

固相萃取-高效液相色谱串联质谱法同时检测地表水中的 2, 4-二氯酚、2, 4, 6-三氯酚和五氯酚

杨秋红¹ 程小艳² 杨坪² 钱蜀² 但德忠^{*1}

¹(四川大学建筑与环境学院, 成都 610065) ²(四川省环境监测中心站, 成都 610041)

摘要 建立了简便、快速、同时测定地表水中 2, 4-二氯酚、2, 4, 6-三氯酚和五氯酚的固相萃取-高效液相串联质谱方法。HLB 固相萃取小柱富集水样中待测物质, 经二氯甲烷-丙酮(1:1, V/V)混合溶液洗脱后, 氮吹浓缩, 溶剂转换为甲醇, 采用高效液相色谱串联质谱检测, 选择反应监测模式(SRM), 进行特征母离子-子离子采集信号。本方法对 2, 4-二氯酚、2, 4, 6-三氯酚和五氯酚检测的线性方程分别为 $Y=2524X-6029$ 、 $Y=1809X-11341$ 、 $Y=2296X-2894$, 相关系数分别为 0.9993、0.9996 和 0.998; 检出限(LOD)分别为 2.0, 3.0 和 0.1 ng/L; 定量限(LOQ)分别为 6.7, 10.1 和 0.3 ng/L; 7 次加标回收相对标准偏差在 2.2%~14.7%之间; 回收率为 70.5%~102.3%, 能很好地满足水源地监测的需求。

关键词 氯酚; 固相萃取; 高效液相串联质谱法; 地表水

1 引言

氯酚类物质是广泛存在于水环境中的污染物质^[1], 其主要来源为工业排放的废水和废弃物的浸出液、农药、消毒剂和防腐剂等^[2]。氯酚是多种含氯酸和有机磷农药的降解产物^[3]。2, 4-二氯酚、2, 4, 6-三氯酚和五氯酚等氯酚类化合物毒性高, 污染面广, 难以降解, 因此被美国环保局(EPA)和我国国家环保总局列入优先控制污染物的黑名单^[4]。欧共体立法限定水中特定酚类最高可接受浓度低于 0.1 μg/L^[5], 洗漱用水的最高接受浓度为 5 μg/L^[6]。我国地表水环境质量标准中集中式生活饮用水地表水地特定项目标准、城市污水再生利用景观环境用水水质标准、污水综合排放标准等都将氯酚类物质列入控制范围^[7~10]。

氯酚类物质的监测方法主要有气相色谱法^[11, 12]和液相色谱紫外检测^[13~15]等方法。气相色谱法测定氯酚一般需衍生^[16], 过程复杂, 且灵敏度低, 而液相色谱紫外检测的定性能力不准。丁宗庆等^[17]采用凝固-漂浮分散液液微萃取-高效液相色谱法测定水样中氯酚。本研究建立了固相萃取液相色谱串联质谱同时分析这三种物质的测定方法, 满足了实际地表水源监测的要求, 具有很好的实际应用价值。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

高效液相色谱-串联三重四极杆质谱仪(LC-Accela, MS-TSQ Quantum Access, 美国热电公司); SZSB-148 固相萃取仪(美国 Supelco 公司); ENVI-Chrom 固相萃取小柱(250 mg/3 mL)、ODC-C₁₈ 固相萃取柱(500 mg/6 mL, 美国 Supelco 公司); Oasis HLB 固相萃取小柱(500 mg/6 mL, 美国 Waters 公司); 氮吹仪(N-EVAP111, 美国 Organomation Associates 公司); SI-234 分析天平(美国 Denver 公司); SCBB-206 和 SCBB-211 水系过滤膜和有机过滤膜(上海安谱公司)。

氯酚类标准品(06040100 Phenol-Mix 604, 国家标准物质研究所); 甲酸、甲醇(色谱纯, 美国 TEDIA 公司); 甲酸铵(色谱纯, 瑞士 Fluka 公司); 氨水(分析纯, 成都科龙化工试剂厂); (乙腈(色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司); 二氯甲烷、丙酮(农残级, 美国 J. T Baker 公司); 超纯水(电阻率为 18.2 MΩ·cm, 美国 Millipore 公司)。

2010-11-24 收稿; 2011-02-25 接受
* E-mail: dandezhong@sina.com

2.2 实验方法

2.2.1 样品保存 采样器材用棕色硬质玻璃制品,以免塑料橡胶制品中的酚类污染,水样装满,瓶中不能留有空间和气泡,水样用 HCl 酸化至 pH 4,冷暗处(4 ℃)保存,保存时间不超过 24 h。

2.2.2 固相萃取条件 取 1 L 水样,通过 0.45 μm 过滤膜。分别用 5~8 mL 甲醇和去离子水活化固相萃取柱,然后上样至固相萃取小柱,流速 5 mL/min。上样完成后,用 8 mL 二氯甲烷-丙酮(1:1,V/V)洗脱固相萃取柱,收集洗脱液,氮吹浓缩后,溶剂转换为甲醇,定容到 1.0 mL,待分析。

2.2.3 色谱条件 BEH C₁₈ 液相色谱柱(100 mm×2.1 mm×1.7 μm,美国 Waters 公司);流速为 0.1 mL/min;柱温 40 ℃;进样量为 10 μL,流动相 A 为甲醇,流动相 B 为甲酸胺-甲酸缓冲液(pH 4);梯度洗脱:0~8 min,70%~100% A;8~10 min,100% A;10~12 min,70% A。

2.2.4 质谱条件 电离源为电喷雾电离源(ESI),负离子检测,检测方式为选择离子反应监测(SRM)模式,去溶剂气体和锥孔反吹气均为高纯氮气,碰撞气为高纯氩气。质谱调谐条件见表 1。

表 1 3 种氯酚的质谱参数
Table 1 Optimized MS-MS conditions for three chlorophenols

氯酚 Chlorophenol	喷雾电压 Spray valtage (kV)	鞘气压力 Sheath gas pressure (kPa)	管透镜电压 Tube lens (V)	母离子 Parent ion (<i>m/z</i>)	子离子 Product ion (<i>m/z</i>)	保留时间 Retention time (min)	碰撞电压 Collision valtage (V)
2, 4-二氯酚 2, 4-Dichlorophenol (DCP)	2.5	68.95	−42.30	161	125.1*, 89.3	5.3	17
2, 4, 6-三氯酚 2, 4, 6-Trichlorophenol (TCP)	2.5	137.90	−48.89	195	159.0*, 123.0, 95.2	7.1	22
五氯酚 Pentachlorophenol (PCP)	3.0	68.95	−45.00	265	201.8*, 41.6	10.6	33

其它参数(The others parameters): 离子吹扫压力(Ion sweep pressure) 0 Pa, 辅助气压力(Aux gas pressure) 34.48 kPa; 离子传输管温度(Capillary temp.) 300 ℃; 扫描宽度(Scan width) *m/z* 1.000; 扫描时间(Scan time) 1.0 s; 碰撞气压力(Collision gas) 0.2 Pa; 数据类型(Data type) Centroid。*:定量离子 Quantitative ion)。

3 结果与讨论

3.1 固相萃取条件的优化

3.1.1 固相萃取柱的选择 考察了 3 种固相萃取小柱:ODS-C₁₈,ENVI-Chrom 和 HLB。取水样 1 L,加入 DCP, TCP 和 PCP 浓度分别为 0.5,1.5 和 2.5 mg/L 的标准溶液 100 μL,以二氯甲烷-丙酮(1:1,V/V)为洗脱液,其它条件相同,DCP, TCP 和 PCP 的平均回收率(3 次重复实验的平均测定值)分别为 45.2%, 37.3%和 18.8%(C18 小柱);94.0%, 92.2%和 85.9%(HLB 小柱);96.0%, 89.3%和 77.6%(ENVI 小柱)。比较 3 种氯酚的回收率,本实验选取 HLB 固相萃取小柱。

3.1.2 洗脱剂的选择 采用 HLB 固相萃取小柱,用 10 mL 的甲醇、乙腈、丙酮、二氯甲烷和二氯甲烷-丙酮(1:1,V/V)混合溶液分别洗脱,氮吹定容至 1 mL 进行分析。由不同溶剂洗脱酚类化合物的回收情况(表 2)可见,二氯甲烷-丙酮(1:1,V/V)混合溶液洗脱效果最好。

表 2 不同洗脱剂对酚类物质回收率的影响
Table 2 Effect of different eluents on recovery rate

氯酚 Chlorophenols	回收率 Recovery (%, <i>n</i> =3)				
	甲醇 Methanol	乙腈 Acetonitrile	丙酮 Acetone	二氯甲烷 Dichloromethane	二氯甲烷-丙酮 Dichloromethane-Acetone (1:1,V/V)
2, 4-二氯酚 DCP	85.7	72.4	76.4	74.8	94.1
2, 4, 6-三氯酚 TCP	80.2	73.6	77.8	71.3	92.2
五氯酚 PCP	89.8	71.3	81.2	85.0	85.9

3.1.3 洗脱剂用量的优化 采用 HLB 固相萃取小柱,二氯甲烷-丙酮(1:1,V/V)混合溶液为洗脱剂,考察洗脱剂用量(5, 6, 7, 8, 9 和 10 mL)对回收率的影响(图 1)。结果表明,当洗脱剂用量大于 7 mL 时,回收率高,且相差不大,DCP, TCP 和 PCP 的相对标准偏差分别为 3.39%, 2.59%和 1.93%。为了节约氮吹时间,提高效率,保证回收率,本实验洗脱剂用量选择为 8 mL。

3.1.4 水样 pH 值的影响 分别将水样的调节至 pH 2, 4, 7, 9 和 11,进行回收率实验,结果见表 3。

pH=4 时,3 种氯酚的回收率比较高,本实验选择水样 pH=4。

表 3 水样 pH 对氯酚回收率的影响
Table 3 Effect of pH on recovery

氯酚 Chlorophenols	平均回收率 Recovery (%)				
	pH 2	pH 4	pH 7	pH 9	pH 11
2, 4-二氯酚 DCP	85.69	95.84	60.88	71.39	48.03
2, 4, 6-三氯酚 TCP	83.66	89.48	73.79	75.50	71.89
五氯酚 PCP	70.23	91.23	66.80	85.86	87.95

3.2 色谱条件的选择

3.2.1 色谱柱的选择 考察了 BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm×1.7 μm, 美国 Waters 公司)

和 ODS-C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm×5.0 μm, 美国 Supelco 公司)对 3 种氯酚的分析结果,其中,BEH C₁₈ 色谱柱由于采用端基封尾,并且是 1.7 μm 小粒径填料,不仅保证了峰形,而且具有较高的柱效和 LC-MS 检测灵敏度。

3.2.2 流动相的选择 由于电喷雾质谱的电离是在溶液状态电离,因此流动相的组成和配比不但影响化合物的色谱行为,还会影响目标化合物的离子化效率,从而影响灵敏度。实验表明,流动相采用甲酸/甲酸铵缓冲体系,并且酸化至 pH 4 不仅有利于化合物的离子化,同时使 3 种氯酚得到较好的分离,通过梯度洗脱,确定流动相比例和梯度条件。

3.3 质谱条件的选择

将 1 mg/L 的 3 种氯酚标准溶液通过质谱直接进样,全扫描找出准确的[M-H]⁻ 分子离子峰,然后对其进行轰击,以获得二次碎裂产生的子离子。将分子离子和 1~2 个信号强的子离子组成监测离子,以 SMR 模式进行检测。MS 检测条件优化的目的是保证被测离子具有较好的灵敏度和稳定性。考察了喷雾电压、鞘气压力、辅助气压力、离子传输毛细管温度及碰撞电压对测定的影响。结果表明,表 1 所述参数使 3 种氯酚的分子离子都具有较好的灵敏度和稳定性,如图 2 所示。

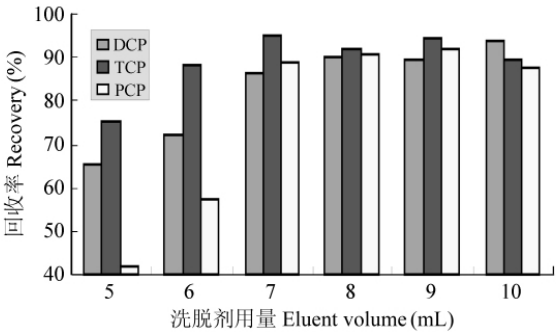


图 1 洗脱剂用量对氯酚回收率的影响
Fig.1 Effect of amount of eluent on recovery

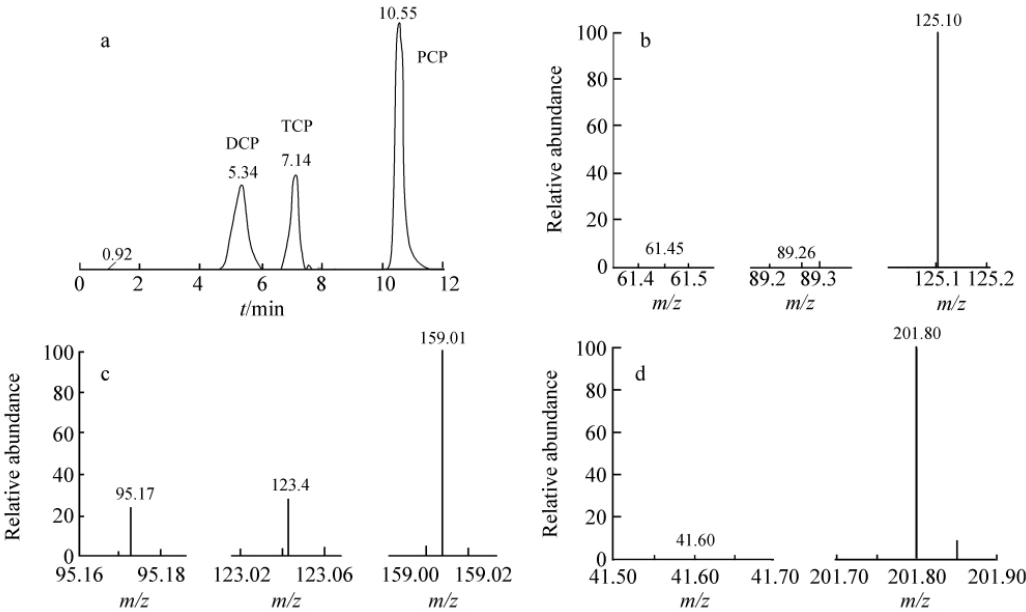


图 2 3 种氯酚色谱图(a)和质谱图(b, c 和 d)
Fig.2 Chromatogram (a) and mass spectrum (b-DCP, c-TCP, d-PCP) of three chlorophenols

3.4 线性范围和检出限

将氯酚混合标准溶液(500 mg/L DCP,1500 mg/L TCP,2500 mg/L PCP)逐级稀释后,DCP 浓度为2.50,

5.00, 10.0, 17.5 和 25.0 $\mu\text{g/L}$; TCP 浓度为 7.50, 15.0, 30.0, 52.5 和 75.0 $\mu\text{g/L}$; PCP 浓度为 1.25, 2.50, 5.00, 8.75 和 12.5 $\mu\text{g/L}$, 采用上述色谱条件, 进样 10 μL , DCP, TCP, PCP 出峰时间依次为 5.3, 7.1 和 10.6 min。以氯酚浓度及相应峰面积做标准曲线, 得到 DCP, TCP 和 PCP 线性方程依次为 $Y=2524X-6029$, $Y=1809X-11341$, $Y=2296X-2894$, 相关系数依次为 0.9993, 0.9996 和 0.9989, 如图 3 所示。

以 3 倍信噪比(S/N)计算检出限(LOD), DCP, TCP 和 PCP 的 LOD 分别为 2.0, 3.0 和 0.1 ng/L 。以 3 倍信噪比(S/N)计算定量限(LOQ), DCP, TCP 和 PCP 的 LOQ 分别为 6.7, 10.1 和 0.3 ng/L 。

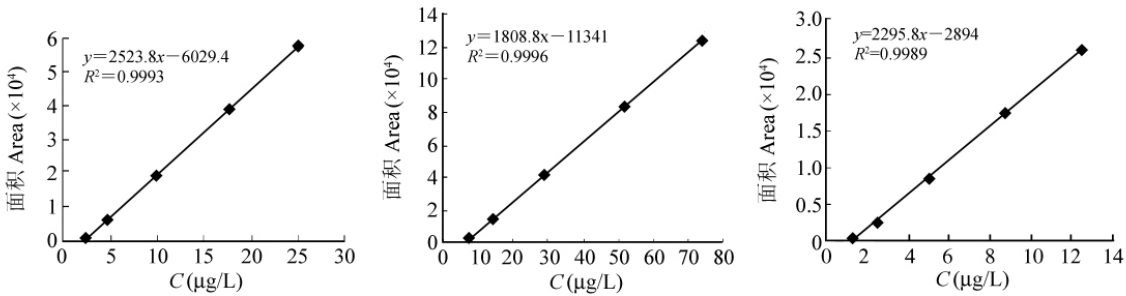


图 3 2, 4-二氯酚、2, 4, 6-三氯酚和五氯酚标准曲线

Fig. 3 Standard curve of DCP, TCP and PCP

3.5 精密度实验

将高、中、低 3 种不同水平的标准溶液分别加入 3 组空白样, 每组平行做 7 次, 经过固相萃取, 采用上述色谱条件, 计算结果的相对标准偏差(表 4)。

3.6 实际样品测定

2010 年 5 月于四川省某市 3 个地点(A, B 和 C)采集实际水样, 分别加入高、中、低浓度标准溶液, 按照样品处理方法富集后, 进样 10 μL , 测定结果见表 5。实验结果表明, 本方法具有灵敏度高、准确度好、精密度好、干扰小的特点, 适用于

集中式生活饮用水地表水水源地特定项目中的污染物 2, 4-二氯酚、2, 4, 6-三氯酚和五氯酚的检测。

表 4 精密度实验

Table 4 Precision experiment ($n=7$)

待测物名称 Name of sample	浓度水平($\mu\text{g/L}$) Lever of concentration	相对标准偏差 RSD ($\%$, $n=7$)
2, 4-二氯酚 DCP	10	9.7
	100	3.4
	1000	2.2
2, 4, 6-三氯酚 TCP	15	14.7
	150	8.2
	1500	7.3
五氯酚 PCP	5.0	10.7
	50	8.9
	500	9.8

表 5 实际水样的加标回收实验

Table 5 Recoveries of target analyte spiked real water samples

化合物名称 Compound	样品来源 Source of sample	样品浓度 Concentration ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 Spiked ($\mu\text{g/L}$)	测定值 Found ($\mu\text{g/L}$)	回收率 Recovery ($\%$)
2, 4-二氯酚 DCP	A	ND	10	7.83	78.3
	B	ND	5	4.96	99.2
	C	1.24	2	3.31	102.3
2, 4, 6-三氯酚 TCP	A	ND	20	17.72	88.6
	C	ND	10	7.54	75.4
	B	4.38	5	8.41	89.7
五氯酚 PCP	C	ND	10	7.05	70.5
	B	ND	5	4.09	81.8
	A	0.73	1	1.63	94.5

ND: 未检出(Not detected).

Reference

- 1 Jin M C, Zhu Y. *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1118(1): 111~117
- 2 Alonso M C, Puig D, Silgoner I, Grasserbauer M, Barecco D. *J. Chromatogr. A*, **1998**, 823(2): 231~239
- 3 Peng J F, Liu J F, Hu X L, Jiang G B. *J. Chromatogr. A*, **2007**, 1139(2): 165~170

- 4 Rodriguez I, Cela R. *Trends in Analytical Chemistry*, **1997**, 16(8): 463~470
- 5 Drinking Water Directive 80/778/EEC. *Commission of the European Communities, Brussels*, **1980**
- 6 Bathing Water Directive 76/160/EEC. *Commission of the European Communities, Brussels*, **1975**
- 7 Callejon R M, Troncoso A M, Morales M L. *Talanta*, **2007**, 71(5): 2092~2097
- 8 Lin C Y, Huang S D. *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1193(1): 79~84
- 9 Campillo N, Penalver R, Hernandez-Cordoba M. *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1125(1): 31~37
- 10 State Environmental Protection Administration of Water and Wastewater Monitoring and Analysis Methods Editorial Board(国家环境保护总局水和废水监测分析方法编委会). *Water and Wastewater Monitoring and Analysis Methods(Fourth Edition)* (水和废水监测分析方法(第四版)). Beijing (北京): China Environmental Science Press(中国环境科学出版社), **2002**: 588~589
- 11 LI Ai-Qiang, CHEN Jun, CHENG Ying(李爱强, 陈 军, 程 滢). *Environmental Science Survey*(环境科学导刊), **2007**, 26(4): 89~90, 93
- 12 ZHANG Lan, LI Shu-Min, YUE Yin-Ling, YING Bo, E Xue-Li, CHEN Ya-Yan(张 岚, 李淑敏, 岳银玲, 应 波, 鄂学礼, 陈亚妍). *Journal of Hygiene Research*(卫生研究), **2006**, 35(1): 92~94
- 13 LIU Yan, YU Wei-Hao, QIAN Yu-Ping(刘 燕, 于伟浩, 钱玉萍). *Industrial Water Treatment* (工业水处理), **2007**, 27(12): 63~65
- 14 WANG Liang, ZHU Hong, SUN Yan-Tao, XU Ying-Jie, WANG Qing-Wei, YAN Yong-Sheng(王 良, 朱 红, 孙艳涛, 徐英杰, 王庆伟, 闫永胜). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2011**, 39(5): 709~712
- 15 ZHANG Chang, GUAN Chun-Mei, CHEN Wen-Hua, LIU Yan-Bin, ZHOU Ya-Ru(张 畅, 管春梅, 陈文华, 刘彦斌, 周亚茹). *Chinese Journal of Health Laboratory Technology* (中国卫生检验杂志), **2003**, 13(2): 196~197
- 16 HUANG Hui-Ling, HE Zhi-Gui, LI Miao, MO Zhen-Fei, SHAN Xi-Wen, LIANG Yi(黄惠玲, 何志贵, 李 渺, 莫振飞, 单锡文, 梁 毅). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2007**, 35(9): 1369~1372
- 17 DING Zhong-Qing, ZHANG Qiong-Yao(丁宗庆, 张琼瑶). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2010**, 38(10): 1400~1404

Simultaneous Determination of 2,4-Dichlorophenol, 2,4,6-Trichlorophenol and Pentachlorophenol in Surface Water by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with Solid Phase Extraction

YANG Qiu-Hong¹, CHENG Xiao-Yan², YANG Ping², QIAN Shu², DAN De-Zhong^{*1}

¹(College of Architecture and Environment, Sichuan University, Chengdu 610065)

²(Environmental Monitoring Center of Sichuan Province, Chengdu 610041)

Abstract A novel method was developed for the simultaneous determination of 2,4-dichlorophenol, 2,4,6-trichlorophenol and pentachlorophenol in surface water by HPLC-MS/MS with solid phase extraction. The sample was concentrated by HLB extraction cartridge, and then eluted with dichloromethane and acetone eluants. The solvent was changed into methanol after drying by nitrogen blow. Quality and quantity analysis was carried out by HPLC-MS/MS with SRM mode. Under the experimental condition, the linear regress equations were $Y=2524X-6029$, $Y=1809X-11341$ and $Y=2296X-2894$, the correlation coefficients were 0.9993, 0.9996 and 0.9989, the detection limits were 2.0, 3.0 and 0.1 $\mu\text{g/L}$, the limits of quantification were 6.7, 10.1 and 0.32 ng/L respectively, and a recovery ranged of 70.5%~102.3% with a RSD between 2.2% and 14.7%($n=7$) were obtained. The method has good innovative, advanced and practical value.

Keywords Chlorophenol; Solid phase extraction; High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Surface water

(Received 24 November 2010; accepted 25 February 2011)