

张秀蓝, 郭婧, 杨文龙, 等. 在线固相萃取-液相色谱法测定水中苯酚类污染物[J]. 环境化学, 2017, 36(1): 201-203.

ZHANG Xiulan, GUO Jing, YANG Wenlong, et al. Determination of Phenols in Water by Online SPE Coupled with High Performance Liquid Chromatography[J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(1): 201-203.

**ThermoFisher**  
**SCIENTIFIC**

## 在线固相萃取-液相色谱法测定水中苯酚类污染物

张秀蓝<sup>1</sup> 郭婧<sup>1</sup> 杨文龙<sup>1</sup> 潘媛媛<sup>2</sup> 郭丽萍<sup>2</sup> 董亮<sup>1</sup> 吴忠祥<sup>1</sup>

(1. 国家环境保护二噁英污染控制重点实验室, 国家环境分析测试中心, 北京, 100029; 2. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 北京, 100080)

**摘 要** 建立了在线固相萃取-高效液相色谱法分析水体中 10 种酚类化合物的分析方法. 样品经滤膜过滤后, 直接进样分析. 首先通过双三元梯度系统中的上样泵实现富集和净化, 然后利用阀切换, 将目标物反冲至分析柱和检测器实现分离和定量. 样品进样体积为 2.5 mL, 检测波长为 270 nm 和 290 nm, 分析时间为 35 min. 方法减少了前处理过程, 相较于气相色谱法和液相色谱法方法缩减了分析时间和人力成本. 该方法在 2.0—100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  范围内线性良好, 10 种酚类化合物的线性相关系数  $R^2 > 0.99$ , 方法检出限为 0.2—1.7  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 满足我国对水体排放标准的监测需求. 方法具有良好的重现性和准确性, 对 10.0、50.0、100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  等浓度的 6 次平行测定 RSD < 15%, 回收率范围 85%—119%. 通过对实际水样(包括饮用水、地表水、地下水和工业排水)测定发现, 采用标准加入法能够有效去除基体干扰, 实现目标物的准确定量.

**关键词** 在线固相萃取, 水体, 苯酚类, 高效液相色谱, 双梯度系统.

苯酚类化合物包含苯酚及其衍生物, 指芳香烃苯环上氢原子被羟基取代的化合物, 是重要的化工原料, 广泛应用于合成橡胶、医药、塑料、涂料等行业中. 苯酚类化合物为原生质毒, 属高毒物质. 在美国 EPA 确定的 129 项水中优先监测物中包含了 11 种酚类化合物, 我国水中优先控制污染物名单中包含了苯酚、五氯酚、间-二甲酚、2,4-二氯苯酚、2,4,6-三氯苯酚和对硝基酚等 6 种. 对于苯酚类化合物, 我国政府已在地表水、地下水、城市供水、生活饮用水、海水和农田灌溉水等水质标准, 以及各行业废水排放标准中均做了明确的规定.

随着色谱技术的快速发展, 苯酚类化合物的监测手段也发生了巨大的变化. 本世纪初我国先后对气相色谱法、液相色谱法在酚类化合物的分析上展开了研究和应用, 建立了较为先进的分析方法. 此外, 随着质谱技术的普及, 建立了《水质 酚类化合物的测定 气相色谱/质谱法》. 然而, 液相色谱法、气相色谱法和气相色谱/质谱法的前处理过程仍然较为复杂, 需要液液萃取或固相萃取实现目标物的富集和背景去除, 在样品浓缩过程中, 不可避免挥发酚的损失. 气相色谱/质谱法还需要对样品进行衍生化处理. 本研究建立了酚类化合物在线固相萃取-高效液相色谱法, 该方法利用双三元高效液相系统将少量水样在线富集后, 通过高效液相色谱技术实现对 10 种酚类化合物的分离和测定, 简化了前处理步骤, 缩短了分析时间, 降低了分析成本.

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

在线固相萃取-高效液相色谱仪: UltiMate<sup>®</sup> 3000 DGLC 双三元液相色谱系统, 配置二极管阵列检测器(DAD)和自动进样器 WPS3000TSL(配置半制备进样组件, 一次进样量 2.5 mL), 柱温箱配置 6 通或 10 通切换阀, 分析色谱柱: Acclaim 120Å C18, 4.6 mm×150 mm, 3  $\mu\text{m}$ , 赛默飞世尔, 美国, 在线固相萃取柱(SPE 柱): SolEx RSLC HRP, 2.1 mm×20 mm, 12—14  $\mu\text{m}$ , 赛默飞世尔, 美国.

试剂和溶剂: 乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ )、甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ )、乙酸( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )均为 HPLC 级, 购自 J. T. Baker, 美国; 乙酸铵( $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ): HPLC 级, 购自 DUKSAN, 韩国; 苯酚类混合标准品(M-8040A-R), 购自 AccuStandard<sup>®</sup> Inc., 美国. 实验用水为高纯水, 电导率 18.2  $\text{M}\Omega$ .

#### 1.2 色谱条件

通过将目标物富集在 SPE 柱上, 通过阀切换将对 SPE 柱反冲实现目标物和背景干扰的分离, 再次阀切换将目标物在分析柱分离并最终检测.

左泵(上样)和右泵(分析)流动相一致, A: 50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  醋酸铵缓冲溶液( $\text{pH} = 4.0$ ), B: 甲醇. 左泵的流速为 2.0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 右泵流速为 0.4  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 进样量 2.5 mL, 柱温 30  $^\circ\text{C}$ , 检测波长 270 nm 和 290 nm, 234 nm 为定性辅助. 梯

度洗脱程序及阀切换时间见表1,目标物保留时间和定量波长见表2.

表1 在线固相萃取梯度洗脱程序及阀切换时间

| 富集泵    |         | 分析泵    |         | 阀      |     |
|--------|---------|--------|---------|--------|-----|
| 时间/min | 流动相 B/% | 时间/min | 流动相 B/% | 时间/min | 位置  |
| 0.0    | 5.0     | 0.0    | 30.0    | 0.0    | 1_6 |
| 1.5    | 5.0     | 8.5    | 30.0    | 1.2    | 2_1 |
| 5.0    | 100.0   | 14.0   | 65.0    | 2.5    | 1_6 |
| 10.0   | 100.0   | 20.0   | 65.0    |        |     |
| 11.0   | 5.0     | 23.5   | 100.0   |        |     |
|        |         | 29.0   | 100.0   |        |     |
|        |         | 31.0   | 30.0    |        |     |
|        |         | 35     | 30.0    |        |     |

表2 目标物保留时间和检测波长

| 目标物           | 苯酚   | 对硝基酚 | 邻甲基酚 | 邻硝基酚 | 2-甲基-4,6-二硝基酚 | 4-氯-3-甲基酚 | 2,4-二氯酚 | 2,4,6-三氯酚 | 2-环己基-4,6-二硝基酚 | 五氯酚  |
|---------------|------|------|------|------|---------------|-----------|---------|-----------|----------------|------|
| RT/min        | 18.8 | 19.9 | 20.5 | 22.0 | 22.8          | 27.3      | 28.1    | 28.4      | 29.2           | 29.4 |
| $\lambda$ /nm | 270  | 270  | 270  | 270  | 270           | 290       | 290     | 290       | 290            | 290  |

## 2 结果与讨论

### 2.1 固相萃取柱和分析柱的选择

在线固相萃取-高效液相色谱技术的核心部分是富集柱和分析柱的选择.固相萃取柱选择为 SolEx RSLC HRP,该款柱子的填料是亲水亲脂型,适用于水溶性较好苯酚类化合物;柱子可耐最高压为 800 bar,阀由 1—6 切换为 2—1 时,固相萃取柱的压力将会迅速增加,约为固相萃取柱和分析柱的加和,为避免由于阀切换柱压瞬间骤高而引起的柱流速,建议使用可耐高压的 SPE 柱.分析柱的选择较为简单,C18 色谱柱是较为常用的分析柱,5  $\mu\text{m}$ ×4.6 mm×150 mm 或分离能力相当的色谱柱即可实现分类化合物的分离.但是,在将高效液相色谱法向在线 SPE 转化的过程中,需要注意避免峰形延展和拖尾的问题.这是由于分析柱上样过程发生在阀从 2—1 向 1—6 切换期间,这段时间内系统的死体积最大,且分析柱和 SPE 柱中的流动相不一致,这都可能造成目标物出峰发生延展或拖尾,因此必须选择分离度更高的色谱柱.对比了 5  $\mu\text{m}$ 、3  $\mu\text{m}$ 、1.8  $\mu\text{m}$  的色谱柱,结果发现使用 5  $\mu\text{m}$  时目标物峰形延展,难以实现分离;使用 1.8  $\mu\text{m}$  时,在阀由 1—6 切换为 2—1 时,柱压过高,超出仪器的耐受值;只有 3  $\mu\text{m}$  能够即实现目标物有效分离,又不超出仪器的承压能力.

### 2.2 方法的检出限、线性范围和重现性

分别测定了 2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  工作溶液,以峰面积对浓度进行线性拟合,得出在 2.0—100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  范围内,10 种苯酚类化合物均有良好的线性相关 ( $R^2 > 0.99$ ),连续 6 次测定 2.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  标准溶液,每种目标物的标准偏差为 0.05—0.51  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,方法检出限根据  $\text{MDL} = t_{(0.99, n=5)} \times S$  计算,为 0.2—1.7  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .定量下限  $4 \times \text{MDL}$ ,为 0.8—6.8  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

另分别测定了 10.0、50.0、100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  标准溶液 6 次,3 个浓度的空白加标中每种目标物的相对标准偏差均 < 15%,加标回收率为 85%—119% 之间,说明本方法具有良好的重现性.

### 2.3 样品的测定

分别取湖水、地下水、某工业排水和实验室自来水各 100 mL,充分均匀后,分别取 10 mL 用 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,根据“1.2”节中色谱条件进行测定,每个样品均测定 3 次.然后,再将 4 种样品各取 10 mL,加入 10 种目标物的混合标准物质,当加标量为 50.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (如表 3 所示)时,湖水、地下水、企业排水和自来水中部分目标物的加标回收率低于 80%,五氯酚的回收率仅有 56%—62%.这可能是由于在线富集时,实际水样中的干扰物产生竞争吸附,降低了部分目标物的富集效率;也有可能是受到基体干扰,目标物的仪器响应降低.因此,笔者采用了标准加入法对各水样重新定量,即针对 4 种水体分别加入标准物质,使得到 5.0+C、10.0+C、20.0+C、50.0+C 和 100.0+C  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的标准系列,根据标准曲线得到目标物浓度 C,再利用该标准曲线对加标回收样品和实际样品重新定量.结果显示,4 组加标样品中各目标物的回收率均得到了改善(见表 3).说明在线固相萃取-高效液相色谱法适用于水样中微量苯酚类污染物的测定;当水样基体较为复杂时,可以采用标准加入法实现对目标物的准确定量.

表3 水体样品和水体样品加标回收结果( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )

| Targets  | 湖水         |            |            | 地下水        |            |            | 饮用水        |            |            | 企业排水       |            |            |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|  | 样品中<br>检测值 | 加标后<br>测定值 | 加标曲<br>线校正 | 样品中<br>检测值 | 加标后<br>测定值 | 加标曲<br>线校正 | 样品中<br>检测值 | 加标后<br>测定值 | 加标曲<br>线校正 | 样品中<br>检测值 | 加标后<br>测定值 | 加标曲<br>线校正 |
| 苯酚 phenol  | <MDL       | 54.1       | 49.7       | <MDL       | 56.3       | 49.8       | <MDL       | 52.8       | 50.6       | <MDL       | 52.8       | 49.8       |
| 对硝基酚<br><i>p</i> -nitrophenol                            | 0.7        | 41.2       | 49.5       | <MDL       | 39.8       | 49.7       | <MDL       | 38.3       | 51.0       | <MDL       | 38.3       | 49.5       |
| 邻甲基酚<br><i>o</i> -cresol                                 | 1.1        | 37.1       | 49.1       | <MDL       | 33.1       | 49.5       | <MDL       | 38.0       | 51.2       | <MDL       | 38.0       | 49.1       |
| 邻硝基酚<br><i>o</i> -nitrophenol                            | <MDL       | 51.4       | 49.8       | <MDL       | 55.3       | 49.8       | <MDL       | 50.1       | 49.8       | <MDL       | 50.1       | 49.6       |
| 2-甲基-4,6-<br>二硝基酚<br>2-methyl-4,6-<br>dinitrophenol      | <MDL       | 36.5       | 49.1       | <MDL       | 34.4       | 49.5       | <MDL       | 37.2       | 49.9       | <MDL       | 37.2       | 49.1       |
| 4-氯-3-甲基酚<br>4-chlorine-3 methyl<br>phenol               | <MDL       | 51.8       | 49.3       | <MDL       | 53.0       | 49.6       | <MDL       | 48.9       | 50.0       | <MDL       | 48.9       | 50.2       |
| 2,4-二氯酚<br>2,4-di chlorophenol                           | <MDL       | 43.5       | 49.0       | <MDL       | 43.3       | 49.7       | <MDL       | 43.3       | 49.9       | <MDL       | 43.3       | 49.2       |
| 2,4,6-三氯酚<br>2,4,6-trichlorophenol                       | <MDL       | 41.3       | 50.2       | 1.6        | 44.1       | 49.9       | 1.7        | 14.3       | 49.5       | 1.7        | 39.0       | 49.5       |
| 2-环己基-4,6-<br>二硝基酚<br>2-cyclohexyl-4,<br>6-dinitrophenol | 6.6        | 41.4       | 46.9       | 1.3        | 44.5       | 50.3       | <MDL       | 24.6       | 47.9       | 4.7        | 36.0       | 50.4       |
| 五氯酚<br>pentachlorophenol                                 | <MDL       | 28.6       | 48.1       | <MDL       | 28.2       | 49.7       | <MDL       | 29.7       | 49.1       | <MDL       | 29.7       | 50.4       |

注:加标量为  $50.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; <MDL:未检出; MDL:方法检出限。

### 3 结论

在线固相萃取-液相色谱法能够快速高效的分析水体中的酚类化合物,方法检出限为  $0.2\text{—}1.7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,定量下限为  $0.8\text{—}6.8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,与液液萃取/气相色谱法的方法检出限和定量下限相当,能够满足我国相关的环境质量控制标准的要求.当样品基体复杂时,可以采用标准加入法实现对目标物的准确定量.通过对实际样品的测定验证了本方法的可行性.