

原位乙酰化-顶空固相微萃取测定水中酚类化合物

余益军¹ 刘红玲² 戴玄吏¹ 蔡焕兴¹ 李春玉¹ 于红霞^{* 2}

¹(常州市环境监测中心站,常州 213001)

²(污染控制与资源化研究国家重点实验室,南京大学环境学院,南京 210093)

摘 要 建立了原位乙酰化-顶空固相微萃取-气相色谱/质谱联用测定水中酚类及氯酚类化合物的方法,考察了对衍生化以及萃取过程有影响的相关因素。结果表明,采用 65 μm PDMS/DVB 涂层纤维效果最好。在 10 mL 样品中,搅拌速率 600 r/min、100 μL 乙酸酐、0.10 g Na_2HPO_4 、4.0 g NaCl 、60 $^\circ\text{C}$ 时各被测组分检出限在 0.014 ~ 0.044 $\mu\text{g/L}$ 之间,相对标准偏差(RSD) $\leq 13.7\%$ 。在考察的浓度范围(0.02 ~ 25 $\mu\text{g/L}$)内均呈线性变化。实际废水样品测定结果表明,相对标准偏差(9.24%)和回收率(86.4%)符合环境水体中痕量酚类化合物监测的质控要求。

关键词 顶空固相微萃取; 酚类; 衍生化

1 引言

酚类和氯酚类化合物是使用广泛的化工原料,大量使用导致其在环境中广泛存在,很多已被列入中国和美国的“水中优先控制污染物”黑名单。目前,我国环境监测系统常用挥发酚指标评价酚类污染状况,简单易行,但难以满足管理需求,尤其是处理某些突发性的污染事件。快速、准确地对酚类污染进行定性及定量分析,对现状评估和应急措施制定具有重要意义。

酚类的经典监测方法为液液萃取法(LLE)^[1~3],此方法成熟易用,但耗时费力,还大量使用价格高并对健康有害的高纯有机溶剂。固相微萃取(SPME)是集采样和浓缩于一体的新型样品预处理技术,灵敏度高,操作简单,已经应用于酚类物质的检测分析^[4~7],同时,我国《生活饮用水标准检验方法》也包含顶空固相微萃取测定 2,4,6-三氯酚和五氯酚^[2]。这些方法多采用 PA 或 PDMS/DVB 涂层纤维,在酸性条件下萃取未解离的分子态酚类物质。由于酚类物质极性很强,故检出限较高,尤其是水溶性好的苯酚等^[6]。另外酚羟基在色谱柱中的拖尾现象制约了定性及定量分析的精确化。衍生化技术应用于 SPME 中可以解决这些问题,如萃取后对涂层采取硅烷化试剂进行衍生化反应后再测定^[8~10],消除拖尾等,但这对操作要求高,而且会破坏涂层^[9,10]。

本研究采用原位乙酰化法,建立了水样中酚类物质的顶空固相微萃取-气相色谱/质谱(GC/MS)联用测定方法,通过考察各种影响因素,获得适宜实验条件。本方法将酚羟基乙酰化后再进行顶空萃取,降低了化合物的亲水性,提高萃取效率,改善色谱峰型,提高了定性和定量分析的准确度,检出限显著降低;衍生化方法简单易行、不破坏涂层;由于采用了质谱检测器,可以为化合物结构定性分析提供准确确证。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司),DB-5MS 色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 25 μm , J&W Scientific 公司)。

SPME 手柄及 5 种萃取纤维: PDMS(100 μm)、PA(85 μm)、CAR/PDMS(85 μm)、PDMS/DVB(65 μm)、以及 DVB/CAR/PDMS(50/30 μm)均购自 Supelco 公司。15 mL 顶空萃取瓶,长 1 cm 的微型磁子, WiseStir MSH-20D 数码加热磁力搅拌器(Wisd laboratory Instruments 公司)。

2010-01-11 收稿; 2010-04-01 接受

本文系国家自然科学基金(No. 20977047)资助项目

* E-mail: hongxiayu01@yahoo.com.cn

苯酚(Phenol)、间甲酚(*m*-Cresol)、2,6-二甲酚(2,6-DMP)、2,4-二甲酚(2,4-DMP)、3,5-二甲酚(3,5-DMP)、2,3-二甲酚(2,3-DMP)、3,4-二甲酚(3,4-DMP)、2-氯酚(2-CP)、4-氯酚(4-CP)、2,4-二氯酚(2,4-DCP)及2,4,6-三氯酚(2,4,6-TCP)等酚类物质标准溶液由环保部标准样品研究所提供,以甲醇稀释配制成工作溶液,4℃避光保存。甲醇、正己烷(色谱纯,Tedia公司)。

2.2 GC/MS 条件

载气:高纯He(99.999%) 流速1.0 mL/min;不分流模式进样,进样口温度270℃,吹扫时间2 min,吹扫流速50 mL/min;柱温:初温60℃保持3 min,以10℃/min升温至160℃,再以20℃/min升温至260℃,保持3 min。传输线温度为250℃,EI离子源和四极杆温度分别为230和150℃;电子能量为70 eV。由保留时间及碎片比例确认进行定性分析,以选择离子方式进行定量分析。

2.3 实验方法

在萃取瓶中加入适量NaCl和Na₂HPO₄、微型磁子与10 mL样品,再加入适量乙酸酐,立即用带硅橡胶垫的瓶盖封闭、混匀。样品在萃取温度下平衡10 min后,将SPME装置的不锈钢针管插入瓶中,推出萃取头进行顶空萃取。萃取完成后,迅速插入气相色谱汽化室进行热解吸及GC/MS分析。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件优化

对被测酚类的乙酰化衍生物的色谱条件进行优化。衍生化产物制备参考国标方法(GB/T 897, 2-88)^[11],即在10 mL 0.1 mol/L KHCO₃溶液中加入酚类混合标准溶液,使酚类物质浓度约为1 mg/L,加入100 μL乙酸酐,60℃搅拌反应30 min后冷却至室温,加入3 g NaCl,再以正己烷萃取,浓缩备用。经GC/MS确认为各酚类化合物的乙酰化产物,其分子离子峰含量较低,基峰为分子丢失乙酰基(Acetyl group)后的结构,主要碎片还有乙酰基(*m/z* 43),其余碎片与母体酚类相似。相对于母体化合物,这些乙酰化衍生物保留时间后移,峰型对称,拖尾现象基本消除(图1)。

从质谱碎片可见,酯键容易断裂,分子离子峰含量比率低,因此这些产物也可能在高温下分解。故设定进样口温度分别为240,250,260和270℃,考察进样口温度对色谱响应值的影响。结果表明,在260℃响应最大,270℃次之,240℃与250℃响应相近,各被测组分变化趋势一致。由于高解吸温度有利于降低偏差^[12],而在270℃下的响应约为260℃下的90%~96%,因此确定进样口温度为270℃。

3.2 萃取纤维选择

SPME是富集平衡的过程,纤维涂层的类型和厚度对萃取效率和平衡时间影响很大。图2为4种涂层纤维在60℃下、100 μL乙酸酐、0.10 g Na₂HPO₄、3.0 g NaCl、搅拌速率为600 r/min时的动力学过程,其中PDMS/DVB平衡时间最短(30 min),PDMS其次(60 min),PA和CAR/PDMS较长(90 min),后两者的萃取过程呈现明显的一级动力学特征。

从分离效果看,CAR/PDMS和DVB/CAR/PDMS两种纤维解吸后色谱图拖尾,并造成3对物质未有效分离,因此以峰高比较涂层之间的萃取效果差异(图3)。除苯酚外,PDMS/DVB对所有被测组分萃取效果都最好,DVB/CAR/PDMS次之,这两种涂层中均有二乙烯苯结构,被测组分分子中也有苯环,它们之间的 π - π 作用可获得较好的萃取效果^[13]。综合考虑萃取效果、时间和色谱分离,采用PDMS/DVB纤维。

3.3 盐析效应的影响

SPME过程通常在样品中加入NaCl,通过盐析效应降低被测组分在水中的溶解度,提高被测组分在涂层中的分配系数。确定实验条件为PDMS/DVB纤维、100 μL乙酸酐、0.1 g Na₂HPO₄、60℃,搅拌速

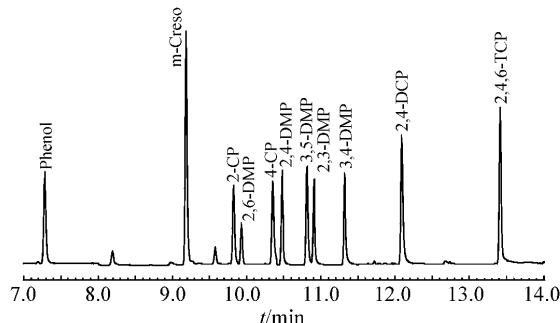


图1 酚类乙酰化产物的色谱选择离子流图

Fig. 1 Chromatogram of acetylated phenols and chloro-phenols

CP: Chlorophenol; DMP: Dimethylphenol; DCP: Dichlorophenol; TCP: Trichlorophenol.

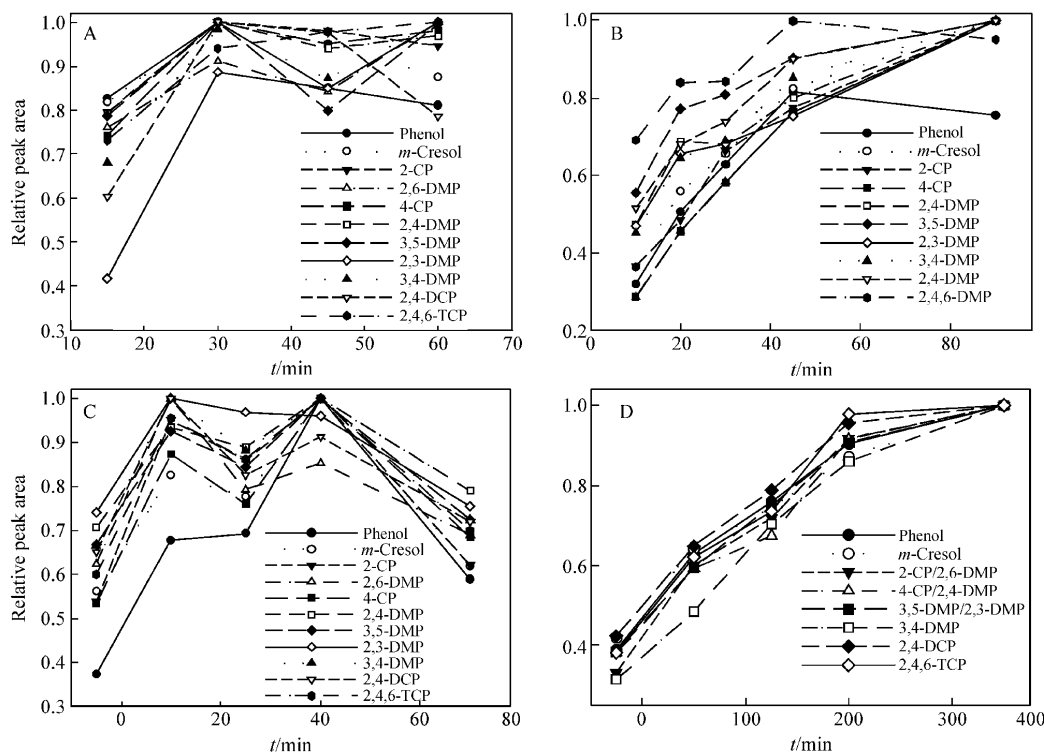


图 2 不同涂层纤维的萃取动力学过程

Fig. 2 Extraction time profiles for phenols using different SPME fibers

A: Polydimethylsiloxane / divinylbenzene (PDMS/DVB); B: Polyacrylate (PA); C: PDMS; D: Carboxen (CAR) / PDMS).

率 600 r/min, 萃取效率随 NaCl 浓度变化如图 4 所示。结果表明, 盐析效应对萃取效率有很大影响, 各种化合物萃取效率提高了 2.5 ~ 10 倍。除 2,4,6-三氯酚外, 其它酚类物质均在 NaCl 过饱和时萃取效率最大。因此选择在 10 mL 水样加入 4 g NaCl, 使之过饱和。

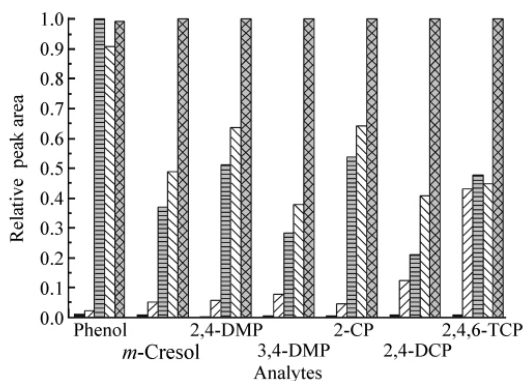


图 3 不同涂层纤维的萃取效果差异

Fig. 3 Comparison of extraction efficiency using different SPME fibers

■: PA; ▨: PDMS; ▩: CAR/PDMS; ▤: DVB/CAR/PDMS; ▧: PDMS/DVB.

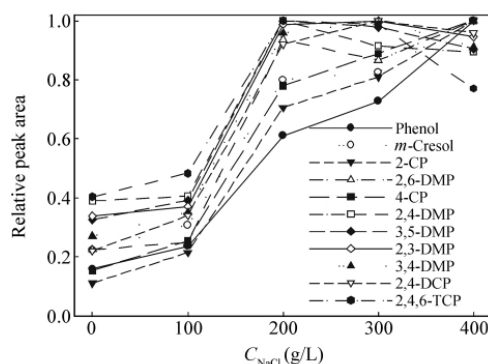


图 4 盐析效应对萃取效率的影响

Fig. 4 Salting out effect on extraction efficiency extraction efficiency using different SPME fibers

3.4 衍生化条件的优化

3.4.1 衍生化试剂(乙酸酐)用量的影响 酚类与乙酸酐在碱性条件下乙酰化生成酯类, 由于衍生化试剂(乙酸酐)在碱性条件可发生水解, 同时降低碱度, 可对反应造成影响。确定实验条件为 PDMS/DVB 纤维、4.0 g NaCl、0.10 g Na₂HPO₄、搅拌速率 600 r/min、60 °C 萃取 30 min, 考察乙酸酐添加量为

50 , 100 , 150 和 200 μL 时萃取效果的差异 结果如图 5A 所示。除苯酚和间甲酚在 50 μL 响应最大外 , 其余均在 100 μL 处响应最好 , 呈现非单调变化。

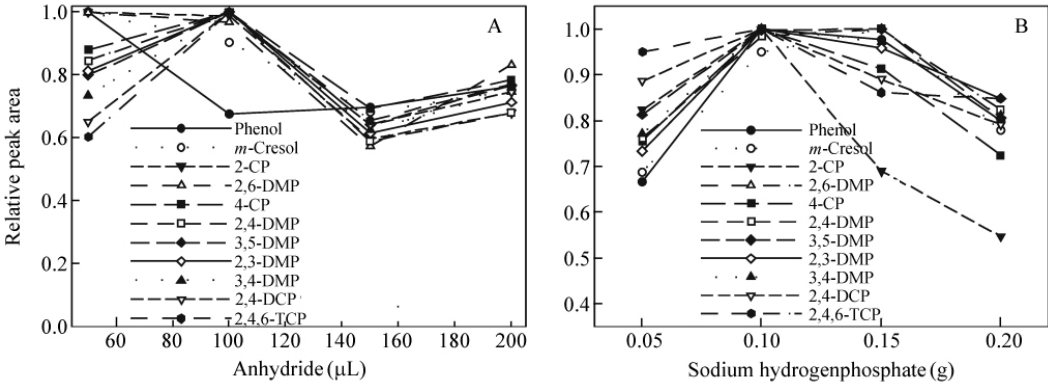


图 5 衍生化过程中的乙酸酐添加量(A) 和 Na_2HPO_4 量(B) 的影响
Fig. 5 Influence of volume of anhydride (A) and amount of Na_2HPO_4 (B) for derivatization on extraction efficiency

3.4.2 Na_2HPO_4 用量的影响 GB/T 8972-88 采用 KHCO_3 形成碱性环境 , 再进行乙酰化反应 , 由于 KHCO_3 遇酸产生大量 CO_2 气泡 , 会增大顶空瓶内气体压力 , 故本实验采用既可产生碱性环境又不会产生气体的 Na_2HPO_4 。其用量对萃取效率影响如图 5B , 各种酚类均在 0.10 ~ 0.15 g 之间取得最大值。 Na_2HPO_4 对萃取效率影响也呈现倒 U 型非单调变化。

3.5 温度的影响

萃取温度将影响衍生化反应过程 , 对萃取效率和萃取时间都有一定影响 , 考察 40、60 和 75 $^\circ\text{C}$ 下萃取效率的差异。结果表明 , 苯酚、间甲酚等易挥发酚类随温度升高萃取效率递减 , 苯酚变化更显著 , 其它酚类在 60 $^\circ\text{C}$ 时取得最大值(图 6)。

3.6 方法的线性范围、精密度与检出限

针对所有化合物 , 选定如下测定条件: PDMS/ DVB 纤维、萃取温度 60 $^\circ\text{C}$ 、搅拌速率 600 r/min、100 μL 乙酸酐、0.10 g Na_2HPO_4 、4.0 g NaCl、10 mL 样品 , 此时各被测组分的线性范围、相关系数以及重复性如表 1 所示。与酚类直接以 PA 或 PDMS/DVB 涂层萃取相比 , 本方法检出限显著降低 , 尤其是水溶性好的苯酚、间甲酚等低了两个数量级(表 2)。

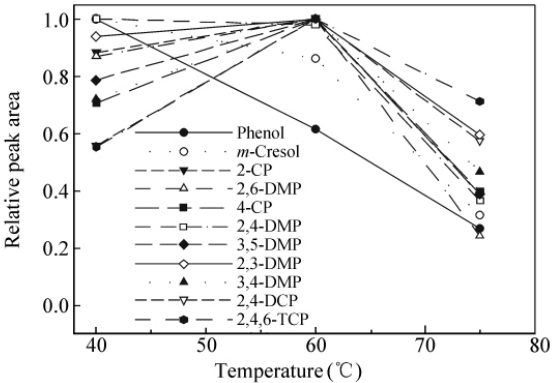


图 6 萃取温度的影响
Fig. 6 Effect of temperature on extraction efficiency

表 1 原位乙酰化-顶空固相微萃取测定水中酚类的相关性能参数
Table 1 Extraction performance of in situ derivatization headspace(HS)-SPME

化合物 Compounds	线性范围 Linear range ($\mu\text{g/L}$)	线性方程 Linear equation($\mu\text{g/L}$)	相关系数 Concentration coefficient (R^2)	检出限 LOD ($\mu\text{g/L}$)	RSD (% , $n = 6$)
苯酚 Phenol	0.051 ~ 6.38	$y = 7.91 \times 10^5 x + 2.37 \times 10^6$	0.992	0.018	13.7
间甲酚 <i>m</i> -Cresol	0.054 ~ 6.78	$y = 8.07 \times 10^6 x + 3.39 \times 10^6$	0.990	0.014	8.54
2-氯酚 2-CP	0.050 ~ 25.0	$y = 3.43 \times 10^6 x + 6.32 \times 10^4$	0.994	0.029	11.7
4-氯酚 4-CP	0.050 ~ 25.0	$y = 3.75 \times 10^6 x + 9.41 \times 10^5$	0.993	0.036	10.2
2,6-二甲酚 2,6-DMP	0.050 ~ 25.0	$y = 1.72 \times 10^6 x + 1.20 \times 10^6$	0.995	0.044	8.22
2,4-二甲酚 2,4-DMP	0.050 ~ 25.0	$y = 4.99 \times 10^6 x + 2.78 \times 10^6$	0.998	0.040	10.3
3,5-二甲酚 3,5-DMP	0.050 ~ 25.0	$y = 5.49 \times 10^6 x - 5.27 \times 10^5$	0.998	0.025	9.82
2,3-二甲酚 2,3-DMP	0.050 ~ 25.0	$y = 1.24 \times 10^6 x + 6.08 \times 10^6$	0.998	0.030	8.91
3,4-二甲酚 3,4-DMP	0.050 ~ 25.0	$y = 4.42 \times 10^6 x + 1.08 \times 10^6$	0.999	0.039	9.57
2,4-二氯酚 2,4-DCP	0.020 ~ 10.0	$y = 2.09 \times 10^7 x - 1.95 \times 10^6$	0.991	0.015	7.26
2,4,6-三氯酚 2,4,6-TCP	0.021 ~ 10.7	$y = 2.18 \times 10^7 x + 2.79 \times 10^6$	0.999	0.016	7.12

表 2 酚类物质常见测定方法的比较

Table 2 LODs of phenols determined by different methods

化合物 Compounds	SPME(PDMS/DVB) ^[3] (μg/L)	SPME(PA) ^[6] (μg/L)	LLE ^[4] (μg/L)	本方法 This method (μg/L)
苯酚 Phenol	8	9.1	0.81	0.018
间甲酚 <i>m</i> -Cresol	17	/	/	0.014
2-氯酚 2-CP	/ ^a	4.1	/	0.029
4-氯酚 4-CP	/	0.27	/	0.036
2,6-二甲酚 2,6-DMP	/	/	0.99	0.044
2,4-二甲酚 2,4-DMP	/	/	0.74	0.040
3,5-二甲酚 3,5-DMP	/	/	0.69	0.025
2,3-二甲酚 2,3-DMP	/	/	/	0.030
3,4-二甲酚 3,4-DMP	/	/	0.96	0.039
2,4-二氯酚 2,4-DCP	/	0.053	/	0.015
2,4,6-三氯酚 2,4,6-TCP	/	0.06	/	0.016

注(Note): a. Not available.

3.7 环境水样的测定

用本方法分析某厂污水样中苯酚, 设定条件为: PDMS/ DVB 纤维, 萃取温度 40 ℃, 50 μL 乙酸酐, 0.10 g Na₂HPO₄, 4.0 g NaCl, 10 mL 样品。为减小批次之间差异, 选取邻氯酚为内标(IS)。结果表明, 两个进口处苯酚浓度分别为 13.6 和 11.3 μg/L, 两个出口处的浓度则为 0.677 和 0.583 μg/L, GC/MS 的选择离子色谱图如图 7 所示。进口样品中内标物邻氯酚前有干扰, 经谱库检索为萘(*m/z* 128, 与邻氯酚基峰一致), 未基线分离, 但对积分影响不大。进口的两次平行实验和出口的加标回收(加标量为 5.0 μg/L) 实验表明, 相对偏差和回收率分别为 9.24% 和 86.7%, 符合质控要求。本方法对酚类化合物具有选择性, 适于酚类物质的测定分析。

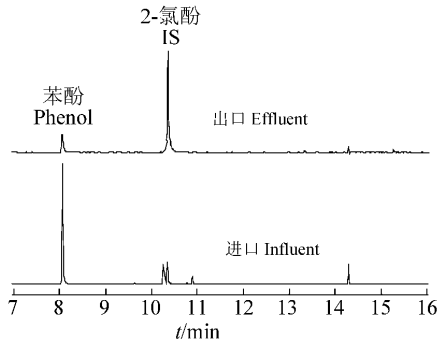


图 7 实际废水样品测定的色谱图

Fig. 7 Chromatogram of real wastewater by SPME

References

1 *Methods for Organic Chemical Analysis of Municipal and Industrial Wastewater: Method 604-Phenols*, United States Environmental Protection Agency

2 GB/T 5750.10-2006, *Standard Examination Methods for Drinking Water-Disinfection by-Products Parameters*(生活饮用水标准检验方法 消毒副产物指标). National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准)

3 YU Yi-Jun(余益军), SU Guan-Yong(苏冠勇), LIN Han-Hua(林汉华), LIN Qun-Sheng(林群声), YU Hong-Xia(于红霞). *Chinese J. Anal. Chem.*(分析化学), **2009**, 37(12): 1717 ~ 1721

4 ZHAO Ru-Song(赵汝松), LIU Ren-Min(柳仁民), CUI Qing-Xin(崔庆新). *Chinese J. Anal. Chem.*(分析化学), **2002**, 30(10): 1240 ~ 1242

5 ZHANG Lan(张岚), LI Shu-Min(李淑敏), YUE Yin-Ling(岳银玲), YING Bo(应波), E Xue-Li(鄂学礼), CHEN Ya-Yan(陈亚妍). *J. Hyg. Res.*(卫生研究), **2006**, 35(1): 92 ~ 94

6 Simoes N, Cardoso V, Ferreira E, Benoliel M, Almeida C. *Chemosphere*, **2007**, 68(3): 501 ~ 510

7 Mousavi M, Noroozian E, Jalali-Heravi M, Mollahosseini A. *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 581(1): 71 ~ 77

8 Viñasa P, Campillo N, Martínez-Castillo N, Hernández-Córdoba M. *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216(9): 1279 ~ 1284

9 LI Xiang-Li(李向丽), LIN Li(林里), ZOU Shi-Chun(邹世春), LAN Chong-Yu(蓝崇钰), LUAN Tian-Gang(栾天罡). *Chinese J. Anal. Chem.*(分析化学), **2006**, 34(3): 325 ~ 328

10 LUAN Tian-Gang(栾天罡), ZHANG Zhan-Xia(张展霞), *Chem. J. Chinese Universities*(高等学校化学学报), **2002**, 23(6): 1160 ~ 1163

- 11 GB/T 8972-88, *Water Quality-Determination of Pentachlorophenol-Gas Chromatography*(水质 五氯酚的测定 气相色谱法). National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准)
- 12 Chong S L, Wang D X, Hayes J D, Wilhite B W, Malik A. *Anal. Chem.*, **1997**, 69(19): 3889 ~ 3898
- 13 Lespes G, Desauziers V, Montigny C and Potin-Gautier M. *J. Chromatogr. A*, **1998**, 826(1): 67 ~ 76
- 14 YANG Li-Li(杨丽莉), HU En-Yu(胡恩宇), MU Ying-Feng(母应锋), JI Ying(纪英). *Environ. Monitor. in China* (中国环境监测), **2007**, 23(4): 41 ~ 44

Trace Analysis of Phenols and Chlorophenols in Water by in Situ Derivatization Headspace Solid-Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography/Mass Spectrometry

YU Yi-Jun¹, LIU Hong-Ling², DAI Xuan-Li¹, CAI Huan-Xing¹, LI Chun-Yu¹, YU Hong-Xia^{*2}

¹(Changzhou Environmental Monitoring Center, Changzhou 213001)

²(State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, School of the Environment,
Nanjing University, Nanjing 210093)

Abstract An in situ derivatization headspace solid phase microextraction method has been developed for the determination of phenols and related chlorophenols in water. Acetylated derivatives were selectively determined using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). Parameters affecting both derivatization and SPME procedures, such as fiber coating, extraction time, temperature, volume of derivatizing reagent and ionic strength, were studied. Then the polydimethylsiloxane/divinylbenzene fiber (PDMS/DVB, 65 μm) was selected. The performance of the method was evaluated in terms of accuracy, linearity, precision and limits of detection. Under the selected conditions, i. e. 4.0 g NaCl, 0.10 g Na₂HPO₄ in every 10 mL sample solution, headspace extraction at 60 $^{\circ}\text{C}$ and 600 r/min for 30 min, quantitative recoveries and satisfactory precision (RSD $\leq$ 13.7%) were obtained. Limits of detection for all target compounds ranged from 0.014 to 0.044 $\mu\text{g/L}$. Linearity was found in a wide range of concentrations. Finally, the applicability of the proposed method is demonstrated by determining phenols in real wastewater samples.

Keywords Solid phase microextraction; Headspace; Gas chromatography/mass spectrometry; Acetylate; Phenol

(Received 11 January 2010; accepted 1 April 2010)

《英汉·汉英分析检测词汇》

该词典为适应分析检测发展和市场的需要,在《英汉·汉英分析化学词汇》所收词汇的基础上,收入了物性检测、生物医药、司法刑侦和商品检验等方面的词汇近 20000 余条,增补了近年来新出现的词汇约 2500 条,共收录英汉词汇 50000 余条,汉英词汇 50000 余条,词汇涵盖分析检测技术涉及的物质名词、性能、方法、原理、技术、设备、过程等多方面。收词专业、全面、新颖,具有很强的实用性,并且编排更具人性化,便于读者查找使用。

该词典可供分析检测领域从业者、相关领域的科研人员、贸易人员、企业管理人员及相关专业的大专院校师生参考使用。

该词典由周同惠主编,化学工业出版社于 2010 年 1 月出版,定价 148.00 元。