

固相萃取膜技术用于自来水中丙烯酰胺的测定

张 勃, 祁 悦, 高赫男, 包建民*

(天津市现代药物传递及功能高效化重点实验室, 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

摘要 : 开发了一种简便快速的固相萃取膜(SPE disk)技术, 实现了对 500 mL 自来水中微量丙烯酰胺的富集, 采用高效液相色谱法(HPLC)完成其定性和定量测定。比较不同填料的吸附情况, 选择活性炭作为丙烯酰胺的最佳吸附剂。考察了洗脱剂种类、洗脱剂体积、洗脱速率和穿透体积等条件对萃取结果的影响, 优化了色谱分离条件。经膜萃取过的丙烯酰胺在 0.05 ~ 0.5 mg/L 质量浓度范围内, 其峰面积与质量浓度的线性关系良好, 相关系数为 0.998, 检出限为 20 ng/L。该方法对不同体积、不同浓度的丙烯酰胺溶液的回收率为 94.12% ~ 100.2%, 相对标准偏差为 2.09% ~ 4.51% ($n = 3$), 自来水样品的加标回收率为 79.96%。该方法操作简单、快速、灵敏度高, 适合对水中丙烯酰胺的测定。

关键词 : 高效液相色谱; 固相萃取膜; 活性炭; 丙烯酰胺; 自来水

中图分类号 : O658 文献标识码 : A 文章编号 : 1000-8713(2010)12-1196-04

Application of solid phase extraction disk in the determination of acrylamide in tap water

ZHANG Bo, QI Yue, GAO Henan, BAO James Jianmin*

(Tianjin Key Laboratory for Modern Drug Delivery & High-Efficiency, School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract : A simple and fast method of solid phase extraction (SPE) disk for the determination of trace acrylamide was developed. Using this new technique along with high performance liquid chromatography (HPLC) and ultraviolet spectroscopy (UV) detection, the feasibility of SPE disk method for rapid enrichment was demonstrated in the determination of trace acrylamide in 500 mL tap water. Active carbon was chosen as the adsorbent to be incorporated into the SPE disk as it gave the best adsorption efficiency. Experimental parameters including solvent, elution volume, elution rate, breakthrough volume were optimized to give the highest efficiency of extraction. Under proper chromatographic conditions, acrylamide was easily separated from other impurities. A linear relationship between peak area and mass concentration in the range 0.05 - 0.5 mg/L of acrylamide was established with a correlation coefficient of 0.998. The limit of detection was 20 ng/L. The recoveries for acrylamide with different concentrations and volumes ranged from 94.12% to 100.2%. The relative standard deviations (RSDs) were 2.09% - 4.51% ($n = 3$). The recovery for acrylamide spiked into a tap water sample was 79.96%. The method is simple, fast, sensitive and suitable for the determination of acrylamide in tap water.

Key words : high performance liquid chromatography (HPLC); solid phase extraction disk; active carbon; acrylamide; tap water

聚丙烯酰胺是一种应用广泛的水处理絮凝剂, 经其处理过的水中往往会含有微量的丙烯酰胺。而丙烯酰胺是公认的致癌物质和神经性致毒剂, 对人

体有一定的危害。因此世界卫生组织(WHO)对聚丙烯酰胺使用时的投加量做了严格限制, 经絮凝沉淀处理后水体中的丙烯酰胺的含量应低于 0.5

* 通讯联系人: 包建民, 博士, 教授, 研究方向为蛋白质组学分离技术、复杂样品分析技术、药物分析方法的开发和验证等。Tel : (022) 27892820, E-mail : bao@tju.edu.cn.

基金项目 : 天津市科技发展计划项目(Nos. 08CZKFSH00500, 05YFGHHZ01600).

收稿日期 : 2010-09-05

$\mu\text{g/L}^{[1]}$ 。为了测定水体中微量的丙烯酰胺以及避免复杂的基质干扰,传统方法往往需采用昂贵的仪器设备^[2-4]或者较为烦琐的衍生步骤^[5-7]以满足测定丙烯酰胺的要求。

固相萃取膜(SPE disk)是 90 年代发展起来的一种新型的 SPE 技术。对于相同质量的填料,SPE 膜的横截面积约是 SPE 柱的 10 倍,可以采用较高的流量,从而缩短了样品前处理时间,提高了效率。这种技术广泛应用于环境水样中有机污染物的萃取和检测^[8-10],但是用于对水中丙烯酰胺的测定还未见报道。

本文采用活性炭 SPE 膜技术,无需样品衍生步骤,实现了对自来水中微量丙烯酰胺的快速富集,大大缩短了样品处理时间。同时采用高效液相色谱-紫外检测法(HPLC-UV)对自来水中富集的丙烯酰胺进行定量分析,建立了一种简便、快速、灵敏地测定自来水中丙烯酰胺浓度的方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

ConstaMetric 3000 高效液相色谱泵(美国 Milton Roy 公司),紫外检测器(美国 Waters 公司),循环水式真空泵(美国 Cole Parmer 公司),真空过滤系统(上海申东仪器有限公司),空气泵(天津 HSENG 公司), $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔有机滤膜(天津北洋膜技术公司)。直径为 47 mm,厚度为 0.5 mm 的 SPE 膜(重量 0.5 g,其中填料占 90%,天津奥秘科技有限公司)。

丙烯酰胺(99%)、甲醇、乙醇(天津大学科威公司),水为蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液的配制

用蒸馏水配制 1 g/L 丙烯酰胺储备液,由储备液配制不同浓度的丙烯酰胺标准溶液。配制加入 $0.25\ \mu\text{g}$ 丙烯酰胺标准品的 500 mL 自来水加标溶液。所有溶液经过 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤。

1.2.2 SPE 膜对丙烯酰胺的吸附

将 SPE 膜安装在真空抽滤装置上,依次用 10 mL 甲醇、10 mL 水进行活化。上样 10 mL 或 500 mL 样品溶液,收集流出液。用 10 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液。对于 500 mL 的样品,将洗脱液吹干,然后用 1 mL 甲醇复溶。

1.2.3 色谱条件

色谱柱:天津奥秘科技有限公司 Baulo™ 120-5 ODS 色谱柱($250\ \text{mm} \times 4.6\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$);流动相:

甲醇-水(5:95, v/v);流速:0.5 mL/min;检测波长 210 nm;进样体积 20 μL 。

2 结果与讨论

2.1 吸附剂的选择

丙烯酰胺是一种极性化合物,文献中提到有很多种填料都可以用于食品中的丙烯酰胺的萃取^[11-13]。为此我们考察了石墨化碳、活性炭、键合了 C18 的硅胶和聚苯乙烯-二乙烯基苯 4 种填料对 10 mL 0.4 mg/L 丙烯酰胺的吸附情况。结果表明反相机制吸附剂(C18 和聚苯乙烯-二乙烯基苯)以及表面光滑的石墨化碳^[14]对丙烯酰胺的保留能力较弱。活性炭的多孔结构使其具有很大的比表面积,能够完全吸附丙烯酰胺,是一种理想的吸附剂。

2.2 萃取条件的考察

2.2.1 洗脱剂种类

丙烯酰胺极性较强,一般采用水或者极性强的有机物进行洗脱。通过比较 10 mL 的乙醇、水、甲醇-水(50:50, v/v)和甲醇 4 种溶剂对丙烯酰胺的洗脱效果,发现前 3 种溶剂不能将吸附在活性炭中的丙烯酰胺完全洗脱下来,甲醇对丙烯酰胺的洗脱能力最强,回收率可以达到 100%,故选择甲醇作为最佳洗脱溶剂。

2.2.2 洗脱剂体积

分别考察了 5、10、15、20 mL 的甲醇对丙烯酰胺的萃取回收率,结果表明采用 5 mL 甲醇洗脱时的回收率仅为 79.9%,采用 10 mL 及以上体积的甲醇洗脱时可将丙烯酰胺完全洗脱下来。由于洗脱剂体积增大,吹干所用时间增加,引起杂质峰增多并影响样品的稳定性,因此选择 10 mL 甲醇为最佳洗脱剂用量。

2.2.3 洗脱速率

考察了 1.5、3、9 mL/min 3 个速率对丙烯酰胺的洗脱效果,回收率分别为 98.7%、84.7% 和 41.1%。表明洗脱速率的大小对回收率影响较大,当洗脱速率过快,会造成洗脱不完全,影响萃取效果和回收率。为了使吸附在膜上的丙烯酰胺完全洗脱下来,洗脱速率应严格控制在 1.5 mL/min 左右。

2.2.4 穿透体积

在分析低浓度的水样时,为了满足检测灵敏度,需要萃取大体积水样中的待测物。当上样超过一定体积后,由于化合物保留因子的限制,最初富集在吸附剂上的化合物被洗脱下来,导致回收率下降。分别在 100、250、500、750、1 000 mL 蒸馏水中加入丙烯酰胺 $0.25\ \mu\text{g}$,经过膜萃取后测定回收率。根据

图 1 结果,上样体积大于 500 mL 时回收率开始下降,表明活性炭 SPE 膜对丙烯酰胺的穿透体积为 500 mL。

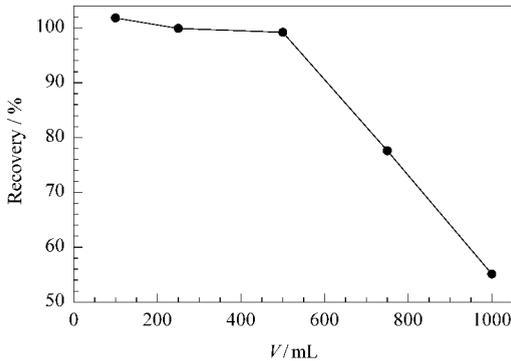


图 1 水中丙烯酰胺在活性炭 SPE 膜上的穿透体积
Fig. 1 Breakthrough volume of acrylamide via the active carbon SPE disk

2.2.5 膜使用次数

活性炭吸附的选择性弱,大体积样品通过 SPE 膜后,存在不被甲醇洗脱而残留在膜中的杂质。它们一方面占据活性炭吸附位点,另一方面堵塞膜孔道。实验中发现膜重复使用一次后回收率降为 63.8%,重复使用两次后降为 24.6%。因此测试过程中 SPE 膜不宜重复使用。活性炭的再生方法复杂^[15],通过甲醇、水简单淋洗并不能恢复其吸附能力,因此回收率也未得到提高。如何对活性炭 SPE 膜再生处理,将在后续工作中进行研究。

2.3 活性炭 SPE 膜的吸附能力

由 1 g/L 丙烯酰胺母液配制成 10 mL 含有 0.001 ~ 5 mg 丙烯酰胺的样品溶液,上样活性炭 SPE 膜,收集流出液。根据流出液和上样液中丙烯酰胺含量比值计算渗漏率,结果见表 1。当丙烯酰胺的含量小于 0.005 mg 时,丙烯酰胺完全保留在

表 1 活性炭 SPE 膜对丙烯酰胺的吸附量

Table 1 Adsorption capacity of active carbon SPE disk for acrylamide

Acrylamide content ¹⁾ /mg		Breakthrough ratio ²⁾ /%
Original sample	Effluent	
0.001	0	0
0.004	0	0
0.005	0	0
0.01	0.0002	2.0
0.05	0.0017	3.4
0.3	0.015	5.0
1	0.062	6.2
1.25	0.14	11.2
2	0.34	17.0
5	1.00	20.0

1) sample volume : 10 mL. 2) breakthrough ratio : the ratio between the content in effluent and the content in original sample.

SPE 膜中;当含量大于 0.01 mg 时,随着丙烯酰胺含量的增加,渗漏率逐渐增大。此时膜中活性炭的吸附位点已经饱和,未被保留的丙烯酰胺直接渗漏出来。

2.4 色谱条件的选择

自来水中成分复杂,经过 SPE 膜萃取后,有较多杂质被富集在膜上,并与丙烯酰胺同时洗脱下来。因此需要选择一种合适的色谱条件,使得丙烯酰胺与这些难以分离的杂质有效分离,从而能够对丙烯酰胺进行定性和定量分析。通过考察流动相的比例和流速对分离的影响,选择流动相为甲醇-水(5:95, v/v),流速为 0.5 mL/min 的色谱条件为分离检测丙烯酰胺的最佳色谱条件。在此条件下自来水加标样品的色谱图见图 2。

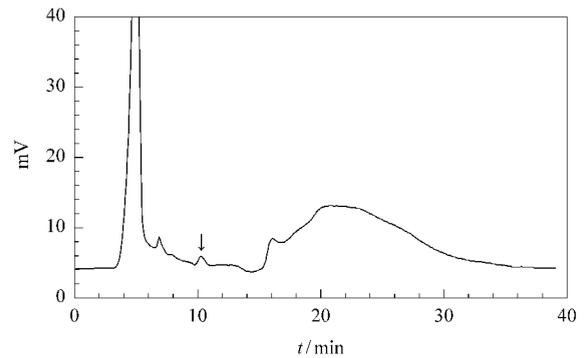


图 2 自来水添加丙烯酰胺标准样品的 HPLC 谱图
(加标量 0.5 μg/L)

Fig. 2 Chromatogram of tap water spiked with acrylamide (spiking level of 0.5 μg/L)

Conditions: mobile phase, methanol-water (5:95, v/v); flow rate, 0.5 mL/min; detection wavelength, 210 nm; injection volume, 20 μL.

2.5 标准曲线、线性范围和检出限

将 1 g/L 的丙烯酰胺储备液稀释成不同浓度的丙烯酰胺溶液,经过活性炭 SPE 膜萃取,HPLC 检测处理前后的样品。结果表明丙烯酰胺在 0.05 ~ 0.5 mg/L 质量浓度范围内,峰面积 y 与质量浓度 x (mg/L) 呈良好的线性关系,线性回归方程为 $y = 23796x + 1167$,相关系数 0.998。当超过此浓度范围,活性炭对丙烯酰胺的吸附达到饱和,致使回收率下降,偏离线性回归曲线。以仪器信噪比(S/N)为 3 时所对应的标准溶液浓度为仪器检出限,根据前处理方法的富集倍数(500 倍)计算方法的检出限为 20 ng/L。

2.6 方法回收率和精密度

将 10 mL 低(0.1 mg/L)、中(0.25 mg/L)、高(0.4 mg/L) 3 个质量浓度水平(小体积)和 500 mL 0.5 μg/L(大体积)的丙烯酰胺溶液,在最佳萃取条

件下平行测定 3 组。由表 2 可以看出,不同浓度、不同体积的丙烯酰胺溶液经过膜萃取,均可达到较高的回收率。对于大体积的样品,该方法具有更好的重现性。当丙烯酰胺加标浓度为 $0.5 \mu\text{g/L}$,自来水样体积为 500 mL 时,实际样品的加标回收率达到 79.96%。

表 2 不同浓度、不同体积的丙烯酰胺溶液中丙烯酰胺的回收率和精密度

Table 2 Recoveries and relative standard deviations (RSDs) of acrylamide in acrylamide solutions with different mass concentrations and different volumes

ρ (Acrylamide) / (mg/L)	Recovery/%				RSD/%
	1	2	3	Average	
0.1 ¹⁾	92.76	92.70	96.90	94.12	2.56
0.25 ¹⁾	91.07	97.10	99.46	95.88	4.51
0.4 ¹⁾	93.56	98.74	99.51	97.27	3.33
0.0005 ²⁾	102.6	98.8	99.2	100.2	2.09

1) small-volume sample, 10 mL; 2) large-volume sample, 500 mL.

2.7 自来水中丙烯酰胺的测定

取某地方的自来水样品 500 mL,经过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后,经活性炭 SPE 膜萃取,测定水中丙烯酰胺的含量,平行测定 3 次。3 次取样测得丙烯酰胺的质量浓度分别为 0.20 、 0.24 、 $0.25 \mu\text{g/L}$,平均值为 $0.23 \mu\text{g/L}$,低于 WHO 标准规定的 $0.5 \mu\text{g/L}$,说明自来水中丙烯酰胺的含量达标。自来水样品的色谱图见图 3。

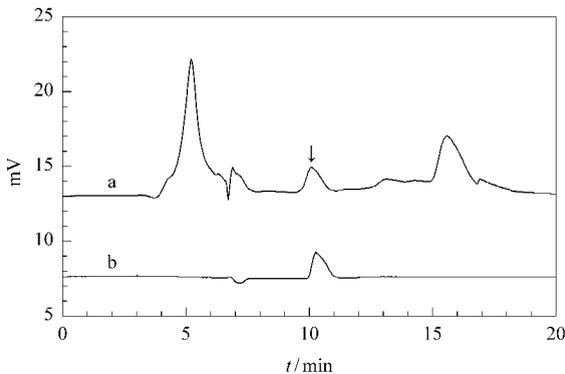


图 3 (a)大体积(500 mL)丙烯酰胺溶液经膜萃取后与 (b)标准品的色谱图

Fig. 3 Chromatograms of (a) acrylamide solution with large-volume (500 mL) extracted by SPE disk and (b) acrylamide standard

3 结语

采用活性炭 SPE 膜技术,对水中微量的丙烯酰胺进行了萃取和富集。丙烯酰胺被富集 500 倍后,利用 HPLC 的分离技术完成其定性和定量,检出限达到 20 ng/L 。考察了吸附剂种类、洗脱剂种类和体积、洗脱速率、穿透体积对萃取结果和回收率的影响。实验结果表明该方法具有较好的准确性和精密度,适合水样中丙烯酰胺物质的测定。

参考文献:

- [1] World Health Organization (WHO). Guidelines for Drinking-Water Quality. 2nd ed. Geneva: WHO, 1993
- [2] Marín J M, Pozo Ó J, Sancho J V, et al. J Mass Spectrom, 2006, 41(8): 1041
- [3] Chu S G, Metcalfe C D. Anal Chem, 2007, 79(13): 5093
- [4] Cavalli S, Polesello S, Sacconi G. J Chromatogr A, 2004, 1039(1/2): 155
- [5] Shi Z, Li K M. Environmental Science & Technology (史箴, 李抗美. 环境科学与技术), 1998(4): 30
- [6] Zhu Y H, Li G R, Duan Y P, et al. Food Chem, 2008, 109(4): 899
- [7] Alpmann A, Morlock G. J Sep Sci, 2007, 31(1): 71
- [8] Tang T, Wang X, Wang H, et al. Environmental Monitoring and Forewarning (汤颀, 汪霄, 汪浩, 等. 环境监控与预警), 2009, 1(2): 22
- [9] Zhou Y H, Wu G P, Wang J. Chinese Journal of Chromatography (周亚红, 吴国平, 王军. 色谱), 2003, 21(2): 167
- [10] Jin B H, Xiao F, Chen B, et al. Chinese Journal of Analysis Laboratory (靳保辉, 肖锋, 陈波, 等. 分析实验室), 2009, 28(7): 99
- [11] Geng Z M, Jiang R, Chen M. J Food Compos Anal, 2008, 21(2): 178
- [12] Zhao R, Shao B, Zhao J, et al. Chinese Journal of Chromatography (赵榕, 邵兵, 赵婕, 等. 色谱), 2005, 23(3): 289
- [13] Rosén J, Nyman A, Hellenäs K E. J Chromatogr A, 2007, 1172(1): 19
- [14] Song S L, Li C J, Ma X D, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (宋淑玲, 李重九, 马晓东, 等. 分析化学), 2008, 36(11): 1526
- [15] Yue Z H, Zheng J T, Qu J W, et al. Applied Chemical Industry (岳宗豪, 郑经堂, 曲降伟, 等. 应用化工), 2009, 38(11): 1667