

顶空固相微萃取 - 气相色谱法测定尿中苯酚

王玉飞, 金米聪, 李继革

(浙江省宁波市疾病预防控制中心 宁波市毒物研究与控制重点实验室 浙江宁波 315010)

[摘要] 目的:建立了用自动顶空固相微萃取(HS/SPME) - 气相色谱法测定尿中苯酚的测定方法。方法:尿样经盐酸酸化和氯化钠饱和,60℃搅拌平衡 10 min,聚丙烯酸酯萃取头(PA,75 μm)萃取 10 min后,260℃下解吸 2.5 min,用 FFAP 毛细管色谱柱分离,FID 检测器检测。结果:本法在苯酚浓度 0 mg/L~8.0 mg/L 范围内呈良好的线性关系,相关系数 r 大于 0.999,回收率在 87.1%~101.3% 之间,方法的检出限为 0.02 mg/L,相对标准偏差小于 4.2%。结论:自动顶空 SPME 法测定尿中苯酚,无需有机溶剂,集萃取、浓缩、解吸、进样等功能于一体,方法快速、准确、灵敏。

[关键词] 固相微萃取;苯酚;气相色谱法;尿

[中图分类号] O657.7⁺¹

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-8685(2011)10-2401-02

Determination of phenol in human urine by HS/SPME - GC/FID

WANG Yufei, JIN Micong, LI Jige

(Ningbo Key Laboratory of Poison Research and Control, Ningbo Municipal Center for Disease Control and Prevention, Ningbo 315010, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a method for the determination of phenol in urine samples by gas chromatography with headspace solid - phase microextraction (HS/SPME). **Methods:** The samples were acidified with hydrochloric acid and saturated with NaCl to maintain an agitating equilibrium at 60℃ for 10 min, headspace absorbed for 10 min using a 75 μm polyacrylate coated fiber and desorbed at 260℃ for 2.5 min, and detected by GC/FID. **Results:** The linear range of the method was 0 mg/L ~ 8.0 mg/L with the correlation coefficients (r) above 0.999. The average recoveries were in the range of 87.1% ~ 101.3%, with relative standard deviation less than 4.2%. The detection limit of the method was 0.02 mg/L. **Conclusion:** The method is solvent - free and highly efficient in enrichment, deabsorption and injection, which is simple, convenient and practical, suitable for detection of phenol in urine samples.

[Key words] SPME; Phenol; GC; Urine

苯作业工人的慢性中毒是我国的法定职业病之一。作为苯在人体内的代谢产物之一尿中苯酚是监测苯接触者的常用指标,可以较为准确的衡量个体短期苯的接触量,在劳动卫生职业病诊断中作为苯接触者的主要依据之一。目前国标法测定尿中苯酚的方法为 1996 年制定的液晶柱法和 FFAP 柱法两种^[1,2];方法使用的是填充柱,需经液液萃取等步骤。文献中少见其它测定方法报道。本试验开发了尿中苯酚的 HS/SPME 气相色谱测定方法,具有集萃取浓缩于一体,无使用有机溶剂,能有效消除基质干扰、能快速测定和准确性好等优点。SPME 方法是一种低耗、灵敏的样品预处理技术,在职业卫生生物材料监测中将越来越得到重视^[3-5]。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

安捷伦 7890A 型气相色谱仪(美国 Agilent 公司),配有 CTC 三合一自动进样器(瑞士 CTC 公司);75 μm 聚丙烯酸酯

(PA) 萃取纤维(Cat. No. 57321-U,美 Supleco 公司);顶空瓶:20 ml。水中苯酚标准品:GBW(E)080241,1000 mg/L(国家标准物质中心);氯化钠、盐酸,为分析纯;1% 盐酸溶液;超纯水(Milli-Q)。

空白尿样:由健康志愿者提供 4℃ 保存。

1.2 仪器操作条件

气相色谱条件:毛细管色谱柱:DB-FFAP(30 m × 0.32 mm × 1.0 μm);进样口温度:260℃;柱温:100℃,以 20℃/min 的速度上升到 230℃ 保持 3 min;检测器:FID 280℃;柱流速:3.0 ml/min;空气:350.0 ml/min;氢气:30 ml/min。尾吹:27.0 ml/min;分流比:不分流。

自动固相微萃取条件:PA 萃取头 250℃ 老化 5 min;样品平衡及萃取温度:60℃;搅拌速度:300 rpm,样品平衡时间:10 min;萃取方式:顶空;萃取时间:10 min;解吸温度:260℃;解吸时间:2.5 min。

1.3 实验方法

1.3.1 标准系列配制 分别于 5 只 20 ml 顶空瓶中,加入 3.7 g 氯化钠、1.0 ml 1% 盐酸溶液、5.0 ml 空白尿样,再各加入 100 mg/L 苯酚标准品 50 μl、100 μl、200 μl、400 μl、800 μl,加

[作者简介] 王玉飞(1964-) 硕士,副研究员,主要从事理化检验工作。

超纯水至 10 ml,配成浓度为 0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、4.0 mg/L、8.0 mg/L 的标准系列,密封后依据实验条件自动测定。

1.3.2 样品处理 取尿样 5.0 ml 于 20 ml 顶空瓶中,加入 3.7 g 氯化钠、1.0 ml 1% 盐酸溶液和 4 ml 超纯水,密封后依据实验条件自动测定。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

用标准苯酚进行色谱条件的优化,我们选择 FFAP 毛细管色谱柱,经过不同条件的试验,在柱流速为 3.0 ml/min 时,可不用将苯酚衍生而得到较好的色谱峰。在本实验条件下,加标尿样的总离子色谱图(TIC)见图 1,结果表明:在用顶空萃取的条件下,基质影响少,峰形对称,灵敏度高。

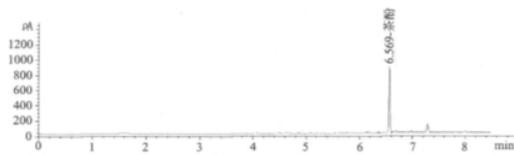


图 1 加标尿样的色谱图

2.2 HS/SPME 条件优化

2.2.1 萃取头的选择 HS/SPME 萃取过程依赖于分析物在涂层和样品在两相中的分配系数,因此萃取的选择性取决于涂层材料的特性,按照“相似相溶”的原则,极性较强的苯酚,选择极性涂层的聚丙烯酸酯(PA)萃取效率较高。但同时相同涂层不同厚度的纤维也影响测定的灵敏度。比较了同一加标样品中分别用聚丙烯酸酯(PA) 60 μm 、75 μm 、85 μm 萃取头的测定结果,结果表明 75 μm PA 的萃取灵敏度最高。

2.2.2 pH 值对萃取的影响 苯酚具有弱酸性,在中性情况下,会部分水解,能形成离子状态,不利于萃取。降低样液 pH 值,可使苯酚电离性减小,提高气液分配系数,使纤维固定相的吸附增加,从而提高方法的灵敏度,但酸性过强会损坏纤维的固定相。本方法试验了 pH 值分别为 1、2、4、7、10 的情况下分别进行吸附萃取和检测,结果表明:苯酚的萃取量随 pH 值增大而很快下降。考虑到萃取头的使用寿命及实验操作的结果计算等因素,结合本实验结果,本方法选择在 5 ml 样品中加入 1.0 ml 1% 盐酸,即可满足本实验条件要求。

2.2.3 盐效应和搅拌对萃取的影响 由于“盐析”效应,加入一定量的氯化钠可降低苯酚在水系的溶解度,盐效应可以提高苯酚的挥发性,提高气液分配系数,进而提高萃取效率。搅拌可促进样品均一化和加速气液的平衡,有利于萃取平衡的建立。试验结果表明,氯化钠含量在 3.7 g 及搅拌速度 300 rpm 的条件下可达最佳萃取效果。

2.2.4 萃取温度和时间 对顶空 SPME 来说,提高温度可使气相中待测物的浓度提高,有利于萃取,也能达到缩短平衡时间的目的,但是温度升高,杂质在气相中浓度也提高,需要优化最佳的萃取温度。本方法在 40 $^{\circ}\text{C}$ 、50 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、70 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ 的萃取温度下分别进行吸附萃取和检测。结果表明:当萃取温度在 40 $^{\circ}\text{C}$ ~ 80 $^{\circ}\text{C}$ 时,苯酚的萃取量随温度的升高而不断增加,

但当温度超过 60 $^{\circ}\text{C}$ 后,干扰物的吸附也同时增加。我们选择萃取温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 。将样品在 60 $^{\circ}\text{C}$ 温度下分别吸附 10 min、20 min、30 min 检测,结果表明:苯酚的萃取量随萃取时间的增加而增加不大,在样品预先平衡 10 min 后,萃取头吸附 10 min 基本达到稳定。

2.3 线性范围及检出限

空白尿样基质中配制浓度为 0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、4.0 mg/L、8.0 mg/L 的标准系列,采用峰面积对浓度定量,其线性回归相关系数 r 为 0.9997,线性良好。用含量为 0.05 mg/L 的加标尿样按本方法做方法检出限,结果得信噪比为 15.1,根据 3 倍信噪比计算最低检出限,取样量为 5.0 ml 时,方法最低检出浓度为 0.02 mg/L。

2.4 准确度和精密度

对空白尿样按本方法进行高、中、低三个浓度加标回收测定,实验结果见表 1。由于线性回归是根据空白尿样加入法来配制,与样品基质相同,使方法的回收率较高,平均在 87.1% ~ 101.3% 之间。重现性试验结果表明,用自动 SPME,能严格控制萃取温度和时间等条件,重现性较好, $RSD\%$ 小于 4.2%。

表 1 方法的回收率和精密度(RSD) ($n=5$)

分析项目	本底 (mg/L)	加入量 (mg/L)	测定值 (mg/L)	平均回收率 (%)	RSD (%)
苯酚	ND	0.5	0.48 ~ 0.55	101.3	3.7
	ND	2.0	1.84 ~ 2.01	95.3	3.0
	ND	6.0	5.22 ~ 6.03	91.1	4.2

3 结论

建立了用自动顶空固相微萃取(HS/SPME) - 气相色谱法测定尿中苯酚的定量方法。本方法无须有机溶剂,集萃取、富集和进样等步骤于一体,操作简便、快速,基质干扰少。方法线性范围、检出限、回收率和精密度均能够满足国标要求。自动 HS/SPME 方法高效、低耗,非常适合职业卫生尿中苯酚的常规监测。

[参考文献]

- [1] WS/T 49 - 1996. 尿中苯酚的气相色谱测定方法(一) 液相色谱法[S].
- [2] WS/T 50 - 1996. 尿中苯酚的气相色谱测定方法(二) FFAP 法[S].
- [3] Luan TG, Li GK, Zhao MQ, et al. Rapid detection of tetramethylene - disulfotetramine in human blood by solid - phase microextraction / gaschromatography [J]. Analytica Chimica Acta, 2000, 7(2): 329 - 334.
- [4] 郝守进, 康君行, 周珊, 等. 固相微萃取气相色谱法测定血中的挥发性有机化合物[J]. 卫生研究, 2000, 9(1): 37 - 39.
- [5] Janasik B, Jakubowski M, Jalowiecki P. Excretion of unchanged volatile organic compounds in urine as result of experimental human volunteer exposure [J]. Intl Archives of Occupational Environ Health, 2008, 81(4): 443 - 449.

(收稿日期: 2011 - 05 - 16)