions, the method showed good linearity between 1.0 - 200 $\mu\text{g/L}$. The detection limit ($S/N=3$) and quantification limit ($S/N=10$) of the proposed method for the BPA was 0.28 $\mu\text{g/L}$ and 0.94 $\mu\text{g/L}$, respectively. The proposed method was successfully applied to the determination of the target compound in water samples. The recoveries of spiked target compound in real samples ranged from 96.0% - 108.7%. The results indicated that the developed method possessed the advantages such as high sensitivity, simplicity, low cost and environmental friendliness.

Key words : high performance liquid chromatography (HPLC); stir bar sorptive extraction (SBSE); molecularly imprinted polymer; bisphenol A

* 通讯联系人: 黄晓佳, 博士, 副教授, 主要研究方向为样品前处理技术. E-mail: hxj@xmu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 20805039) 和福建省青年科技人才创新项目 (No. 2006F3117).

收稿日期: 2010-04-12

双酚 A (BPA) 广泛用于生产合成树脂、塑料、合成纤维和农药。同时, BPA 又是重要的环境内分泌干扰物, 它能与人体的内源激素雌二醇竞争结合雌激素受体, 并可能引起一系列病变; 长期接触 BPA 会增加患心脏病、糖尿病和肝病的风险^[1]。含有 BPA 的产品在使用过程中会通过各种途径进入环境从而危害人类健康, 如婴儿奶瓶在长期接触较热液体中, BPA 会逐渐释放从而对婴儿和儿童的大脑、行为和前列腺产生潜在危害^[2]。因此, 2008 年 10 月 18 日加拿大联邦政府正式宣布, 决定将 BPA 列入有毒物质列表中。

目前对 BPA 采用的分析方法有高效液相色谱法 (HPLC)^[3] 和气相色谱法 (GC)^[4]。由于 BPA 在实际样品中含量较低, 同时复杂的样品基底对分析过程会产生严重的干扰, 因此在进行分析前, 需进行一定的预处理。常用的预处理方法有液-液萃取 (LLE)^[5]、基质固相分散 (MSPD)^[6]、固相萃取 (SPE)^[7]、加速溶剂萃取 (ASE)^[8]、固相微萃取 (SPME)^[9] 和中空纤维膜微萃取 (HFME)^[9] 等。这些预处理方法虽然在 BPA 测定中有一定的应用, 但也存在不足, 如 LLE、MSPD、SPE 和 ASE 均需一定量的有机溶剂, SPME 和 HFME 的萃取容量较低。另外, 上述前处理方法对 BPA 不具有选择萃取性能, 在萃取目标化合物的同时, 也对非目标化合物进行萃取, 这会对随后的分离过程产生一定的影响。

分子印迹聚合物 (MIP) 是人工合成的具有三维空间结构的聚合物, 对印迹分子即模板具有高选择性, 因此人们将其作为萃取剂用于样品前处理^[10], 其中将 MIP 装填成 SPE 小柱是最常用的萃取方式, 但 MIP-SPE 存在着操作繁琐, 仍需要一定量的有机溶剂等不足。搅拌棒吸附萃取技术 (stir bar sorptive extraction, SBSE) 是在 SPME 技术基础上发展的一种新型的无溶剂或少溶剂的样品前处理技术, 它集萃取、净化和富集为一体, 具有操作简便、高富集效率和环境友好等特点。目前该技术已成功地应用于环境监测^[11]、食品检验^[12]、农残检测^[13] 以及生化分析^[14] 等诸多领域, 成为分析化学领域内的研究热点之一。但目前商品化的 SBSE 的涂层只有聚二甲基硅烷 (PDMS) 一种, 其对包括 BPA 在内的极性有机物的萃取效率低下, 需要对样品进行衍生化^[11]。衍生化不仅操作繁琐, 且减少涂层的寿命。因此本研究将 MIP 和 SBSE 技术相结合, 以 BPA 为模板分子, 制备分子印迹聚合物并以其作为 SBSE 涂层 (MIP-SBSE), 详细考察了萃取时间、解吸时间、解吸溶液以及样品基质中 pH 值、离子强度等实

验条件对 BPA 选择萃取性能的影响, 在此基础上与 HPLC-二极管阵列检测器 (DAD) 联用测定实际水样中的超痕量 BPA。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱系统: 包括 LC-20AB, CBA-20A 控制器; SPD-M20A 检测器 (日本 Shimadzu 公司); 7725i 进样阀 (美国 Rheodyne 公司); 20 μL 定量阀。

BPA (99%), 4-乙烯基吡啶 (4-VP, 99%) 和乙二醇二甲基丙烯酸酯 (EDMA, 97%) 购自日本 TCI 公司; 乙腈 (ACN) 和甲醇 (色谱纯) 购自美国 Tedia 公司; 苯酚 (99%, phenol, P), 购自上海试剂厂; 对硝基苯酚 (*p*-nitrophenol, *p*-NP) (98%)、氯酚 (98%, 2-chlorophenol, 2-CP)、二甲基苯酚 (98%, 2,4-dimethylphenol, 2,4-DMP) 和二氯苯酚 (99%, 2,4-dichlorophenol, 2,4-DCP) 均由天津 Alfa Aesar 公司提供。其他所用试剂均为分析纯; 全部实验用水均为 Milli-Q 水 (Millipore, USA)。

1.2 标准溶液的配制

分别称取 2.5 mg 各标准样品, 甲醇溶解并定容于 25 mL 棕色瓶中, 配制成 100 mg/L 的单标准储备液, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中保存。使用时, 用 Milli-Q 水为稀释液, 取各单标准储备液适量, 配制成所需浓度的混合标准溶液。

实际水样分别采自厦门大学和厦门嵩屿电厂附近海域的海水。使用前过 0.45 μm 滤膜。

1.3 萃取条件

吸附 2 h, 解吸 10 min, 解吸溶剂为含 1% 乙酸的 ACN, 基底 pH 值为 10, 不调离子强度。

1.4 色谱条件

色谱分离柱: Thermo LC-18 column (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) 流动相: 水为流动相 A, ACN 为流动相 B, 流速 0.7 mL/min; 检测波长 271 nm; 进样体积 20 μL 。优化后的梯度洗脱程序为 0 ~ 8 min, 70% B; 8 ~ 10 min, 30% B; 10 ~ 15 min, 70% B。

1.5 实验方法

室温条件下, 准确量取 100 mL 的标准水样置于 250 mL 的烧杯中, 放入搅拌棒以 200 r/min 的速度进行搅拌萃取。萃取完成后, 取出搅拌棒, 转移到 3.0 mL 的解吸溶液中, 在同样搅拌速度条件下进行解吸。将解吸液直接进行色谱分析。

1.6 MIP-SBSE 的制备

搅拌磁子的制备和预处理可参考文献 [15]。

将 0.082 g BPA 和 0.038 5 g 4-VP 溶于体积比为 3:2 的正丙醇和 1,4-丁二醇混合溶液中,加入 0.322 g EDMA 和 10 mg 偶氮二异丁腈,将该溶液超声 10 min,通氮气除氧 5 min,将该溶液倒入内径为 3 mm 的玻璃管中,垂直放入预处理过的搅拌磁子,将玻璃口密封,60 °C 下聚合 24 h。然后小心除去玻璃管,取出搅拌棒置于体积比为 9:1 的甲醇和乙酸混合液浸泡至无 BPA 被检出。

空白分子印迹聚合物(NIP)的合成:除了不加

入模板分子 BPA 外,其余步骤同上。图 1 为自制的以 MIP 或 NIP 为涂层的搅拌棒示意图,图 2 为以 BPA 为模板的 MIP 的反应方程。

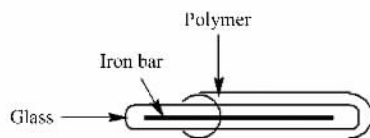


图 1 搅拌棒的结构示意图

Fig. 1 Structural diagram of the stir bar in the experiment

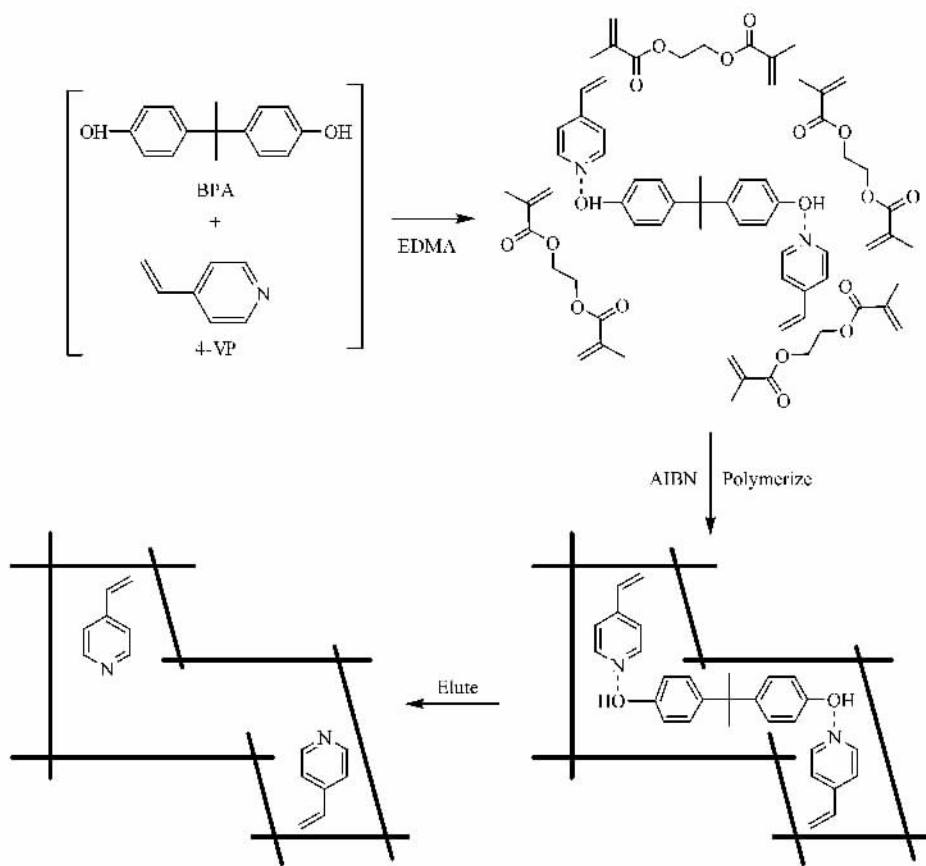


图 2 BPA 为模板分子印迹聚合物的反应方程

Fig. 2 Preparation procedure of MIP used BPA as temple

2 结果与讨论

2.1 MIP-SBSE 的制备与红外表征

在 MIP 的制备过程中,我们发现模板分子用量、单体、交联剂以及致孔剂之间的比例均对 MIP-SBSE 对 BPA 的选择吸附性能有较大影响。综合考虑搅拌棒对模板分子的吸附量、选择性能以及使用寿命,最终确定单体混合物与致孔剂的质量比为 3:7,单体混合物中 4-VP 与 EDMA 的质量比为 1:9, BPA 用量为 4-VP 和 EDMA 总量的 20%。在此最佳条件下, MIP-SBSE 显示出较强的选择吸附性能和

稳定性,搅拌棒可重复使用 30 次以上。

在对所制备 MIP 在模板分子洗脱前后进行傅里叶红外光谱(FTIR)表征时发现,模板分子洗脱前后的 FTIR 图中均有 1454.7、1602.6、1516.9 和 2980.3 cm^{-1} 的吸收峰,它们分别归属于吡啶环 C=C 的伸缩振动吸收峰、吡啶环中 C=N 的伸缩振动吸收峰、苯环骨架的振动吸收峰以及 $-\text{CH}_3$ 和 $-\text{CH}_2$ 的吸收峰。当模板分子被洗脱后,表征苯环的吸收峰(1516.9 cm^{-1})消失,这说明模板分子基本上从 MIP 被洗脱。FTIR 结果表明,模板分子 BPA 被成功地结合到聚合物中,经过酸处理可以将

BPA 从 MIP 中去除。

2.2 MIP-SBSE 对 BPA 萃取条件的优化

为了考察 MIP-SBSE 对 BPA 的选择萃取性能,我们选择了 P、*p*-NP、2-CP、BPA、2,4-DMP 和 2,4-DCP 为萃取对象,详细考察了吸附时间、解吸溶剂及时间、水样基底的离子强度及 pH 值等因素对模板分子的选择吸附性能的影响。

2.2.1 吸附时间的影响

图 3 为 MIP-SBSE 对 6 种酚的吸附性能随时间变化的结果。在其他实验条件保持不变时,MIP-SBSE 对 6 种酚的吸附量随着萃取时间的延长而增加,同时在 2 h 时,MIP-SBSE 对模板分子 BPA 的吸附量达到最高值并高于其他酚的吸附量,这说明所制备的搅拌棒对模板分子具有一定的选择性。因此,实验中选择 2 h 为最佳萃取时间。

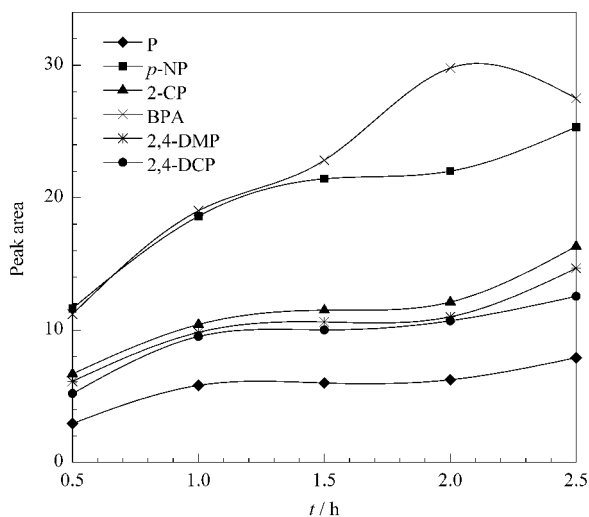


图 3 萃取时间对萃取效率的影响
Fig. 3 Effect of extraction time on extraction efficiency

2.2.2 解吸溶剂和时间的影 响

以 ACN 为解吸溶剂,在考察不同乙酸添加量对解吸效果影响时,发现 1% 的乙酸即可使目标化合物从搅拌棒上解吸下来,过多的乙酸会对涂层造成一定的腐蚀从而缩短使用寿命。解吸时间对实验结果也有较大影响,实验结果表明解吸时间为 10 min 时,目标化合物可以从 MIP-SBSE 上被完全解吸,因此解吸时间确定为 10 min。

2.2.3 离子强度的影响

根据文献以及本课题组已有的研究基础^[15-20]可知,离子强度对萃取效率有很大影响,因此本实验通过添加不同量的 NaCl 来改变基底的离子强度,添加量分别为 0、50、100、150、200、250 g/L,观察离子强度对结果的影响。

从图 4 的实验结果可以看出,除 BPA 外,不同离子强度对 MIP-SBSE 吸附性能影响不大。但离子强度的增加不利于 MIP-SBSE 对模板分子 BPA 的吸附,其原因可能是随着盐浓度的增加,过多的离子强度削弱 BPA 与 MIP 的氢键作用力,从而减少 MIP-SBSE 对 BPA 的吸附效果。因此用 MIP-SBSE 萃取时,建议不要增加样品基底的盐的浓度。

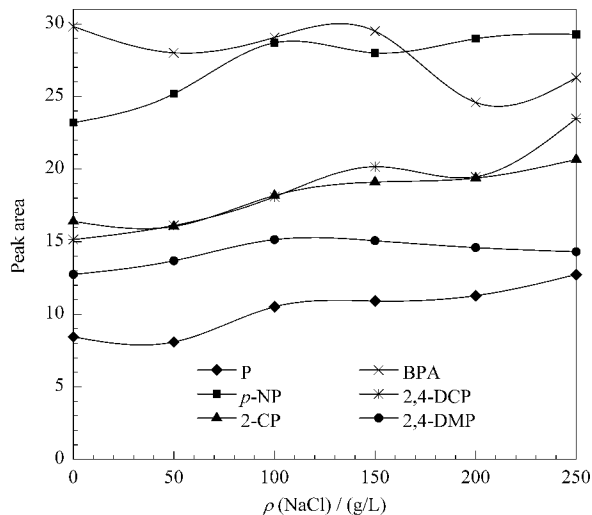


图 4 离子强度对萃取效率的影响
Fig. 4 Effect of ionic strength on extraction efficiency

2.2.4 pH 值的影响

在其他实验参数固定的条件下,基底 pH 值从 3.0 增加到 12.0,其对萃取结果的影响如图 5 所示。当基底 pH 值高于 10, MIP-SBSE 对所有酚类化合物的吸附性能显著下降,其原因可能为在较高 pH 值时,酚类化合物解离,因此它们与涂层的疏水性作用力下降导致萃取量的减少。而对于模板分子

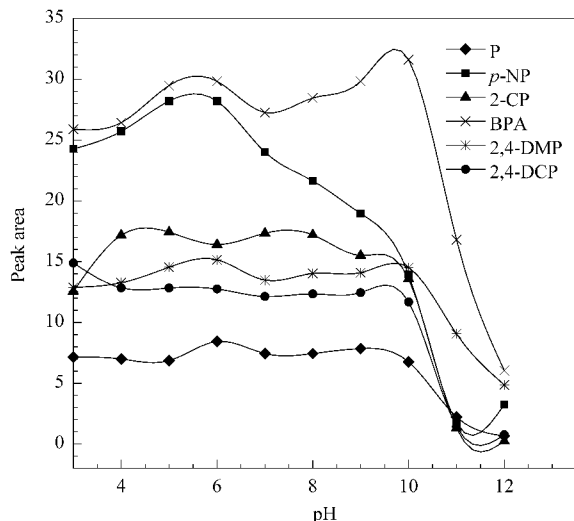


图 5 pH 值对萃取效率的影响
Fig. 5 Effect of pH value on extraction efficiency

BPA,由于印迹空穴中氮原子与BPA具有较强的氢键作用力,因此在较高pH值时MIP-SBSE对BPA仍有高的吸附量。但当pH值高于BPA的 pK_a (9.4)时,BPA中的-OH基团解离,打断了其与印迹空穴中氮原子的氢键作用,因此吸附量下降。根据实验结果,选择最佳的pH值为10。

综合实验结果,得出如1.3节所述的MIP-SBSE对BPA的最佳选择萃取条件。图6为在最佳萃取条件下,采用MIP-SBSE和NIP-SBSE对6种酚类物质萃取后测定的色谱图。由图6可见,MIP-SBSE和NIP-SBSE对除了模板分子BPA外的5种酚类物质吸附效果一致,但MIP-SBSE对模板分子BPA的吸附量明显高于NIP-SBSE的吸附量,这说明其对BPA具有较高的选择吸附性能。

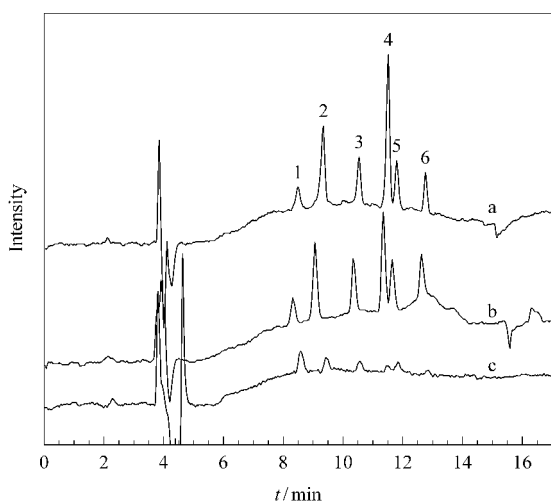


图6 (a)MIP-SBSE和(b)NIP-SBSE对6种酚类物质萃取后以及(c)加标水样直接测定的色谱图

Fig. 6 Chromatograms of six phenols extracted with (a) MIP-SBSE, (b) NIP-SBSE and (c) direct injection of spiked water without enrichment

Condition: the spiked concentration for each compound was 100 $\mu\text{g/L}$.

Peaks: 1. P; 2. *p*-NP; 3. 2-CP; 4. BPA; 5. 2,4-DMP; 6. 2,4-DCP.

2.3 标准工作曲线和检出限

用标准储备液配制不同浓度梯度的BPA标准溶液(1.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0 $\mu\text{g/L}$),在最佳的萃取条件下,按1.5节所述过程,考察方法的线性相关系数、检出限和线性范围。

本方法对BPA测定的线性范围为1.0~200 $\mu\text{g/L}$,具有良好的线性关系($R^2 = 0.9994$),检出限(以信噪比(S/N)为3计)和定量限($S/N = 10$)分别为0.28 $\mu\text{g/L}$ 和0.94 $\mu\text{g/L}$,同时方法的重复性良好,日间相对标准偏差(RSD)为4.70% ($n = 5$)。结果表明本方法具有较高的灵敏度和实验重复性。

2.4 实际水样的测定

将MIP-SBSE与HPLC-DAD联用,用于两个实际海水水样的测定,结果如表1所示。结果表明所测两个水样中均未检出BPA。

实际样品复杂的基底往往对萃取效率产生较大影响,为了考察所建立的方法用于实际水样中BPA测定的可行性,测定实际水样不同加标量的回收率。表1数据表明,所建立的方法在两种不同加标量(10 $\mu\text{g/L}$ 和100 $\mu\text{g/L}$)情况下均具有理想的回收率,其值在90%~110%之间;同时实验的RSD值均小于7%,这表明本方法有良好的实验重现性。

表1 两种水样的空白及加标回收率

Table 1 Results of determination and recoveries of real water samples spiked with BPA

Sample	Added/ ($\mu\text{g/L}$)	Found/ ($\mu\text{g/L}$)	Recovery/ %	RSD/% ($n = 3$)
Seawater 1	0	ND		
	10	10.87	108.7	3.72
	100	101.7	101.7	6.42
Seawater 2	0	ND		
	10	9.60	96.0	4.84
	100	97.9	97.9	5.93

* ND means not detected.

3 结语

本研究制备了以BPA为模板的分子印迹聚合物,并将其作为SBSE的涂层,所制备的MIP-SBSE可对模板分子BPA进行有效的选择性萃取。同时,所建立起来的MIP-SBSE/HPLC-DAD在最佳条件下可灵敏测定实际水样中的BPA。研究表明,本方法具有操作简便、灵敏度高、重现性好、精密度高、使用有机溶剂少等优点。

参考文献:

- [1] Carabias-Martínez R, Rodríguez-Gonzalo E, Revilla-Ruiz P. *J Chromatogr A*, 2006, 1137: 207
- [2] Meerts I A, van Zanden J J, Luijckx E A C, et al. *Toxicol Sci*, 2000, 56: 95
- [3] Shao B, Han H, Li D M, et al. *Chinese Journal of Chromatography* (邵兵, 韩灏, 李冬梅, 等. 色谱), 2005, 23(4): 362
- [4] Lü G, Wang L B, Liu J, et al. *Chinese Journal of Analysis Laboratory* (吕刚, 王利兵, 刘军, 等. 分析实验室), 2008, 27(9): 73
- [5] Xian Y P, Guo X D, Du Z F, et al. *Modern Food Science and Technology* (洗燕萍, 郭新东, 杜志峰, 等. 现代食品科技), 2008, 24(5): 493
- [6] Shao B, Gao Y X, Han H, et al. *Environmental Chemistry* (邵兵, 高迎新, 韩灏, 等. 环境化学), 2005, 24(5): 483
- [7] Zhang H, Mao J, Sun C J, et al. *Chinese Journal of Chromatography*

- matography (张宏, 毛炯, 孙成均, 等. 色谱), 2003, 21(5): 451
- [8] Wang J, Pan H F, Wen Y, et al. Environmental Monitoring in China (王静, 潘荷芳, 文莹, 等. 中国环境监测), 2008, 24(5): 8
- [9] Basheer C, Parthiban A, Jayaraman A, et al. J Chromatogr A, 2005, 1087(1/2): 274
- [10] Dai Q, Wang Y, Bao X W, et al. Chinese Journal of Chromatography (戴晴, 王妍, 包学伟, 等. 色谱), 2009, 27(6): 764
- [11] Ito N, Tao H, Ibusuki T. Anal Chim Acta, 2005, 535: 243
- [12] Sandra P, Tienpont B, David F. J Chromatogr A, 2003, 1000: 299
- [13] Tienpont B, David F, Kesmet K, et al. Anal Bioanal Chem, 2002, 373: 46
- [14] Kawaguchi M, Ito R, Saito K, et al. J Pharm Biomed Anal, 2006, 40: 500
- [15] Huang X J, Yuan D X. J Chromatogr A, 2007, 1154: 152
- [16] Huang X J, Yuan D X, Huang B L. Talanta, 2008, 75: 172
- [17] Huang X J, Qiu N N, Yuan D X. J Chromatogr A, 2008, 1194: 134
- [18] Huang X J, Qiu N N, Yuan D X, et al. Talanta, 2009, 78: 101
- [19] Huang X J, Lin J B, Yuan D X, et al. J Chromatogr A, 2009, 1216: 3508
- [20] Lin F H, Qiu N N, Huang X J, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (林福华, 邱宁宁, 黄晓佳, 等. 分析化学), 2010, 38(1): 67