

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.01469

加速溶剂萃取-高效液相色谱法测定 皮革和纺织品中含氯苯酚的含量

李琳¹ 薛秀玲^{*1} 连小彬²

¹(华侨大学化工学院, 厦门 361021) ²(晋江出入境检验检疫局, 泉州 362200)

摘要 建立了测定皮革和纺织品中含氯苯酚的高效液相色谱/二极管阵列检测器(HPLC/DAD)分析方法。采用加速溶剂萃取法萃取不同类型的皮革和纺织品样品,以正己烷为提取剂,在 10.34 MPa 和 120 °C 下静态循环提取 3 次,提取液经氮吹仪浓缩近干,以正己烷溶解并定容;采用 C₁₈ 柱,以乙腈/0.5% 乙酸溶液为流动相,DAD 波长为 214 nm 进行高效液相色谱分离与分析。结果表明:四氯苯酚和五氯苯酚质量浓度在 0.1 ~ 20 mg/L 范围内具有良好的线性关系($r > 0.9999$);平均回收率在 96.0% ~ 101.5% 之间;相对标准偏差为 0.50% ~ 5.5% ($n = 7$);方法的检出限为 0.02 mg/kg,符合欧盟指令 0.05 mg/kg 的限量规定。本方法高效、简便、自动化程度高,准确可靠,是一种可同时快速测定皮革和纺织品中含氯苯酚的新方法。

关键词 加速溶剂萃取; 高效液相色谱; 含氯苯酚; 皮革; 纺织品

1 引言

含氯苯酚类化合物(五氯苯酚 PCP、四氯苯酚 TeCP、三氯苯酚 TCP、二氯苯酚 DCP)常用作杀菌剂和防腐剂^[1]。皮革和纺织品中含氯苯酚的残留问题备受关注。随着有关含氯苯酚的毒性及毒理研究的不断深入,相关法律、法规及标准对皮革和纺织品中的残留物限量将不断修正。德国对四氯苯酚(TeCP)和五氯苯酚(PCP)的限量要求:与皮肤直接接触的产品为 0.05 mg/kg,不与皮肤直接接触的产品为 5 mg/kg;荷兰和奥地利对 PCP 的限量为 5 mg/kg;瑞士对 PCP 和 TeCP 的限量为 10 mg/kg;Oeko-Tex Standard 100-2009 中对五氯苯酚(PCP)和四氯苯酚(TeCP)的限量要求:I 类产品为 0.05 mg/kg,II ~ IV 类产品为 0.5 mg/kg,其中,四氯苯酚的测定物质由原来的 2,3,5,6-四氯苯酚修订为四氯苯酚的 3 种同分异构体,另外两种分别为 2,3,4,5-四氯苯酚和 2,3,4,6-四氯苯酚,限定值为 3 种异构体的总和值^[2]。

目前,测定皮革和纺织品中 TeCP 和 PCP 已有标准方法,如国际标准委员会制定 ISO 17070:2006《皮革中五氯苯酚含量检测方法》和我国商检行业标准 SN/T 0193.1-1993《出口皮革及皮革制品中五氯苯酚残留量检验方法 乙酰化-气相色谱法》,国家标准方法 GB/T 18414.2-2006《纺织品含氯苯酚的测定第 2 部分:气相色谱法》,但这些方法大多存在有机溶剂用量大、萃取时间长、安全性及自动化程度低等问题,无法满足商检部门对大批量样品快速、灵敏、高自动化的检测要求。

加速溶剂萃取(Accelerated solvent extraction, ASE)具有速度快、溶剂用量少、易于自动化操作等特点,得到广泛的应用^[3]。目前,关于皮革和纺织品中 TeCP 的 3 种同分异构体和 PCP 的同时测定还未见发布相关标准方法。本研究采用 ASE-HPLC 联用方式,建立了同时测定皮革和纺织品中含氯苯酚快速、灵敏测定的新方法,实现了皮革和纺织品中含氯苯酚测定方法的统一,提高了检测效率。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),包括四元泵,DAD 二极管阵列检测器;ASE 300 加速溶剂萃取仪(美国戴安公司);快速浓缩工作站(Turbo,美国 Zymark 公司);0.45 μm/Φ13 mm PTFE 针式过滤头(Agilent 科技公司);Milli-Q 纯水系统(美国 Millipore 公司)。

2010-03-09 收稿;2010-04-14 接受

* E-mail: xueling@hqu.edu.cn.

正己烷、乙腈、甲醇(HPLC级,美国TEDIA公司);冰醋酸(分析纯,广东光华化学厂有限公司);2,3,4,5-四氯苯酚标准品、2,3,4,6-四氯苯酚标准品、2,3,5,6-四氯苯酚标准品、五氯苯酚标准品(纯度99.5%,Augsburg,德国)。

标准储备溶液:用正己烷将2,3,4,5-四氯苯酚、2,3,4,6-四氯苯酚配成10 mg/L的标准储备溶液,棕色硅烷化反应瓶盛装,-20℃避光保存;用正己烷将2,3,5,6-四氯苯酚和五氯苯酚配成200 mg/L的混合标准储备溶液,棕色硅烷化反应瓶盛装,-20℃避光保存;0.5%(V/V)乙酸溶液当天配制。

2.2 样品前处理

将皮革和纺织品样品剪碎为5 mm×5 mm的小块,分别混匀后精确称取5.000 g,放至底部放有玻璃纤维滤纸片的34 mL的不锈钢萃取池中,正己烷为萃取剂,在一定的温度和压力条件下进行加热和静态循环萃取,加速溶剂萃取完成后,用氮吹浓缩仪将提取液浓缩至1 mL以下,并用正己烷定容至1.0 mL。然后经0.45 μm微孔滤膜过滤,供高效液相色谱仪测定。

2.3 色谱条件

Agilent HC-C₁₈色谱柱(250 mm×4.0 mm,5 μm);流动相为V(乙腈):V(0.5%乙酸水溶液)=75:25;流速:1.0 mL/min;柱温:35℃;DAD二极管阵列检测器波长:214 nm;进样量:10 μL。

3 结果与讨论

3.1 样品前处理条件的优化

3.1.1 萃取溶剂的选择 PCP是一种微溶于水,易溶于大多数有机溶剂的防腐剂。TeCP是PCP合成过程中的副产物,两者具有相似的化学性质、生物毒性等。实验考察了正己烷、丙酮和二氯甲烷为提取剂的提取效率。固定温度为120℃,静态时间为5 min,循环2次;氮气吹扫80 s,考察正己烷、丙酮和二氯甲烷对样品中TeCP和PCP的萃取率。结果表明,二氯甲烷的萃取液呈浑浊状,推测其可能将样品中杂质也萃取出来,必须经净化处理方可进行仪器分析;正己烷和丙酮的萃取液较透明,由于皮革和纺织品样品中均添加染料^[4],丙酮极性强于正己烷,有可能将其中的染料组分也萃取出来,增加了仪器分析难度,故本以正己烷为ASE的提取剂。

3.1.2 ASE提取方法的优化选择 加速溶剂萃取过程中萃取剂的用量较少,且萃取剂体积有一定的限制,故不考虑萃取剂体积的影响。在正交实验单因素(萃取剂种类型)基础上,以萃取温度A、静态萃取时间B、循环次数C、吹扫时间D为主要影响因素,设计L₉(3⁴)正交实验^[5]。正交实验指标以TeCP和PCP的回收率表示。由于本实验为多指标正交实验,对于实验结果数据的分析采用“综合评分法”^[6],将多指标按照一定的规则转换为单指标,然后进行统计分析,评分方法采用“排队评分法”^[8]。实验数据处理结果如表1所示。

由表1的极差(R)值可知,影响萃取率的大小顺序依次为温度、静态萃取时间、循环次数、氮气吹扫时间。提高温度可减弱基质与被分析物间的作用力,加快被分析物从基质中解析并快速进入溶剂^[9];静态萃取时间和循环次数对结果影响相当,增加循环次数可适当减少静态萃取时间,氮气吹扫可以将萃取池及管路中的溶剂完全吹扫干净,但吹扫时间过长并不会提高萃取效果,故选择80 s。

5号实验的评分结果为20,萃取效果最好,可得出最优组合为A₂B₂C₃D₁。考虑到增加循环次数可适当减少静态萃取时间,故静态萃取时间从5 min降为3 min,而循环次数由2次增至3次,以体现萃取过程的少量多次,萃取率应更高,得出新的最优实验条件A₂B₃C₂D₃,即温度120℃,静态时间3 min,循环次数3次,氮气吹扫时间80 s。在最优条件下,测定样品中TeCP和PCP的萃取率分别为99.7%和98.7%,萃取时间约为16 min,与传统方法如水蒸气蒸馏方法(约5 h)和索氏提取方法(约8 h)相比,缩短了4~7 h,而工作效率得到了较大提高。

3.2 液相色谱分析条件的选择

3.2.1 检测波长的选择 以10 mg/L的TeCP和PCP的混合标准溶液进样,以DAD为检测器,所得的3D-plot图谱中,TeCP和PCP在210~220 nm和300~310 nm两段处均有最大吸收值,而在210~220 nm波段处的最大吸收值约为300~310 nm波段处的20倍,为了提高灵敏度,选择214 nm作为TeCP和

PCP 的检测波长。

表 1 正交设计及数据处理结果

Table 1 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

编号 No.	因素 Factors				四氯苯酚回收率 TeCP Recovery (%)	五氯苯酚回收率 PCP Recovery (%)	测试指标 Text targets 综合评分 Composite score K(%)
	A/°C	B/min	C/times	D/s			
1	80	1	1	60	38.5	39.7	2
2	80	5	3	100	68.3	67.2	10.8
3	80	3	2	80	61.7	62.3	9
4	120	1	3	80	93.3	93.5	18.7
5	120	5	2	60	98.1	97.6	20
6	120	3	1	100	96.3	92.7	18.9
7	100	1	2	100	58.9	55.4	7.5
8	100	5	1	80	73.7	77.5	13.2
9	100	3	3	60	86.6	87.3	16.7
ΣK_1	21.79	28.20	34.10	38.70			
ΣK_2	57.60	44.00	46.20	37.20			
ΣK_3	37.40	44.60	36.50	40.90			
k_1	7.26	9.40	11.37	12.90			
k_2	19.20	14.7	15.40	12.40			
k_3	12.47	14.87	12.17	13.63			
R	11.933	5.467	4.033	1.233			

$$k_i = \Sigma K_i / 3$$

TeCp: Tetrachlorophenol; PCP: Pentachlorophenol.

3.2.2 流动相的选择 在乙腈/水、甲醇/水、乙腈/0.5% 乙酸溶液、甲醇/1.0% 乙酸溶液、甲醇/2 g/L 乙酸铵溶液等流动相^[9-12]中,比较 TeCP 和 PCP 的出峰情况。结果表明,在 $V(\text{乙腈}):V(0.5\% \text{乙酸}) = 75:25$ 条件下 TeCP 和 PCP 的峰形较好;在其它条件下,存在保留时间太晚或者峰形拖尾等现象。这是因为样品组分与色谱柱上的硅醇基团相互作用,引起样品组分的次级保留效应,造成峰严重拖尾。通过在流动相中加入酸性改良剂(如乙酸),可以减少酸性组分的次级保留效应,使目标物 TeCP 和 PCP 的峰形得到改善。此外,通过调节柱温及流速,TeCP 和 PCP 在 8 min 内出峰,且能与杂质完全分开。

实验最终选择高效液相色谱的条件: $V(\text{乙腈}):V(0.5\% \text{乙酸}) = 75:25$,柱温 35°C ,流速 1.0 mL/min ,DAD 检测波长 214 nm 。TeCP 和 PCP 标准品、ASE 提取皮革和纺织品阳性样品、ASE 提取皮革和纺织品空白样品的高效液相色谱图如图 1 所示。TeCP 的 3 种同分异构体在高效液相色谱图中保留时间接近,色谱峰无法明显分离。考虑到国内外标准对 TeCP 的测定限量为 3 种同分异构体的测定总值,故图中 TeCP 的色谱峰为 3 种同分异构体的总和。

3.3 方法评价

3.3.1 方法的线性范围与检出限 将 200 mg/L 的 TeCP 和 PCP 的混合标准储备液用甲醇稀释配制成 $20, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2$ 和 0.1 mg/L 标准工作溶液,进行 HPLC 分析,根据峰面积绘制标准曲线。回归方程、线性范围、相关系数见表 2。以 3 倍信噪比计,本方法对 TeCP 和 PCP 的检出限均为 0.02 mg/kg 。

3.3.2 准确度和精密度 在最优实验条件下,对空白皮革和纺织品样品进行加标回收率实验,加标量分别为 $0.050, 0.500$ 和 2.000 mg/kg 。结果表明,皮革和纺织品中含氯苯酚的平均回收率($n = 7$)为

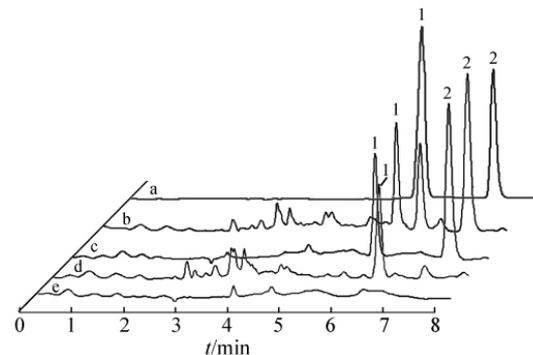


图 1 四氯苯酚和五氯苯酚标准品(a)、ASE 提取皮革(b)和纺织品(c)阳性样品、ASE 提取皮革(d)和纺织品空白样品(e)的高效液相色谱图

Fig. 1 High performance liquid chromatographic profiles of tetrachlorophenol and pentachlorophenol standards(a), accelerated solvent extraction (ASE) extract of positive leather sample(b) and textile sample(c), blank leather sample(d) and textile sample(e)

1. 四氯苯酚(TeCP); 2. 五氯苯酚(PCP)。

96.0% ~ 101.5%; 相对标准偏差(RSD)为 0.50% ~ 5.5%。

表 2 标准品的标准曲线、线性范围和相关系数

Table 2 Calibration curves, correlation coefficients and linear ranges of standard samples

含氯苯酚 Chlorophenols	保留时间 Retention time (min)	线性方程 Linear equations	线性范围 Linear ranges (mg/L)	相关系数 Correlation coefficients (r)
四氯苯酚 TeCP	5.802	$y = 112.8727\rho + 2.34424$	0.1 ~ 20	0.9999
五氯苯酚 PCP	7.209	$y = 102.9505\rho + 0.43529$	0.1 ~ 20	0.9999

3.4 实际样品测试

应用本方法对反绒皮、牛二层皮、磨砂皮、PU 革、涤纶、棉布、内里布、麻布等不同类型的皮革和纺织品样品共 8 件进行了分析测定,结果见表 3。其中,反绒皮和牛二层皮检出含有 PCP,含量分别为 4.16 和 6.25 mg/kg; 棉布检出含有 TeCP,含量为 0.03 mg/kg。由于皮革属于非直接接触皮肤类产品,大部分国家或地区(组织)对皮革中 TeCP 和 PCP 的限量要求均为 5 mg/kg,而生态类纺织品中 TeCP 和 PCP 的限量要求均为 0.5 mg/kg。根据相关法律和法规的规定,检出的阳性样品有 1 个超标,2 个达标。

表 3 对不同类型皮革/纺织品样品中四氯苯酚和五氯苯酚测定的结果

Table 3 Results of determining TeCP and PCP in different types of leather and textile samples

样品类型 Sample types	反绒皮 Suede leather	牛二层皮 Cow spilt leather	磨砂皮 Matte paper	PU 革 PU leather	涤纶 Polyester	棉布 Cotton	内里布 Cloth inside	麻布 Azabu
测定物质 Compounds	B	B	ND	ND	ND	A	ND	ND
测定值 Found (mg/kg)	4.16	6.25	ND	ND	ND	0.03	ND	ND
是否超标 Yes/No exceeded	no	yes	-	-	-	no	-	-

注(Note): A. 四氯苯酚(TeCP); B. 五氯苯酚(PCP); ND: 未检出(Not detected)。

3.5 与标准方法的比较

从前处理方法、萃取溶剂和使用量、萃取时间、检出限和回收率等方面分别比较了国际标准委员会制定 ISO 17070:2006《皮革中五氯苯酚含量检测方法》、我国商检行业标准 SN/T 0193.1-1993《出口皮革及皮革制品中五氯苯酚残留量检验方法 乙酰化-气相色谱法》、国家标准 GB/T 18414.2-2006《纺织品含氯苯酚的测定 第 2 部分:气相色谱法》和本实验建立的 ASE-HPLC 方法,结果见表 4。

表 4 不同方法的比较

Table 4 Comparison of different methods

方法名称 Method name	前处理方法 Pretreatment methods	主要萃取溶剂 Main solvent extraction	溶剂量 Solvent volume (mL)	萃取时间 Extraction time (min)	检测器 Detector	检出限 Detection limit (mg/kg)	应用范围 Application range	样品种类 Sample types	回收率 Recovery (%)
ISO 17070:2006	水蒸气蒸馏 Vapor distillation	H ₂ SO ₄ 、H ₂ O、正己烷 (n-Hexane)	570	120	GC-MS D	0.1	五氯苯酚 PCP	皮革 Leather	98.0 ~ 105.0
SN/T 0193.1-1993	液液萃取 Liquid-liquid extraction	H ₂ SO ₄ 、四硼酸钠 (Sodium borate)、正己烷 (n-Hexane)	162	50	GC	0.1	五氯苯酚 PCP	皮革 Leather	91.9 ~ 101.3
GB/T 18414.2-2006	液液萃取 Liquid-liquid extratcion	K ₂ CO ₃ 、Na ₂ SO ₄ 、丙酮 (Acetone)、正己烷 (n-Hexane)	135	60	GC	0.02	五氯苯酚 (PCP)、四氯苯酚 (TeCP)	纺织品 (Textile)	89.0 ~ 103.0
ASE-HPLC	加速溶剂萃取 Accelerated solvent extraction	正己烷 n-Hexane	45	16	HPLC	0.02	五氯苯酚 (PCP)、四氯苯酚 (TeCP)	皮革 (Leather)、纺织品 (Textile)	96.0 ~ 99.7 94.9 ~ 101.5

本方法实现了皮革和纺织品两种不同材质同时检测 TeCP 和 PCP,使用溶剂少、萃取时间短,方便快捷高效。

References

- 1 FAN Yuan-Mu(樊苑牧), HE Xiao-Yu(贺小雨), YU Xue-Jun(俞雪钧). *Journal of Instrumental Analysis*(分析测试学报), **2009**, 28(7): 794 ~ 803
- 2 XING Sheng-Yuan(邢声远), ZHOU Shuo(周硕). *Eco-Textile Testing Training Reading*(生态纺织品检测培训读本). Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), **2008**: 48 ~ 60
- 3 MA Qiang(马强), BAI Hua(白桦), WANG Chao(王超), ZHANG Qing(张庆), ZHOU Xin(周新), DONG Hui(董辉), WANG Bao-Lin(王宝麟). *Chinese J. Anal. Chem.*(分析化学), **2010**, 38(2): 197 ~ 201
- 4 CHEN Ling(陈玲). *Leather Chemical Materials Application and Analysis*(皮革化工材料应用及分析). Beijing(北京): China Textile Press(中国纺织出版社), **2006**: 174 ~ 207
- 5 FABG Kai-Tai(方开泰), MA Chan-Gxing(马长兴). *Orthogonal and Uniform Experimental Design*(正交与均匀试验设计). Beijing(北京): Science Press(科学出版社), **2001**: 40 ~ 43
- 6 JIN Liang-Chao(金良超). *Orthogonal Design and Multi-index Analysis*(正交设计与多指标分析). Beijing(北京): China Railway Press(中国铁道出版社), **1988**: 63 ~ 89
- 7 YUAN Yu-Feng(苑玉凤). *Journal of Hubei Automotive Industries Institute*(湖北汽车工业学院学报), **2005**, 19(4): 53 ~ 56
- 8 Bruce C A, Bruce E L, Robert L G. *Wat Res*, **1995**, 29(1): 61 ~ 67
- 9 Codognoto L, Zuin V G, Souza D D. *Microchemical Journal*, **2004**, 77(2): 177 ~ 184
- 10 Shail S, Chandra R, Patel D K. *Bioresource Technology*, **2008**, 99(13): 5703 ~ 5709
- 11 Xi T L, Xie Q, Bo L L. *Carbon*, **2004**, 42(2): 415 ~ 422
- 12 LIU Jing(刘静). *Inspection and Quarantine Science*(检验检疫科学), **2003**, 13(2): 58

Determination of Chlorophenols in Leathers and Textiles by Accelerated Solvent Extraction and High Performance Liquid Chromatography

LI Lin¹, XUE Xiu-Ling^{*1}, LIAN Xiao-Bin²

¹(College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021)

²(Jinjiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Quanzhou 362200)

Abstract A method was developed for the determination of chlorophenols (tetrachlorophenol and pentachlorophenol) in leathers and textiles by accelerated solvent extraction (ASE) and high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC/DAD). The crushed samples were extracted using ASE with *n*-hexane, and then the chlorophenols were eluted on a C₁₈ column with acetonitrile and 0.5% acetic acid solution, which were detected by DAD at $\lambda_{214\text{ nm}}$. Qualitative and quantitative analysis was carried out by retention time of chlorophenols and external standard method. The mass concentration of tetrachlorophenol and pentachlorophenol has a linear range of 0.1 – 20 mg/L with good correlation coefficients ($r > 0.9999$); The mean recoveries were 96.0% – 101.5%, with the relative standard deviation (RSD) of 0.50% – 5.5% ($n = 7$), and the detection limit of this method for chlorophenols was 0.02 mg/kg.

Keywords Accelerated solvent extraction; High performance liquid chromatography; Chlorophenol; Leathers; Textiles

(Received 9 March 2010; accepted 14 April 2010)