

顶空固相微萃取气相色谱法快速测定 人血中的五氯酚

欧阳运富^① 唐宏兵 吴英 许晓国

(常州市疾病预防控制中心 江苏省常州市新北区泰山路 203 号 213022)

摘要 将全自动顶空固相微萃取装置与气相色谱联用,建立了快速测定人血中五氯酚的新方法。实验优化了人血中五氯酚测定的顶空浓缩和固相微萃取各项技术参数,然后使用毛细管气相色谱法分离,电子捕获检测器定量测定。方法的线性范围为 0.05—100 $\mu\text{g/L}$,相关系数 $r=0.9997$,检出限为 0.02 $\mu\text{g/L}$;加标回收率为 86.7%—92.8%,相对标准偏差为 3.6%—6.7%。该方法简便、快速、灵敏,且无溶剂污染,是测定生物样本中五氯酚理想的方法。

关键词 固相微萃取技术; 气相色谱法; 人血; 五氯酚

中图分类号: O657.7⁺1

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)02-0627-04

1 引言

五氯酚(Pentachlorophenol, PCP)作为杀虫剂、抗菌剂和防腐剂而被广泛使用^[1],从上世纪 50 年代以来,它主要用于杀灭血吸虫的中间宿主——钉螺,而广泛应用于长江中下游地区,由此对环境带来污染和对人体健康产生危害。我国及其他许多国家都将 PCP 作为优先控制的污染物之一^[2-4]。PCP 可通过直接接触(皮肤和呼吸道)或食物链富集进入人体而对人体产生毒性及一系列不良影响。各种途径摄入的 PCP,可经血液循环分布至全身各器官、组织,故血液中的 PCP 浓度可视为近期暴露指标^[5]。因而,建立准确、快速的人血中 PCP 的提取、测定方法在环境监测、风险评估、肿瘤预警等方面具有重要意义。目前,PCP 的检测方法主要有分光光度法^[6]、高效液相色谱法(HPLC)^[7]和气相色谱法(GC)^[8,9]。分光光度法测定灵敏度较低;GC 和 HPLC 一般需要衍生化处理,操作繁琐,重现性较差。本研究选用样品前处理技术——固相微萃取与全自动进样器联用,并采用超声波辅助萃取技术,克服了上述不足,操作简便快速、灵敏度高,且无需使用有机溶剂、受基体影响小,用于人血中 PCP 的测定,取得了满意的结果。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

GC-6890N 气相色谱仪,带电子捕获检测器(ECD,美国安捷伦公司);Combi PAL 全自动进样器(带固相微萃取装置,瑞士 CTC 分析仪器股份公司);85 μm 聚丙烯酸酯(PA)萃取头(加拿大 Supelco 公司);20mL SPME 棕色顶空瓶(配磁性铝盖和内衬聚四氟乙烯膜的密封垫,上海联合层析国际科技有限公司);SK3300LHC 超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司);AG245 万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

① 联系人,电话: (0519) 86682659; 手机: (0) 15306129836; E-mail: ouyang1016@126.com

作者简介: 欧阳运富(1971—),男,湖南省宁远县人,副主任技师,硕士,主要从事环境毒物检测方法 & 分子机理的研究工作。

收稿日期: 2010-05-07; 接受日期: 2010-07-22

五氯酚(PCP)储备液[GBW(E) 080475, 国家标准物质研究中心]: 1.00g/L; 氯化钠(分析纯); H₂SO₄(pH= 2.0)。实验用水为依云矿泉水。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件

色谱柱: HP-5 毛细管柱(30m×0.32mm×0.25μm); 进样口温度: 280℃; 柱温: 80℃保持 2min, 以 10℃/min 升至 120℃, 再以 20℃/min 升至 200℃, 保持 5min; 检测器温度: 300℃; 尾吹气: 高纯氮, 60mL/min; 进样方式: 分流, 分流比= 10:1, 载气流速: 2.0mL/min。

2.2.2 实验过程

准确吸取 1.0mL 人血样品于 20mL SPME 棕色顶空瓶中, 加入 3.0g NaCl 和 1mL 矿泉水, 再加入 8mL pH= 2.0 的 H₂SO₄, 盖紧盖子, 40℃超声萃取 30min, 把样品瓶放入带 Combi PAL 固相微萃取装置的 Combi PAL 全自动进样器中, 80℃加热 20min, SPME 萃取 10min, 280℃热解析3.5min (萃取头参数设置见表 1), 经 GC-μECD 检测分析。

表 1 SPME 萃取头主要参数

加温槽温度(℃)	80	加温槽时间(min)	20	搅拌振荡器速度(r/min)	500
搅拌振荡器开放时间(s)	5	搅拌振荡器关闭时间(s)	2	取样入针深度(mm)	22
萃取时间(min)	10	进样口入针深度(mm)	44	热解析时间(min)	3.5
烤针时间(s)	0	热解析温度(℃)	280	GC 执行时间(min)	15

3 结果与讨论

3.1 萃取头涂层及其厚度的选择

PCP 是极性较强的化合物, 根据相似相溶原理萃取头应选择极性的涂层, 即聚丙烯酸酯(PA)^[10], 实验证明采用它取得了较好的分析效果。

涂层的厚度对待测物的吸附和达到平衡的时间都有一定的影响, 本实验采用 85μm, 这样大大减少了涂层的流失, 减少了色谱峰的拖尾。

3.2 萃取时间和温度的选择

萃取时间的长短直接关系着萃取的效率, 萃取时间太短, 萃取效率太低, 萃取时间太长, 达到动态平衡后萃取效率不会随时间的延长而提高, 反而使分析时间加长。适当升高温度可以提高液上气体浓度, 从而提高分析灵敏度, 但温度太高会影响萃取头的使用寿命。通过实验, 本方法采用 80℃加热 20min, SPME 萃取 10min, 效果最好。

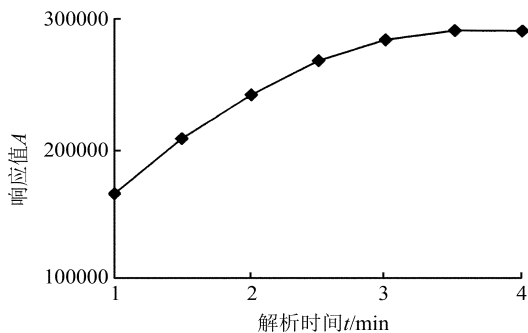


图 1 解析时间对 PCP 响应值的影响

C_{PCP}= 10.0μg/L。

3.3 解析时间和温度的选择

解析温度升高可提高解析速度, 但如果温度太高, 对萃取头固定相的损害也会增加, 实验选定在 280℃下分别解析 1、1.5、2、2.5、3、3.5、4min 分析测定, 结果见图 1。本方法选择最佳的解析时间为 3.5min。

3.4 pH 值对测定的影响

样品中的 pH 直接影响到五氯酚的气液分配系数和纤维固定相的吸附效率, 五氯酚为弱酸(pK_a= 4.74), pH 值降低可使五氯酚电离性减小, 提高气液分配系数和纤维固定相的吸附效率, 提

高方法灵敏度。但酸性过强会损坏纤维的固定相。选择分别加入 8mL pH= 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 的 H₂SO₄ 调节样品 pH 进行测定, 结果表明: 加入 8mL pH 2.0 的 H₂SO₄ 时达到最大响应值, 因此本方法选择在样品中事先加入 8mL pH 2.0 的 H₂SO₄。

3.5 离子强度的影响

在溶液中加入适量氯化钠, 可增强离子强度, 减少样品的溶解度, 抑制 PCP 的电离, 提高气液分配系数, 从而提高萃取效率和分析灵敏度。本实验通过分别加入 0.5、1.0、2.0、3.0、3.6g NaCl (饱和状态) 做了比较, 结果发现在加入 3.0g NaCl 时 PCP 的萃取量最高, 结果与文献报道一致^[11]。

3.6 超声波辅助萃取条件

由于人血的成分较为复杂, 用超声波辅助萃取可以使水溶液中的空气气泡挤破压缩, 从而使样品更为分散, 增加样品分子与水分子之间的接触面积。本实验采用 40℃ 萃取 30min, 取得了理想的效果。

3.7 校准曲线、检出限及精密度

在最佳实验条件下, PCP 浓度在 0.05—100μg/L 范围内呈线性关系, 其线性回归方程为 $A = 28303C(\mu\text{g/L}) - 6122.5$, 相关系数 $r = 0.9997$ 。以 3 倍信噪比计算, 检出限为 0.02μg/L, 换算到样品中为 0.2μg/L。

3.8 方法回收率

对人血样品进行高、中、低 3 个浓度加标回收率测定, 其结果见表 2。

表 2 人血中 PCP 加标回收结果 (n= 6)				
人血样品 PCP 含量 (μg/L)	加标量 (μg/L)	加标后测定值 (μg/L)	回收率 (%)	RSD (%)
0.56	1.0	1.427	86.7	6.7
1.73	5.0	6.20	89.4	5.1
4.87	20.0	23.43	92.8	3.6

3.9 实际样品的检测

用上述方法对常州市 9 个养鱼场的 10 名渔民血样进行了测定, 其中 4 名渔民血样中检出五氯酚, 浓度分别为 0.56、1.26、1.73、4.87μg/L, 其余样品均未检出五氯酚。

4 结论

全自动顶空固相微萃取气相色谱法操作简便, 快捷, 灵敏度高, 无溶剂污染, 是生物样本中五氯酚理想的检测方法。

参考文献

[1] Ho H P, Lee R J, Lee M R. Purge-Assisted Headspace Solid-Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography-Mass Spectrometry for Determination of Chlorophenols in Aqueous Samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, **1213**: 245—248.

[2] 杨淑贞, 韩晓冬, 陈伟. 五氯酚对生物体的毒性研究进展[J]. *环境与健康杂志*, 2005, **22**(5): 396—398.

[3] Wang X W, Luo L J, Ouyang G F *et al.* One-Step Extraction and Derivatization Liquid-Phase Microextraction for the Determination of Chlorophenols by Gas Chromatography-Mass Spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, **1216**: 6267—6273.

[4] Basova T, Plyashkevich V, Hassan A *et al.* Phthabcyanine Films as Active Layers of Optical Sensors for Pentachlorophenol Detection[J]. *Sensors and Actuators B*, 2009, **139**: 557—562.

[5] 常浩. 五氯酚的内分泌干扰作用研究进展[J]. *环境与健康杂志*, 2002, **19**(3): 279—281.

[6] 胡林林, 李鱼, 耿辉等. 紫外分光光度法测定水中五氯酚[J]. *吉林大学学报(理学版)*, 2007, **45**(2): 320—323.

- [7] Sarrión M N, Santos F J, Gákeran M T. Determination of Chlorophenols by Solid-Phase Microextraction and Liquid Chromatography with Electrochemical Detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, **947**: 155—165.
- [8] Ge J C, Pan J L, Fei Z L *et al*. Concentrations of Pentachlorophenol (PCP) in Fish and Shrimp in Jiangsu Province, China[J]. *Chemosphere*, 2007, **69**: 164—169.
- [9] Liu Y, Wen B, Shan X Q. Determination of Pentachlorophenol in Wastewater Irrigated Soils and Incubated Earthworms[J]. *Talanta*, 2006, **69**: 1254—1259.
- [10] 邵昌松, 赵萍, 徐小作等. 水中五氯酚的顶空固相微萃取气相色谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2004, **21**(2): 107—109.
- [11] 曲丽娟, 鲜啟鸣, 邹惠仙. 固相微萃取-气相色谱法测定饮用水及其水源水中的氯酚[J]. 环境污染与防治, 2004, **26**(2): 154—157.

Rapid Determination of Pentachlorophenol in Human Blood by Gas Chromatography with Headspace-Solid Phase Microextraction

OUYANG Yun-Fu TANG Hong-Bing WU Ying XU Xiao-Guo
(Changzhou Center for Disease Control and Prevention, Changzhou, Jiangsu 213022, P. R. China)

Abstract A new method for rapid determination of pentachlorophenol in human blood by gas chromatography with automatic headspace-solid phase microextraction (SPME) was developed. Pentachlorophenol in human blood was extracted with SPME technology, separated by HP-5 chromatographic column and determined by electron capture detector (ECD) under optimized conditions. The linear range of the calibration curve was 0.05—100 $\mu\text{g/L}$ with a correlation coefficient of 0.9997 and the detection limit for pentachlorophenol was 0.02 $\mu\text{g/L}$. The recovery was 86.7%—92.8% and the relative standard deviation was in the range of 3.6%—6.7%. The method is simple, rapid and sensitive without solvent pollution and as a ideal method for determination of pentachlorophenol in organismic samples.

Key words Solid Phase Microextraction Technology; Gas Chromatography; Human Blood; Pentachlorophenol

这真是令人啼笑皆非
——由重大发明写成的论文被判为“没有发表价值”

欢迎作者将被他刊拒绝的佳作再投本刊

在物理学的科技成就中,激光可算是仅次于核能的1项重大发明创造。第1台激光器是1960年由美国物理学家梅曼(见本刊《邮票上的科学家——佼佼者之路》一书中之M4)发明的。然而《物理评论快报》却拒绝刊登梅曼的论文,理由是:这是微波激光物理方面的文章,对快速出版物不再有价值。这真是令人啼笑皆非!

接着,梅曼将论文寄到了英国《自然》杂志,这篇300字的简短文章立即被接受。发表后引起全世界轰动。后来,梅曼被列入了美国发明家名人堂。

为了吸取历史教训,本刊收到的论文,即使其观点与审稿人有尖锐的意见冲突,只要是言之有理,也给予发表。因为“仁者见之谓之仁,智者见之谓之智”(《周易·系辞上》),不同人从不同角度看问题,难免不同。我们欢迎将被他刊判为“没有发表价值”的佳作,再投本刊。

繁荣学术交流事业,需要“宽容”精神!

光谱实验室编辑部