



固定化离子液体固相萃取-电化学联用测定痕量双酚 A

黄良樑¹ 黄燕¹ 陈言凯^{1,2} 丁云花¹ 张伟峰¹ 李小晶³ 吴晓莘^{* 1}

¹(食品安全分析与检测技术教育部重点实验室;福州大学化学学院,福州 350108)

²(福建省产品质量检验研究院,福州 350002)

³(福建出入境检验检疫局技术中心,福州 350001)

摘要 以咪唑改性的苯乙烯型大孔树脂填料制备固相萃取小柱,进行固定化离子液体固相萃取,结合 β -环糊精修饰离子液体碳糊电极,发展痕量双酚 A 的电化学联用快速检测技术。实验优化影响萃取效率的因素,获得最佳萃取条件(萃取填料用量 0.4 g,样品体积 200 mL,上样液 pH 7.0,5 mL 甲醇为洗脱溶剂,萃取流速 4.5 mL/min)。测得固定化离子液体树脂对双酚 A 的最大吸附容量为 10.1 mg/g,富集倍数为 40 倍。双酚 A 的浓度线性范围在 2.3 ~ 228 $\mu\text{g/L}$,检出限为 0.95 $\mu\text{g/L}$ 。联用方法灵敏、实用性强,用于实际样品中双酚 A 分析,结果与 HPLC 方法一致。

关键词 固定化离子液体;固相萃取;离子液体碳糊电极;双酚 A;电化学检测

1 引言

双酚 A (Bisphenol A, BPA) 是合成聚碳酸酯、环氧树脂等材料的主要原料,广泛用于制造食品饮料包装、塑料(奶)瓶和医用品等。它是一种具有雌激素样活性的内分泌干扰物质,长期暴露将导致动物胚胎毒性和致畸性,安全性问题备受国际关注,各国已陆续禁止或限制含双酚 A 制品的生产与使用。BPA 在环境中浓度低^[1],基质复杂,建立高效富集检测方法对于其污染监控十分必要^[2]。

目前,双酚 A 的分析主要采用色谱法^[3],包括高效液相色谱(HPLC)^[4-5]、液相色谱-质谱联用、气相色谱-质谱联用^[6]以及毛细管电泳等,这些方法选择性好,但样品预处理复杂费时,分析成本高,限制了其应用。目前传感器技术广泛应用于物质的快速检测,纳米材料、分子印迹聚合物和生物活性物质均被用于构建 BPA 的电化学、化学发光等传感器^[2],特异性强、灵敏、便携;不过,多数传感器难以重复使用^[7],有时基质效应对样品测定影响较大,实际应用很少。本研究组基于咪唑离子液体与 β -环糊精(β -CD)特性,研制 BPA 的 β -CD 修饰离子液体碳糊电极,在重现性、稳定性和重复使用性等方面具备明显的实用性^[8]。样品预处理是决定 BPA 分析速度和准确性的主要环节。目前广泛使用的固相萃取(SPE)技术^[9]操作方便、净化效果好,但常用的 C_{18} 填料对 BPA 缺乏特异性,而分子印迹聚合物印迹容量和传质效率偏低,在水环境的识别力有限^[10]。新型萃取材料是实现 BPA 特异性和高效富集的关键。

固定化离子液体(Supported ionic liquids, SILs)是将离子液体通过吸附、包埋或者键合等方法,固定在固体载体表面,既结合了固相载体材料的物化性质,又保持了离子液体蒸气压小、溶解性优异、可设计等特性^[11],固定化后离子液体比表面积增加,稳定性增强。SILs 自 2009 年报道以来^[12]就被视为可替代传统固相萃取吸附剂^[13],提高了 HPLC 联用分析的选择性与提取性能,还避免了离子液体流失与有机溶剂毒性^[14]。相对于其它固相萃取材料,SILs 聚合物还具有柱容量高、pH 稳定性好、制备简便、萃取选择性强等优点。研究指出^[15],咪唑类离子液体包含氢键位点、芳香环等功能团,可与苯酚、烷基酚发生多重相互作用,成功用于液相微萃取^[16,17]和固相微萃取^[18]。目前尚未见到 SILs 固相萃取富集 BPA 的报道。

本研究以咪唑改性的苯乙烯型大孔吸附树脂为填料,制备 SILs 固相萃取小柱富集双酚 A。结

2014-09-08 收稿;2014-11-29 接受

本文系国家自然科学基金(No. 21375019)、国家基础科学人才培养基金(No. J1103303)和福建省科技厅重点项目(No. 2011Y0038)、国家质检总局科技计划项目(No. 2013IK103)资助

* E-mail: wapple@fzu.edu.cn

合 β -CD 修饰离子液体碳糊电极^[8], 建立 SILs-SPE 与电化学联用分析方法, 实现复杂样品中痕量 BPA 的快速测定。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

CHI660A 电化学工作站(上海辰华仪器有限公司); 三电极系统(β -环糊精修饰离子液体碳糊电极(β -CD/ILCPE)为工作电极、Ag/AgCl 为参比电极、铂丝为辅助电极); 氮气吹干仪(北京八方世纪科技有限公司); 扫描电镜(荷兰 Philips); 能谱分析系统(日本浩视公司); 超快速液相色谱仪(日本岛津公司); Milli-Q 超纯水系统。

双酚 A(Alfa Aesar 公司); 1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐(BMIMBF₄, Aladdin 公司); 石墨粉(Sigma 公司); β -环糊精(Aladdin 公司); 其它试剂均为分析纯以上; 实验室用水皆为超纯水(18.2 M Ω ·cm)。0.01 mol/L BPA 标准储备液由无水甲醇配制, 每次测定时, 用超纯水稀释至所需浓度; 0.1 mol/L 醋酸盐缓冲液(pH 5.5)由 CH₃COOK 和 CH₃COOH 配制。溶液均避光 4 °C 保存。

甲基咪唑改性的苯乙烯型大孔吸附树脂(SILs)由中国科学院长春应用化学研究所提供^[19], 结构图和 SEM 图(图 1)表明, 树脂平均粒径约 500 μ m, 表面有大量孔穴。能谱分析显示复合材料主要含 C, N, O 元素, 其中 N 为 2.98% (w/w), 甲基咪唑氯盐含量约为 12.5 mg/g。

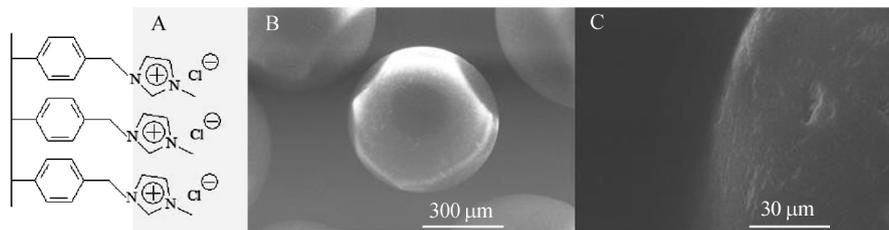


图 1 固定化离子液体树脂的结构简图(A)和 SEM 图(B, C)

Fig. 1 Structure diagram (A) and SEM image (B, C) of supported ionic liquids

2.2 实验方法

2.2.1 固相萃取小柱的制备及萃取流程 准确称取适量 SILs 树脂, 均匀填装在底部垫有筛板的聚丙烯固相萃取柱空管(3 mL)内。SPE 小柱每次使用前依次用 5 mL 甲醇和二次水活化和平衡。

萃取过程: 将 200 mL 样品溶液加入活化后的 SPE 柱使目标物保留; 用 5 mL 甲醇-水(10:90, V/V)淋洗萃取柱, 洗去杂质, 小柱氮吹至干; 以适量甲醇洗脱目标物, 收集洗脱液, 40 °C 下氮吹至近干, 加入 5 mL 醋酸盐缓冲溶液(pH 5.5) 即得预富集样品。

2.2.2 测定条件 (1) 电化学测定 采用前期研制的对 BPA 具有选择性识别与电催化作用的 β -CD/ILCPE 为工作电极, 制备方法参照文献[8]。电极使用前在称量纸上打磨抛光, 用二次水冲净。在 0.1 mol/L 醋酸盐缓冲液(pH 5.5) 中, 采用三电极体系, 于 0.2 ~ 1.0 V 范围对样品进行微分脉冲伏安法阳极化扫描, 富集电位 0.5 V, 富集时间 300 s, 扫描速度 20 mV/s。(2) 液相色谱紫外检测 XDB C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(70:30, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 °C; 检测波长: 280 nm。

2.2.3 样品采集处理 (1) 自来水 取实验室自来水, 0.22 μ m 微孔滤膜过滤后备用; (2) 闽江江水 在闽江福州城区段随机采集水样 1500 mL, 用 0.22 μ m 微孔滤膜过滤后备用; (3) 矿泉水瓶 将市售的聚丙烯矿泉水瓶洗净干燥, 剪成约 5 mm × 5 mm 的碎片, 称取 1.0 g, 常温下用 100 mL 甲醇超声提取 4 h, 提取液用氮吹至近干, 用甲醇定容至 5 mL, 避光备用。

3 结果与讨论

3.1 固相萃取条件的优化

3.1.1 固定化离子液体用量的影响 分别将不同质量的 SILs 树脂制备固相萃取柱用于 SPE, 图 2 表

明, SILs 填料用量对 BPA 的回收率有较大影响: 用量不足时, 目标物吸附不完全, 回收率低; 增大 SILs 填料用量, 使 BPA 回收率逐渐增加, 在 0.4 g 时达到最大; 之后回收率开始下降, 这是由于萃取剂用量过多使得 SPE 柱内压力升高, 同时对结构类似共存物质吸附增加, 导致与 BPA 的作用位点减少。

3.1.2 上样液 pH 值的影响 考察了 pH 4.0 ~ 10.0 范围内萃取小柱对 BPA 的吸附情况, 其回收率基本不变, pH 适用范围宽。BPA ($pK_a = 8.9$) 在 $pH < 8.9$ 时呈分子状态, 与 SILs 之间主要发生 $\pi-\pi$ 相互作用、氢键和疏水作用; 当 $pH > 8.9$ 时, BPA 发生解离, 但回收率没有增加, 可以推断 BPA 与萃取剂之间的静电作用及离子交换作用基本可以忽略。分析水样时, 中性条件下直接上样, SILs-SPE 柱借助上述作用, 对分子化的双酚 A 及其结构类似物产生非选择性富集, 排除样品基质以及 2,4-二硝基苯酚 ($pK_a = 4.1$) 等解离物质的干扰。

3.1.3 萃取流速的影响 实验表明, 萃取流速慢有利于对 BPA 的吸附和洗脱, 但过慢则影响萃取速度; 另一方面, 上样和洗脱流速的过度增加都会导致 BPA 回收率减小, 反映其在萃取剂上的作用不完全。如图 3, 萃取流速控制在 2.0 ~ 4.5 mL/min 范围, 可获得较高的 BPA 回收率; 以流速 4.5 mL/min

3.1.4 洗脱溶剂对洗脱效果的影响 分别对不同的洗脱溶剂(甲醇、乙醇、乙腈、丙酮、乙酸乙酯)进行实验优化, 采用甲醇和丙酮洗脱时 BPA 的回收率较高, 乙酸乙酯最低, 这与咪唑型离子液体易于溶解其中有关。为提高 SILs-SPE 柱的重复使用次数, 最大程度减少固定液流失造成的误差, 选择不与 SILs 互溶的甲醇作为洗脱溶剂。

研究了不同体积甲醇(1 ~ 15 mL) 对目标物洗脱效率的影响。随着洗脱溶剂体积增大, BPA 的回收率明显增加; 当洗脱溶剂体积增至 5 mL 时, 回收率已达最大值; 继续加大至 15 mL, 洗脱效率基本不变。

3.2 动态吸附实验

取不同浓度的 BPA 测试液 200 mL, 调节 $pH \approx 7$, 按 2.2 节依次进行富集、洗脱和微分脉冲伏安(DPV)测定, 测得萃取回收后溶液中 BPA 的平衡浓度 C_e (mol/L)。按式(1)求出 BPA 在萃取柱上的吸附容量 Q (mg/g)。

$$Q = VC_e M_r / m \quad (1)$$

其中, V 为 BPA 溶液体积 (mL); M_r 为 BPA 的摩尔分子质量 (g/mol); m 为吸附剂的质量 (g)。

图 4 显示, SILs 材料对 BPA 具有良好的吸附性能, 在温和的中性条件和室温下即可获得较高的吸附容量 ($Q_{max} = 10.1$ mg/g)。样品体积 200 mL, 最终洗脱液体积为 5 mL, 可知萃取柱对 BPA 的富集倍数为 40 倍, 萃取效率达到 89.3%。

3.3 萃取前后 BPA 的电化学响应对比

在 0.1 mol/L 醋酸盐缓冲溶液 ($pH 5.5$) 中, 分别对未经萃取的测试液以及经 SILs-SPE 萃取后的预富集溶液进行 DPV 扫描, 测定 BPA 在 0.67 V 电位处的氧化峰电流, 采用标准曲线法进行定量分析。

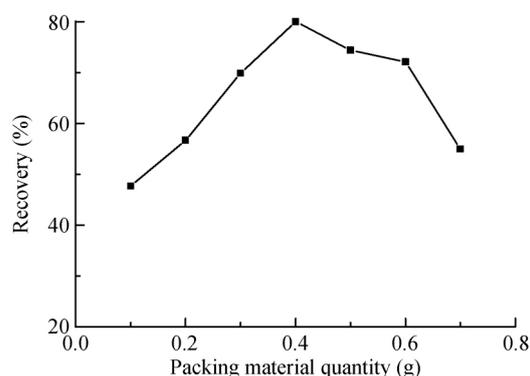


图2 萃取填料用量对 BPA 萃取效率的影响

Fig. 2 Effects of packing materials amount on extraction efficiency

填料 (Packing material): SILs 树脂 (Supported ionic liquid); 样品 (Sample): 200 mL of 0.1 $\mu\text{mol/L}$ BPA 溶液 (bisphenol A (BPA) solution); 洗脱液 (Eluent): 5 mL 甲醇 (Methanol); 萃取流速 (SPE flow rate): 4.0 mL/min.

进行上样、淋洗和洗脱, 可加快整个萃取过程。

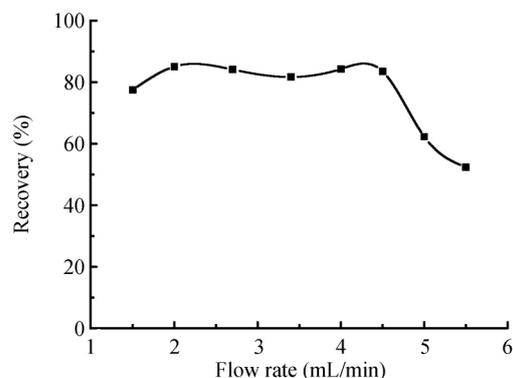


图3 萃取流速对 BPA 萃取效率的影响

Fig. 3 Effects of SPE flow rate on extraction efficiency

填料 (Packing): 0.4 g Supported ionic liquid resin (SILs) 树脂; 样品 (Sample): 200 mL 0.1 $\mu\text{mol/L}$ BPA 溶液 (BPA solution); 洗脱液 (Eluent): 5 mL 甲醇 (Methanol)。

萃取前后 DPV 对比图显示 经过 SPE 富集(图 5c) ,BPA 峰电流较富集前(图 5b) 增加了约 40 倍。

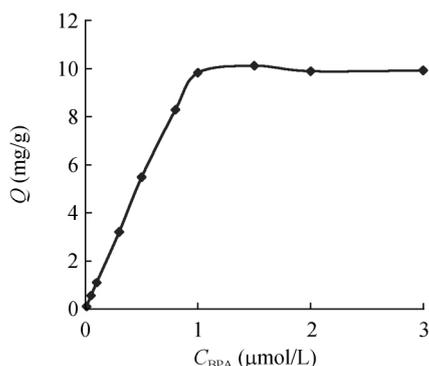


图 4 BPA 在固定化离子液体材料的吸附容量

Fig. 4 Adsorption capacity of bisphenol A in SILs material

填料(Packing): 0.4 g SILs 树脂(Supported ionic liquid); 样品(Sample): 200 mL 0.1 $\mu\text{mol/L}$ BPA 溶液(BPA solution); 洗脱液(Eluent): 5 mL 甲醇(Methanol); 萃取流速(SPE flow rate): 4.5 mL/min.

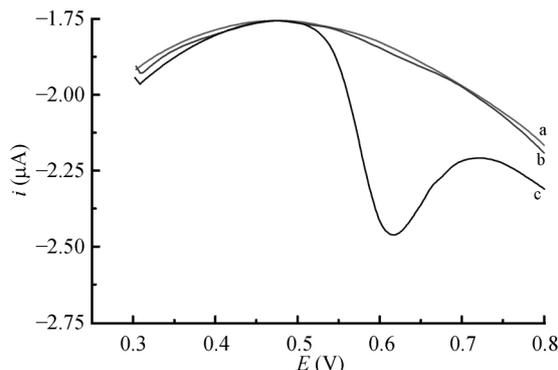


图 5 BPA 在 SPE 富集前后的 DPV 图

Fig. 5 Differential pulse voltammograms of bisphenol A a. 0.1 mol/L 醋酸盐缓冲溶液 (Acetate buffer solution , pH 5.5); b. 未经萃取的 0.75 $\mu\text{mol/L}$ BPA 待测液 (0.75 $\mu\text{mol/L}$ BPA solution; without extraction); c. 萃取后的 BPA 富集液(Concentrated solution of BPA; extraction by SPE) .

3.4 线性方程及检出限

在最优萃取条件下 ,对系列 BPA 标准溶液进行 SILs-SPE 富集和 DPV 测定(图 6) 。以峰电流 i_p 对 BPA 浓度 C 绘制标准曲线 ,二者在 $1.0 \times 10^{-8} - 1.0 \times 10^{-6}$ mol/L 范围内(2.3 ~ 228 $\mu\text{g/L}$) 呈良好的线性关系 ,线性方程为 $i_p(\mu\text{A}) = 0.6158C(\mu\text{mol/L}) - 0.0044$ ($R = 0.9994$) 。方法检测限 ($3S/N$) 为 4.16×10^{-9} mol/L (0.95 $\mu\text{g/L}$) 。对 10 份 0.10 $\mu\text{mol/L}$ 的 BPA 溶液进行萃取平行实验 ,平均回收率为 89.3% ,RSD=5.6% 。本方法的检出限和重现性均能满足痕量 BPA 污染检测需求。

3.5 共存物质干扰

在优化条件下 ,测试样品中可能的共存物对 BPA 测定的影响。以 0.05 $\mu\text{mol/L}$ BPA 萃取后的电化学响应为测定标准值 ,当相对误差小于 $\pm 5\%$ 时 ,发现存在 500 倍的 Na^+ 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 NO_3^- 、 Br^- 、 Zn^{2+} 、 F^- 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Fe^{3+} 30 倍的 2,4-二硝基苯酚、对苯二酚、间苯二酚 ,10 倍的苯酚、2-氯酚、2,4-二氯酚、辛基酚 ,不干扰 BPA 测定。本方法对 BPA 具有较好的选择性 ,这一方面由于 SILs-SPE 富集排除了主要的样品基质干扰; 同时 $\beta\text{-CD}/\text{ILCPE}$ 电化学测定时 ,极性较强的双酚 A 相对于其它结构类似酚类 ,更易被亲水性离子液体基于氢键、 $\pi\text{-}\pi$ 键、作用等非共价作用富集到电极表面 ,与 $\beta\text{-CD}$ 发生包合 ,实现选择性识别和响应增强^[5]。

3.6 实际样品分析

按照 2.6 节采集和处理样品 ,分别进行 SILs-SPE 提取富集和电化学测定(SILs-SPE-ED 法) ,采用 SPE-HPLC-UV 标准方法^[20] 进行对比实验(表 1) ,两种方法均未测出 BPA ,回收实验测得的 BPA 加标含量较为接近 ,在置信度为 95% 时 ,Paired t-test 结果 $P > 0.05$,显示方法间无显著性差异。SILs-SPE-ED 法测定快速、稳定、重现性好 ,测试成本低廉 ,更加适合复杂样品快速检测。

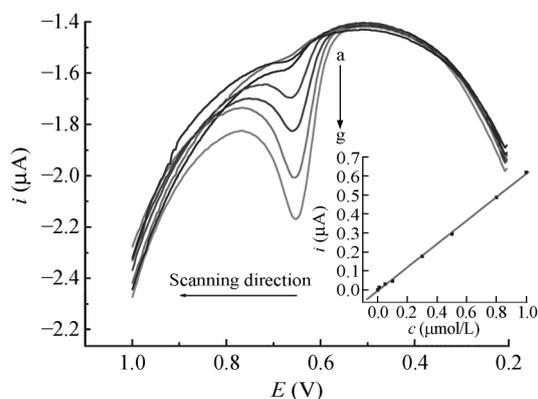


图 6 不同浓度 BPA 富集后的 DPV 图; 插图为 BPA 的标准曲线

Fig. 6 Differential pulse voltammograms of concentrated solution of BPA at different concentrations 最优测定条件(Optimal condition); BPA 原始浓度(Concentration of BPA; a-g): 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 。

表1 BPA 在实际样品中的加标回收率

Table 1 Recoveries of standard addition for BPA in samples

样品 Samples	添加浓度 Added (10^{-8} mol/L)	测得浓度 Found* (10^{-8} mol/L)		回收率 \pm RSD Recovery \pm RSD** (%)	
		SILs-SPE-ED	SPE-HPLC-UV	SILs-SPE-ED	SPE-HPLC-UV
自来水 Tap water	5.00	4.24	4.19	84.8 \pm 1.3	83.8 \pm 1.1
闽江水 Minjiang river water	5.00	4.35	4.34	87.0 \pm 1.3	86.8 \pm 1.2
PP 矿泉水瓶 Mineral water bottle	5.00	4.49	4.53	89.8 \pm 2.5	90.6 \pm 1.7

*. 相同条件下3份样品平均值(Average value measured for three samples under the same conditions); **. 3次重复测定的相对标准偏差(the relative standard deviation based on repeated measurement for three times)。

References

- Rubin B S. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **2011**, 127(1-2): 27-34
- Ragavan K V, Rastogi N K, Thakur M S. *TrAC-Trends Anal. Chem.*, **2013**, 52: 248-260
- Ballesteros-Gómez A, Rubio S, Pérez-Bendito D. *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216(3): 449-469
- TAN Xiao-Wang, WEI Rui-Ping, SONG Yan-Xi, YI Gu-Yang. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2012**, 40(9): 1409-1414
谭小旺, 魏瑞萍, 宋燕西, 易谷洋. *分析化学*, **2012**, 40(9): 1409-1414
- LI Yu, LIU Jian-Lin, WANG Xiao-Li, JIAN Ying-Hong, DONG De-Ming, LI Na. *Chem. J. Chinese Universities*, **2008**, 29(11): 1242-1248
李鱼, 刘建林, 王晓丽, 翦英红, 董德明, 黎娜. *高等学校化学学报*, **2008**, 29(11): 1242-1248
- LI Min-Jie, JIN Fen, YANG Li-Li, WU Ri-Na, SHAO Hua, JIN Mao-Jun, WANG Jing. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2014**, 42(9): 1288-1294
李敏洁, 金芬, 杨莉莉, 乌日娜, 邵华, 金茂俊, 王静. *分析化学*, **2014**, 42(9): 1288-1294
- Yang X Y, Kirsch J, Fergus J, Simonian A. *Electrochim. Acta*, **2013**, 94: 259-268
- Yu X W, Chen Y K, Chang L P, Zhou L, Tang F X, Wu X P. *Sens. Actuat. B*, **2013**, 186: 648-656
- Geng Y Y, Ding M Y, Chen H, Li H F, Lin J M. *Talanta*, **2012**, 89: 189-194
- Watabe Y, Kondo T, Morita M, Tanaka N, Haginaka J, Hosoya K. *J. Chromatogr. A*, **2004**, 1032(1-2): 45-49
- Sun P, Armstrong D W. *Anal. Chim. Acta*, **2010**, 661(1): 1-16
- Fontanals N, Ronka S, Borrull F, Trochimczuk A W, Marcé R M. *Talanta*, **2009**, 80(1): 250-256
- Fontanals N, Borrull F, Marcé R M. *TrAC-Trends Anal. Chem.*, **2012**, 41: 15-26
- Ruiz-Aceituno L, Sanz M L, Ramos L. *TrAC-Trends Anal. Chem.*, **2013**, 43: 121-145
- Yang Q W, Xing H B, Su B G, Bao Z B, Wang J, Yang Y W, Ren Q L. *AIChE J.*, **2013**, 59(5): 1657-1667
- Brinda Lakshmi A, Balasubramanian A, Venkatesan S. *CLEAN-Soil, Air, Water*, **2013**, 41(4): 349-355
- Zhou Q X, Gao Y Y, Xie G H. *Talanta*, **2011**, 85(3): 1598-1602
- Peng J F, Liu J F, Hu X L, Jiang G B. *J. Chromatogr. A*, **2007**, 1139(1): 165-170
- NIU Li, ZHANG Qi-Xiang, XU Xiao-Yu. *China. Patent*, 200710055629, **2007**
牛利, 张齐贤, 许晓宇. *中国专利*, 200710055629, **2007**
- GB/T 23296.16-2009, *Food Contact Materials-Polymer-Determination of 2,2-bis(4-Hydroxyphenyl) Propane(bisphenol A) in Food Simulants-High Performance Liquid Chromatography*. National Standards of the Peoples Republic of China
食品模拟物中2,2-二(4-羟基苯基)丙烷(双酚A)的测定 高效液相色谱法. 中华人民共和国国家标准. GB/T 23296.16-2009

