

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.00503

尼龙 6 纳米纤维膜固相膜萃取-高效液相色谱法 测定塑料瓶装矿泉水中双酚 A

吴淑燕¹ 许茜^{* 1 2} 陈天舒¹ 王敏¹ 殷雪琰¹ 张妮萍¹
申艳艳¹ 温作扬² 顾忠泽^{* 2}

¹(东南大学公共卫生学院,南京 210009) ²(东南大学生物电子学国家重点实验室,南京 210096)

摘 要 采用静电纺丝法制备尼龙 6 纳米纤维膜,结合固相膜萃取-高效液相色谱法测定了矿泉水中的双酚 A。对洗脱溶剂及其体积、进样速度、样品体积、样品 pH 值、尼龙 6 纳米纤维膜的用量、及其活化方式和使用次数等影响因素进行了研究。结果表明:10 mL 样品调至 pH 8.0 后,以 3 mL/min 流速通过 1.5 mg 尼龙 6 纳米纤维膜,300 μ L 甲醇即可将膜上吸附的双酚 A 完全洗脱,每张膜至少可重复使用 6 次。在此最优化条件下,方法的线性范围为 0.20 ~ 20.0 μ g/L;检出限为 0.15 μ g/L,膜内和膜间的相对标准偏差均小于 4.5% ($n=6$)。本方法应用于 6 种不同品牌的矿泉水中双酚 A 的分析测定,在 1.0 μ g/L 加标水平下,测得回收率为 95.0%,双酚 A 测得浓度低于 0.30 μ g/L。与固相萃取方法相比,本方法高效、环保,表明尼龙 6 纳米纤维膜是极具潜力的萃取介质。

关键词 尼龙 6 纳米纤维膜;固相膜萃取;双酚 A;矿泉水;高效液相色谱

1 引 言

双酚 A (Biphenol A, BPA) 具有雌激素样性质,能干扰人类和动物内分泌系统正常功能^[1]。作为生产聚碳酸酯塑料和环氧树脂的主要原料,BPA 广泛应用于食品包装材料及容器内壁涂料,可渗透、转移进入到食品及饮料中,对人类健康造成不容忽视的危害^[1,2]。

目前,BPA 的检测多见于环境样品^[3],在食品、饮料中的研究较少^[4]。对样品的预处理方法主要是液液萃取法(LLE)^[5]和固相柱萃取法(SPE)^[3,6,7]。固相柱萃取法的有机溶剂用量少于液-液萃取法,且操作简便、易于自动化^[8],是样品前处理的发展方向。但现有的萃取吸附材料尺寸多为微米级,萃取作用仅依靠材料表面密布的微孔及种类有限的活性基团,材料的化学成分和形貌特点限制其吸附效率和吸附容量。

近年来,以纳米纤维和纳米颗粒为代表的纳米材料引起人们的广泛关注。纳米材料的高比表面积可以提供数量巨大的作用位点,为高效分离、提取和富集奠定了基础。其中纳米纤维在材料制备和后续器件制作方面较颗粒和粉体材料简便易行^[9]。此外,纳米纤维极强的与其它物质的相互渗透力^[10],使其吸脱附性能更加优越,用极少量的纳米纤维即可很好地富集目标物,洗脱溶剂用量大为减少^[11];纳米纤维仅直径是纳米级的,长度是微米、毫米甚至于更长,极高的长径比,使其易于制成线、毡、膜等多种形态的制品,使用时更加灵活方便,而仍保留纳米材料的特性。

静电纺丝法(Electrospinning,电纺)是一种制备纳米纤维的有效方法。目前以电纺纳米纤维为固相萃取介质的研究正在起步阶段。Kang 等将纳米纤维制作成萃取小柱对目标物质进行提取富集^[11,12],这种填充纤维的固相萃取(Packed-fiber solid-phase extraction,PFSP),由于操作压力的限制,传质速度较慢,处理样品的体积受到限制(约 1 mL),不能充分利用并体现纳米纤维的优势。若将纳米纤维膜作为固相膜萃取介质,即可增大截面积,有效加快传质速度,从而可处理较大体积样品,提高富集倍数,方法的分析效能将显著提高。目前尚未见基于纳米纤维膜的固相膜萃取法的文献报道。

本研究以尼龙 6 制备电纺尼龙 6 纳米纤维膜,并自制了相应的固相膜萃取装置,建立了基于尼龙 6

2009-07-16 收稿;2009-09-11 接受

本文系国家自然科学基金(No. 50533030)及江苏省科技计划(No. BK2006509)资助项目

* E-mail: q_xu@163.com (Qian Xu); gu@seu.edu.cn (Zhongze Gu)

纳米纤维膜的固相膜萃取-高效液相色谱分析水样中 BPA 的方法,测定了塑料瓶装矿泉水中 BPA,并与文献中所用的固相萃取法进行了比较。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

LC-10AD 高效液相色谱仪,SPD10-Avp 紫外检测器(日本岛津公司);TL-9900 色谱工作站(北京泰立公司);78-1 型磁力加热搅拌器(上海南汇电讯器材厂);pHS-2C 型酸度计(上海伟业仪器厂);DW-P403-1AC 高压电源(天津东文高压电源厂);Hitachi S-3000N 扫描电镜(日本日立公司)。

甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司);丙酮、间甲苯酚、甲酸(分析纯,上海化学试剂厂);尼龙 6 原料($M_w 1.6 \times 10^4$,张家港港荣国际贸易有限公司);BPA(美国 Sigma 公司),以甲醇为溶剂配制浓度为 1.0 g/L 的 BPA 标准储备液,用二次蒸馏水逐步稀释成不同浓度的标准溶液,各标准溶液中甲醇浓度均低于 2.0% (V/V);6 种品牌的塑料瓶装矿泉水购于超市。

2.2 色谱条件

ODS 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, $5\mu\text{m}$, 美国 Dikma 公司);流动相:甲醇-水(60:40, V/V);流速:0.8 mL/min;检测波长:230 nm;进样量 20 μL ;柱温:30 $^\circ\text{C}$ 。

2.3 纳米纤维的制备

取尼龙 6 原料加入甲酸-间甲苯酚(6:4, V/V)混合溶剂,在室温下搅拌 12 h,配制成浓度为 30% (w/V)的尼龙 6 溶液。将溶液装入具不锈钢针头(喷针,直径 0.5 mm)的注射器中,调节溶液推进速度为 0.5 mL/h,进行静电纺丝,装置如图 1 所示。用导线连接喷针与高压电源的正极,距喷针 20 cm 处放置的铝箔(收集屏)连接电源负极。两极间施加 15 kV 电压时,静电力即可克服溶液液滴在喷针口 Taylor 锥的表面张力,形成射流,溶剂快速挥干、拉伸成纤维,落于收集屏上成纤维膜。电纺时间为 5 ~ 10 h,得到纤维膜厚度为 100 ~ 300 μm 。采用 Hitachi S-3000N 扫描电镜观察,如图 3A 所示,纤维表面光滑,直径为 100 ~ 300 nm。

2.4 样品处理

将纳米纤维膜裁剪成直径约 1.8 cm 的圆形膜,紧密固定在过滤器中,制成如图 2 所示的装置。以丙酮-水-甲醇-水(各 0.2 mL)的顺序对尼龙 6 纳米纤维膜洗涤活化;用注射器取 10 mL 水样以 3 mL/min 的速度通过纳米纤维膜,以 300 μL 甲醇洗脱目标物,将收集的洗脱液用 N_2 吹干,再以 50 μL 流动相溶解进样。

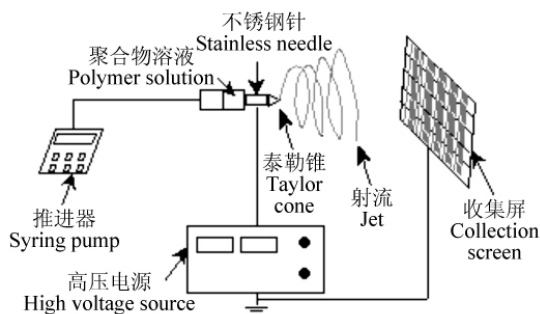


图 1 静电纺丝示意图

Fig. 1 Schematic diagram of electrospinning

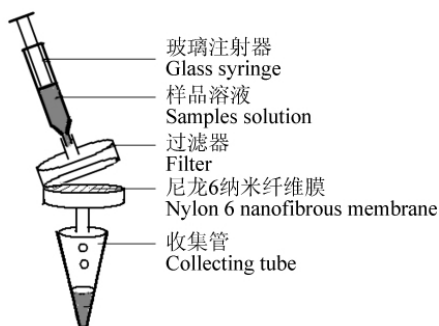


图 2 固相膜萃取装置图

Fig. 2 Solid-membrane extraction device

3 结果与讨论

3.1 实验条件优化

3.1.1 尼龙 6 纳米纤维的用量及重复使用 纳米纤维膜的用量对提取富集的效果影响很大,足够量的纳米纤维膜才能为目标物质提供充分的吸附位点,以保证富集效率。考察了 0.5 ~ 3.0 mg 纳米纤维膜对双酚 A 的富集效果。当纳米纤维膜质量从 0.5 mg 增至 1.5 mg 时,萃取效率明显增加;但继续增加纤

维质量,回收率无明显增加。故选用1.5 mg 纳米纤维膜进行富集。实验表明,每片膜至少可重复使用6次而回收率保持一致($RSD = 3.2\%$)。

3.1.2 pH 值 样品的pH值对BPA的存在状态和尼龙6纳米纤维膜的稳定性均有影响。当pH值较高时,BPA主要以离子状态存在,其极性增大,不利于与尼龙6纳米纤维的疏水性亚甲基形成分子间作用而导致富集效率降低;反之,当BPA以分子形式存在时,极性低,利于提高富集效率。另一方面,尼龙6纳米纤维膜含有的酰胺基在 $pH \leq 3$ 时可部分质子化,纤维的结构和形貌即随之发生变化(如图3B),影响萃取效率。本研究对pH 4~11的样品液中BPA的富集效率进行了考察,结果如图4所示,在pH=8时萃取效率最高。

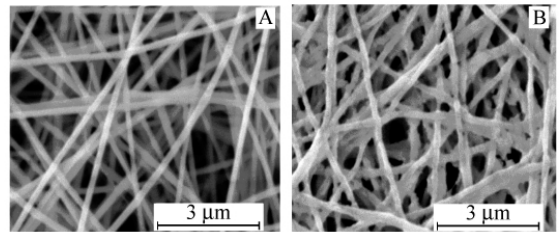


图3 尼龙6纳米纤维在pH 8(A)和pH 3(B)条件下电镜图

Fig. 3 Scanning electron microscope images of nylon 6 nanofibrous membrane: at pH 8(A); at pH 3(B)

3.1.3 上样速度 上样时,样品通过纳米纤维膜的速度过快,则目标物与纳米纤维接触时间短、结合力减弱而降低富集效率;速度慢则延长预处理时间,不利于提高工作效率。本研究考察了1~5 mL/min的进样速度

对富集效率的影响。过样速度由1 mL/min逐渐增加到3 mL/min时,富集效率有轻微下降但仍能获得满意的回收率($90.7\% \pm 2.1\%$, $n=3$);随速度继续增大,回收率明显下降。故进样速度选择3 mL/min。

3.1.4 洗脱剂及其体积 不同的洗脱溶剂对目标物质洗脱能力不同。本研究考察了0.1~0.5 mL的甲醇、乙腈、丙酮。结果表明,甲醇、乙腈洗脱能力相当,均优于丙酮,故选择价廉低毒的甲醇为洗脱剂;并以甲醇体积比分别为20%,50%,80%的甲醇-水混合溶液为洗脱剂进一步考察,结果表明,随着甲醇体积比的增大,回收率显著升高,纯甲醇洗脱时回收率最高,0.3 mL甲醇即可对完全洗脱BPA。

3.1.5 穿透体积 在固相膜萃取中,当样本的体积达到萃取穿透体积时,样本中的目标物浓度和萃取介质中的组分浓度达到平衡,样品富集倍数不再随萃取样品体积的增大而增加;样本体积超过萃取穿透体积,萃取效率大多会明显下降。考察了含BPA的水样在尼龙6纳米纤维膜的穿透体积,实验结果表明,样品体积为10 mL时萃取效率最高($94.6\% \pm 3.0\%$, $n=3$)。

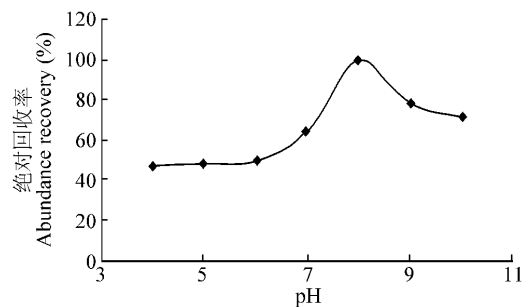


图4 不同pH值对富集效率的影响

Fig. 4 Effect of pH on the recovery of biphenol A (BPA)

3.2 方法学评价

在优化的萃取条件下,本方法在0.20~20.00 $\mu\text{g/L}$ 范围内呈线性关系($r = 0.9998$),检出限($S/N=3$)为0.15 $\mu\text{g/L}$;同一片膜连续使用和不同的膜间的相对标准偏差($n=6$)分别为3.1%,4.4%。在1.0 $\mu\text{g/L}$ 的加标水平下绝对回收率($n=6$)为 $95.0\% \pm 2.8\%$ 。

3.3 实际样品的测定

为考察本方法的适用性,对购自南京超市的6种不同品牌的塑料瓶装矿泉水样品中的BPA进行了检测,结果如表1所示。在6种样品中,3种品牌矿泉水有BPA检出,浓度分别为0.21,0.20和0.30 $\mu\text{g/L}$ 。色谱图见图5。

3.4 与文献方法的比较

本方法与饮料中的BPA检测的相关文献

[13~15]方法在固相萃取介质质量、有机溶剂用量、方法检出限、精密性、回收率等方面进行了比较,结

表1 实际样品检测结果

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

样品 Sample	测得值 Found ($\mu\text{g/L}$)	加标水平 Added level ($\mu\text{g/L}$)	回收率 Recovery	RSD (%, $n=3$)
1	ND	1.0	93.3	2.5
2	0.21	1.0	94.8	2.1
3	ND	1.0	93.8	2.3
4	0.20	1.0	95.1	2.4
5	0.30	1.0	94.2	2.7
6	ND	1.0	94.0	3.0

ND: Not detected.

果如表 2 所示。本研究以尼龙 6 纳米纤维膜进行固相膜萃取, 只需用极少的萃取介质, 就能实现良好富集, 有机溶剂用量也大大减少, 方法重现性、回收率与文献方法相当, 而检出限更低。本方法高效、经济, 符合“绿色化学”的发展趋势。

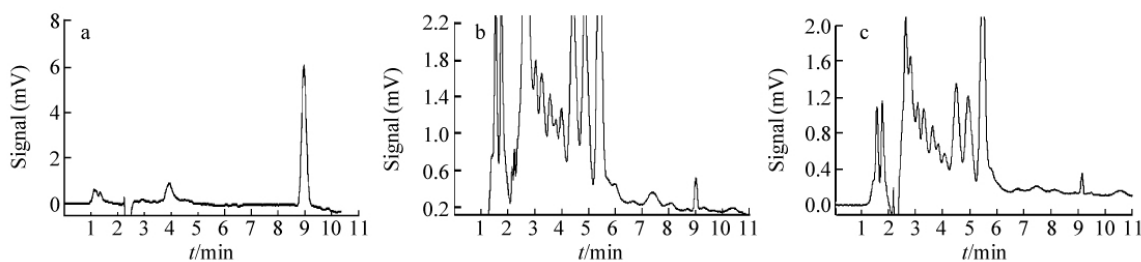


图 5 标准溶液(a)、加标 1.0 µg/L 样品(b)和样品(c)的色谱图

Fig. 5 Chromatograms of standard solution (a), sample spiked with 1.0 µg/L (b) and water sample (c) for BPA

表 2 与文献方法比较

Table 2 Comparison with other methods in literatures

萃取介质 Sorbents	萃取介质质量 Quality of sorbent (mg)		有机溶剂 Organic solvent (mL)		检出限 LOD (µg/L)		RSD (%)		回收率 Recovery (%)		文献 Literature
	本实验 Present method	文献值 Literature value	本实验 Present method	文献值 Literature value	本实验 Present method	文献值 Literature value	本实验 Present method	文献值 Literature value	本实验 Present method	文献值 Literature value	
OASIS-HLB		200		21		1.0		4.8		96.5	[13]
C ₁₈	1.5	500	1.0	21	0.15	1.2	4.43	3.7	94.9	95.8	[14]
Bamboo-charcoal		—		10		0.17		3.0		90.7	[15]

References

- Kavlock R J. *Chemosphere*, **1999**, 39(8): 1227 ~ 1236
- HU Xiang-Wei(胡向蔚), ZHANG Wen-De(张文德), LIU Yan-Qiao(刘炎桥). *Chinese J. Foods Science(食品科学)*, **2006**, 27(4): 264 ~ 266
- CHEN Su-Qing(陈素清), LIANG Hua-Ding(梁华定), HUANG Wei-Ya(黄微雅), HAN De-Man(韩德满), WANG Xi-Mei(王习梅). *Chinese J. Anal. Chem.(分析化学)*, **2008**, 36(7): 959 ~ 963
- MIAO Jia-Zheng(缪佳铮), XUE Ming(薛鸣), ZHANG Hong(张虹). *Chinese J. Anal. Chem.(分析化学)*, **2009**, 37(6): 911 ~ 914
- ZHOU Jian-Ke(周建科), ZHANG Qian-Li(张前莉), HAN Kang(韩康), ZHANG Li(张立), ZHAO Fei-Bao(赵飞宝). *Chinese Journal of Science and Technology of Food Industry(食品工业科技)*, **2007**, 28(2): 233 ~ 234
- Cao X L, Corriveau J, Popovic S, Clement G, Beraldin F, Dufresne G. *Agric. Food Chem.*, **2009**, 57(12): 5345 ~ 5351
- Grumetto L, Montesano D, Seccia S, Alriizio S, Barbato F. *Agric. Food Chem.*, **2008**, 56(22): 10633 ~ 10637
- McDowall R D. *J. Chromatogr. B*, **1989**, 492(6): 3 ~ 58
- Lu P, Ding B. *Recent Pat Nanotechnol*, **2008**, 2(3): 169 ~ 182
- Gibson P, Schreuder-Gibson H, Rivin D. *Colloids and Surface A-Physicochemical and Engineering Aspects*, 2nd Ed., Princeton: Characterization of Porous Materials, **2001**, 187: 469 ~ 481
- Kang X J, Pan C, Xu Q, Yao Y F, Wang Y, Qi D J, Gu Z Z. *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 587(1): 75 ~ 81
- Qi D J, Kang X J, Chen L Q, Zhang Y Y, Wei H M, Gu Z Z. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2008**, 390(3): 929 ~ 938
- HAN Hao(韩灏), SHAO Bing(邵兵), MA Ya-Lu(马亚鲁), WU Guo-Hua(吴国华), ZHAO Ying(薛颖). *Chinese Journal of Chromatography(色谱)*, **2005**, 23(4): 362 ~ 365
- WANG Xiao-Dong(王晓东), ZHAO Xin-Hua(赵新华), ZHANG Xin-Bo(张新波), LI Hong-Xia(李红霞), XUE Yan(薛岩). *Chinese Journal of Analysis Laboratory(分析实验室)*, **2006**, 25(9): 27 ~ 29
- Zhao R S, Wang X, Yuan J P, Zhang L L. *Microchim. Acta*, **2009**, 165: 443 ~ 447

Determination of Bisphenol A in Plastic Bottled Drinking Water by High Performance Liquid Chromatography with Solid-membrane Extraction Based on Electrospun Nylon 6 Nanofibrous Membrane

WU Shu-Yan¹, XU Qian^{1,2}, CHEN Tian-Shu¹, WANG Min¹,
YIN Xue-Yan¹, ZHANG Ni-Ping, SHEN Yan-Yan, WEN Zuo-Yang², GU Zhong-Ze²

¹(School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009)

²(State Key Laboratory of Bioelectronics, Southeast University, Nanjing 210096)

Abstract Electrospun nylon 6 nanofibrous membrane based on solid membrane extraction-high performance liquid chromatography (SME-HPLC) for the determination of bisphenol A (BPA) in plastic bottled drinking water was performed. Important parameters that effect extraction efficiency such as eluting agent and its volume, flow rate of sample, sample volume, pH value of sample, quality of the membrane, the form of activation and the repeatedly employing of this membrane were optimized. Results indicated that 10 mL of water sample volume with pH value of 8.0 passed through nylon 6 nanofibrous membrane (1.5 mg) at flow rate of 3.0 mL/min; and only 300 μ L eluent (methanol) was used. Each piece of this membrane would be used at least 6 times. Under the optimized conditions, an excellent linear relationship in the range of 0.2 – 20 μ g/L with correlation coefficients of determination(r) 0.9998 was obtained, the limits of detection (LOD) about BPA was 0.15 μ g/L. The repeatabilities (RSD) intra-membrane and inter-membrane with nylon 6 nanofibrous membrane were all below 4.5% ($n=6$). The proposed method has been applied to the analysis of plastic bottled purified water of six different brands. Satisfactory spiked recoveries of 94.95% were obtained. BPA was lower than 0.30 μ g/L. A comparison among the SME using nylon 6 nanofibrous membrane and other kinds of SPE sorbents used in literatures was carried out. All the results indicated that the nylon 6 nanofibrous membrane has great potential as a novel material for the enrichment and determination of BPA in water sample.

Keywords Nylon 6 nanofibrous membrane; Solid-membrane extraction; Biphenol A; Plastic bottled Drinking water; High performance liquid chromatography

(Received 16 July 2009; accepted 11 September 2009)

《化学发光免疫分析》

化学发光免疫分析结合了化学发光的高灵敏度和免疫分析的高选择性,在临床检验、药物分析、环境检测等领域得到比较广泛的应用。全书分两部分:1~9章介绍化学发光免疫分析的新方法和基础理论研究;10~18章介绍化学发光免疫分析的应用和新进展,主要针对临床检测、环境分析以及食品安全的应用领域。第19章简要介绍了分析过程的质量管理与控制。附录收集了常用化学发光免疫分析方法、试剂盒,以及相关专业术语的中英文对照。

该书由清华大学林金明、赵利霞、王 栩主编。作者以丰富的科研实践经验编著而成,具有较强的实用性,可作为临床分析、环境监测、检验检疫、食品卫生等部门的科研人员和分析工作者参考,也可作为大专院校和科研院所相关专业师生的教学用书。

该书由化学工业出版社出版,定价68.00元。