

MonoTrap™ 法分析 环境水样中雌激素

No.LC-046

摘要：建立了MonoTrap™法同时测定环境水样中双酚A(BPA)、雌二醇(E2)、雌酮(E1)和己烯雌酚(DES)的方法。20 mL环境水样经MonoTrap-DCC18富集纯化后使用高效液相色谱分析。四种环境雌激素在1.0~50.0 ng/mL的范围内，相关系数r大于0.99，方法检测限在0.05~0.20 ng/mL之间，回收率在89.6~117.3%之间。

关键词： MonoTrap™ 双酚A 雌二醇 雌酮 己烯雌酚

环境雌激素属于环境内分泌干扰物，进入动物或人体后，能对机体内正常内分泌物质的合成、释放、运转、代谢以及结合等产生干扰，从而破坏内分泌系统的调控作用。雌激素在较低浓度下，就能显示出极强的内分泌干扰作用。因此，建立具有简单、快速、灵敏度高的监测方法成为内分泌干扰物质研究领域中的一大课题。

MonoTrap™是以硅胶为母体的吸附剂，由于其硅胶担体的整体结构同时具有穿透孔和微孔，使得产品具有通透性高和吸附表面积大的特点。硅胶骨架内部含有吸附剂（活性炭），表面键合ODS基团。因此，MonoTrap™是结合大表面积、硅胶、活性炭、ODS特性的高交联新型吸附剂。

本文建立了MonoTrap™法测定环境水样中四种雌激素(图1)的方法，并对武汉东湖不同采样点雌激素的污染水平进行了检测。

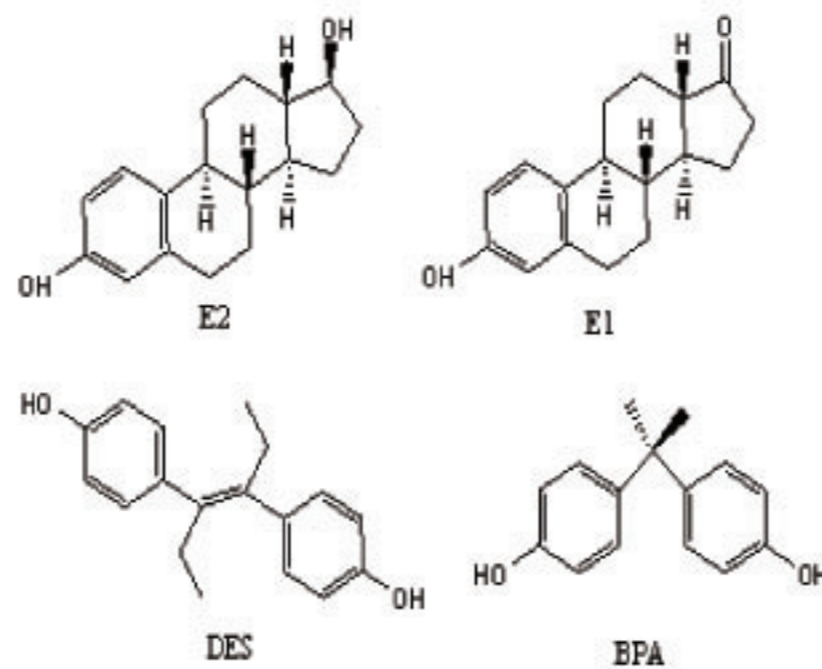


图1 四种环境雌激素结构图

实验部分

1、仪器

仪器：岛津Prominence LC-20A高效液相色谱仪系统。具体配置为LC-20AT输液泵（2台），DGU-20A₃在线脱气机，SIL-20A自动进样器，CTO-10Asp柱温箱，SPD-20A紫外可见检测器，CBM-20Alite控制器和LCsolution色谱工作站。

2、分析条件

流动相：乙腈/水 = 50/50 (v/v)

流速：1 mL/min

进样体积：20 μL

色谱柱：Inertsil ODS-4 (4.6 mm. × 150 mm, 5 μm)

柱温：40°C

检测波长：280 nm

3、标准品溶液的配制及样品前处理

储备液配制：分别称取双酚A、雌二醇、雌酮和己烯雌酚的标准品固体各10 mg，用乙腈定容至10 mL，配置成1 mg/mL的标准储备液。再用流动相稀释成相应浓度的混标溶液。

前处理步骤：量取20 mL的纯净水（加标至相应浓度）或环境水样，加入一片MonoTrap-DCC18萃取材料，在40 °C水浴180 rpm振荡120 min，取出MonoTrap圆盘，擦干后用0.1 mL乙腈解析，再加0.1 mL纯净水，混匀后经0.45 μm滤膜过滤后进样分析。

结果与讨论

1、雌激素标样的色谱图

100 ng/mL的四种环境雌激素标样的色谱图如图2所示。

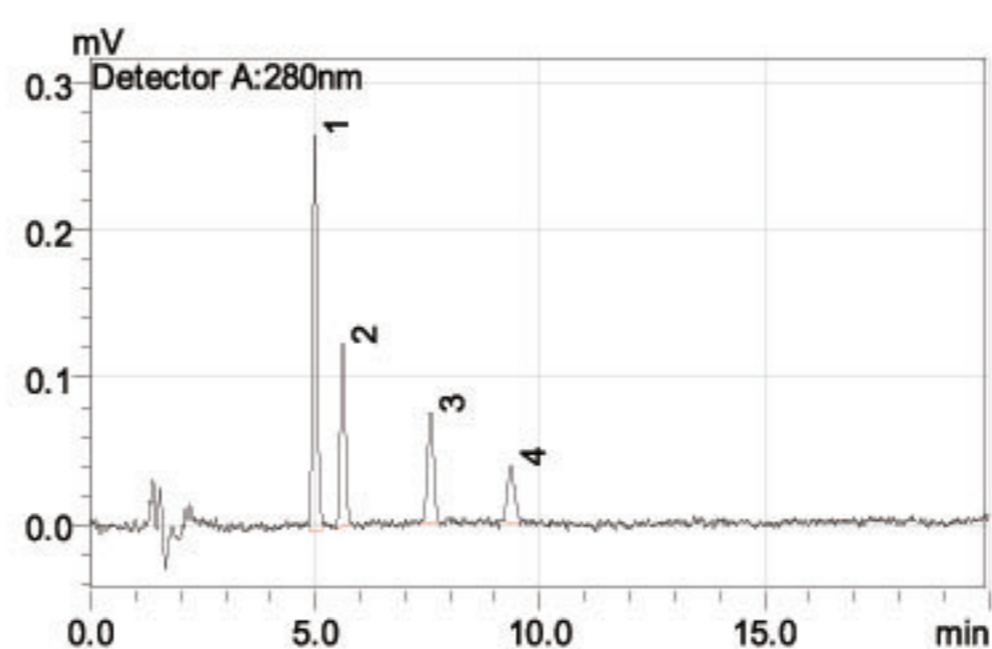


图2 混标溶液色谱图
(1-双酚A, 2-雌二醇, 3-雌酮, 4-己烯雌酚)

2、线性范围

在20 mL的纯净水中添加标样，使之浓度分别为1, 2, 5, 8, 10, 30, 50 μg/mL，按1.2中的前处理方法富集纯化后进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制工作曲线。结果表明：在此范围内，线性关系良好， R^2 均达到了0.99以上。图4为经前处理的纯净水加标10 ng/mL的色谱图，相比于混标溶液色谱图，灵敏度提高。

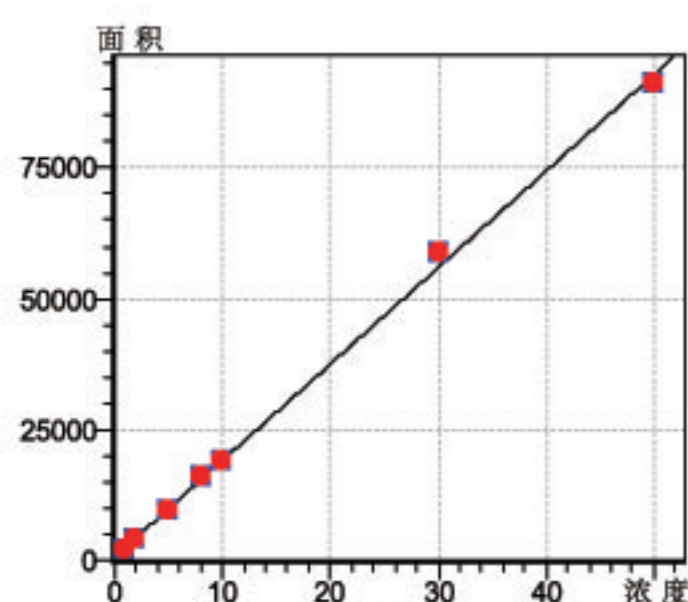


图3.1 双酚A标准曲线
 $Y = 1894X + 269$
 $R^2 = 0.9986$
 $R = 0.9992$

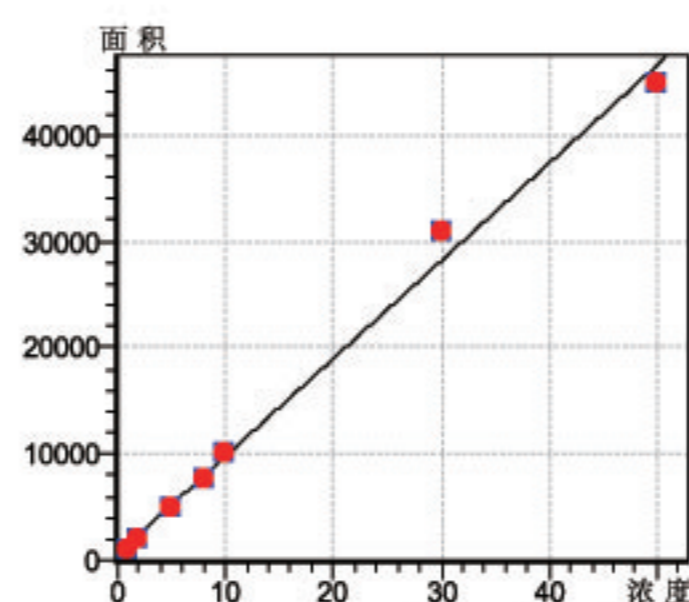


图3.2 雌二醇标准曲线
 $Y = 1001X + 118$
 $R^2 = 0.9937$
 $R = 0.9968$

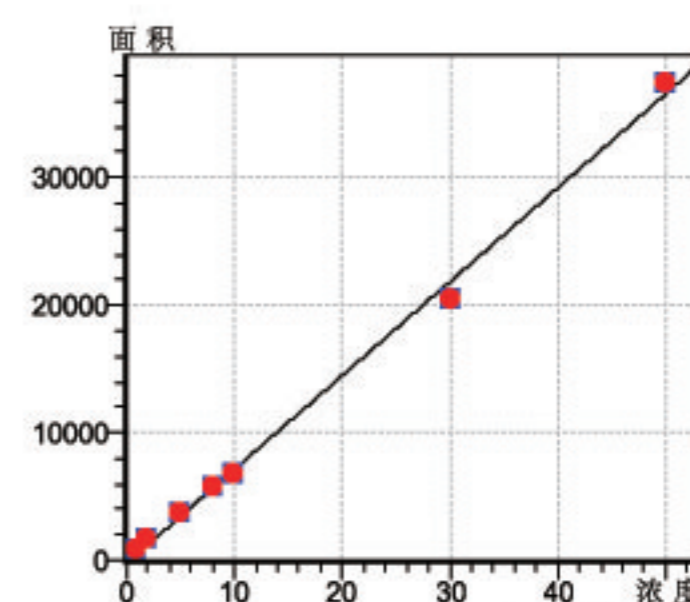


图3.3 雌酮标准曲线
 $Y = 748X + 44$
 $R^2 = 0.9970$
 $R = 0.9985$

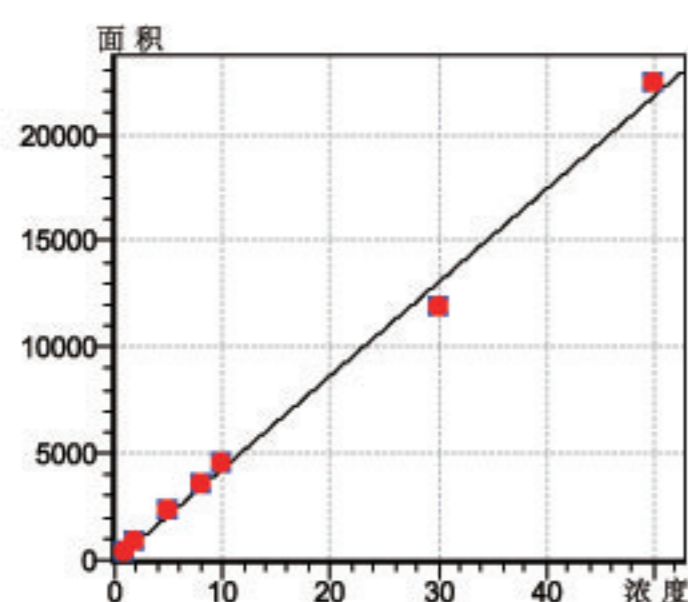


图3.4 己烯雌酚标准曲线
 $Y = 437X - 81$
 $R^2 = 0.9948$
 $R = 0.9974$

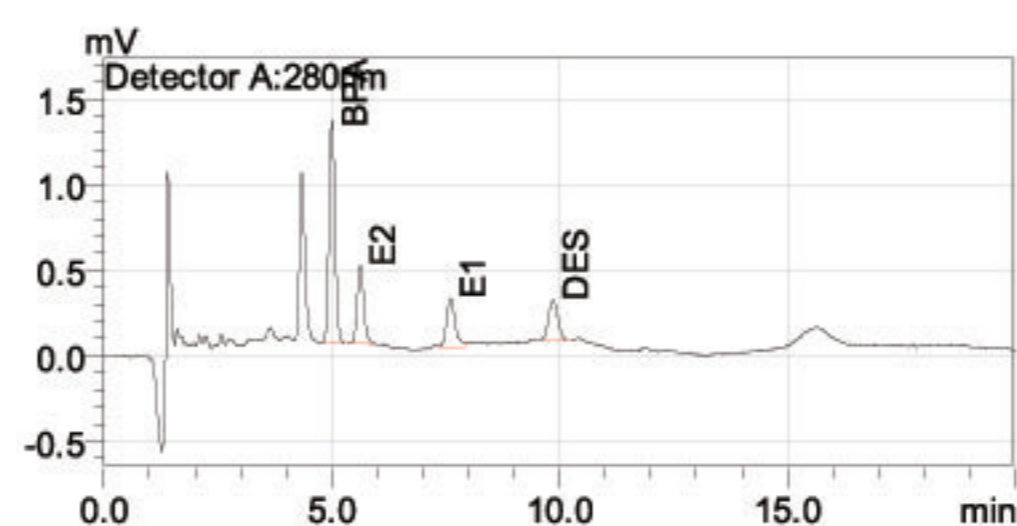


图4 纯净水加标10ng/mL的色谱图

3、精密度试验

为了考察该萃取方法的重现性，添加低、中、高三个浓度的雌激素至纯净水中进行萃取，以一天内配制的样品进行5次测定，计算日内相对标准偏差；以连续3天配制的样品进行测定，计算日间相对标准偏差，结果如表1所示，四种物质不同浓度的日内及日间精密度分别小于7.2%和9.8%。

表1 四种雌激素的精密度

化合物 (ng/mL)	精密度(% RSD)					
	日内精密度 (n=5)			日间精密度(n=3)		
	1	10	50	1	10	50
BPA	3.3	2.0	5.1	7.6	7.6	4.1
E2	2.1	5.6	4.2	6.3	8.6	4.4
E1	4.3	6.4	4.5	5.2	9.6	6.5
DES	1.9	7.2	4.5	3.6	9.8	4.6

4、准确度实验

在选定条件下对水样进行加标回收率测定，评价方法的准确度（见表2）。

表2 四种雌激素的回收率

化合物 (ng/mL)	回收率 (%)		
	1	10	50
BPA	117.3	105.6	94.1
E2	108.6	100.6	98.7
E1	101.7	98.4	104.1
DES	93.0	89.6	94.8

5、灵敏度实验

用HPLC分析纯净水添加四种雌激素（1, 2, 5, 8, 10, 30, 50 $\mu\text{g/mL}$ ）的溶液，各组分的检测限（S/N=3）及定量限（S/N=10）见表3。图5为加标浓度为1 ng/mL的样品色谱图。

表3 四种雌激素的检测限和定量限

化合物	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
BPA	0.05	0.17
E2	0.09	0.30
E1	0.17	0.56
DES	0.20	0.66

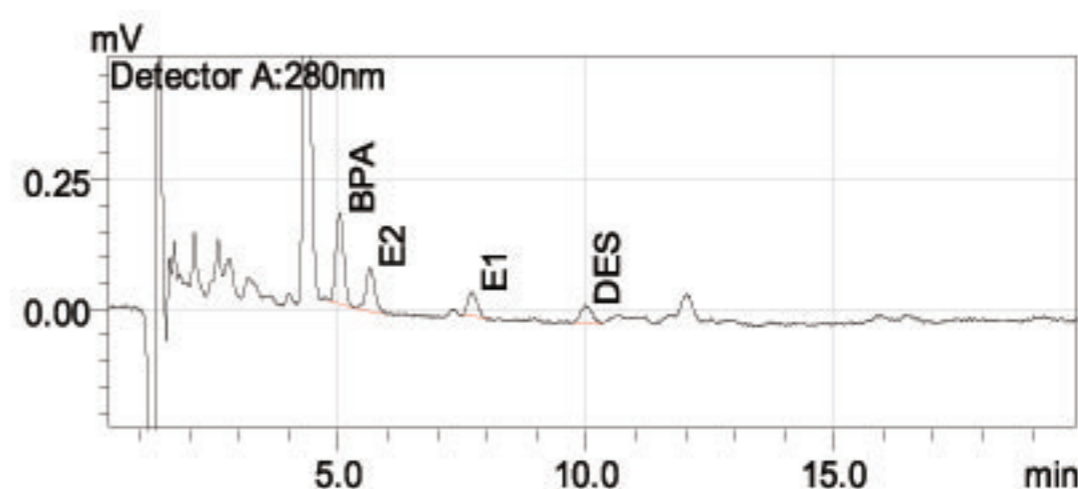


图5 加标浓度1ng/mL的样品色谱图

6、实际样品测试

按1.2样品前处理方法测试东湖不同采样点的水样，得到的结果如表4所示，色谱图见图4。

表4 实际水样检测结果

	水样 1 (ng/mL)	水样 2 (ng/mL)	水样 3 (ng/mL)
BPA	N.D.	N.D.	2.08
E2	N.D.	N.D.	N.D.
E1	0.76	N.D.	1.02
DES	N.D.	N.D.	N.D.

*N.D.: 未检出

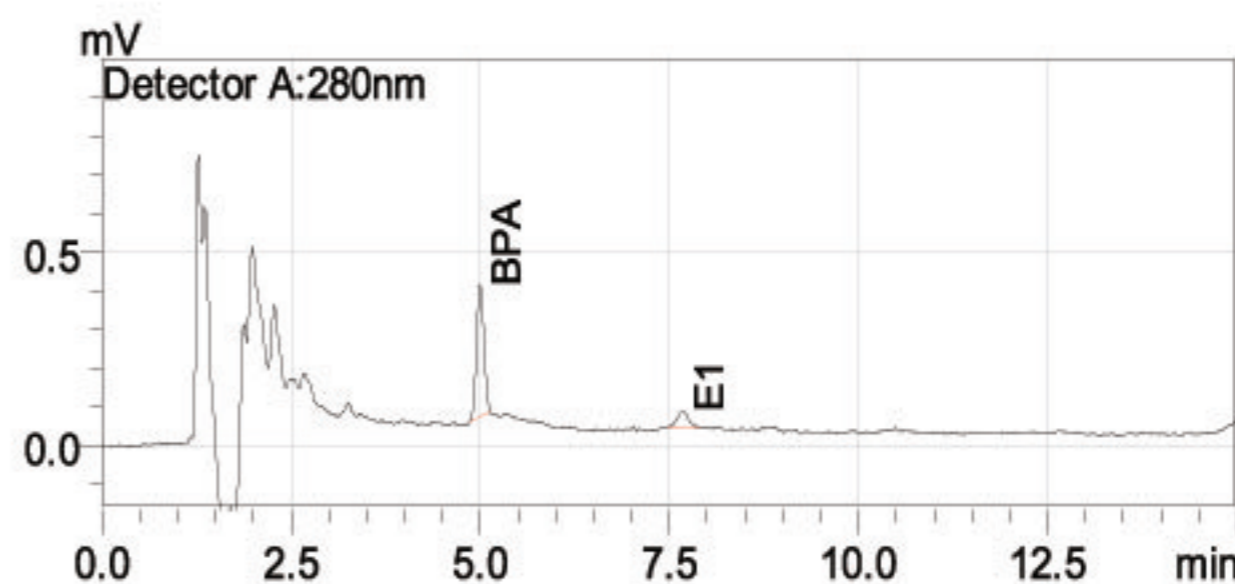


图6 东湖某处水样分析结果

结论

建立了MonoTrap™结合HPLC同时测定环境水样中四种雌激素的方法，该方法具有快速、准确、检出限低、可操作性强等优点，方法检测限在0.05~0.20 ng/mL之间，回收率在89.6~117.3%之间。