

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¹ 郭婧¹ 杨文龙¹ 潘媛媛² 郭丽萍² 董亮¹ 吴忠祥¹

(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[®] 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 μm , 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 μm , 赛默飞世尔, 美国.

试剂和溶剂: 乙腈(CH_3CN)、甲醇(CH_3OH)、乙酸(CH_3COOH)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[®] 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
λ /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 μm ×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 μm 、3 μm 、1.8 μm 的色谱柱,结果发现使用 5 μm 时目标物峰形延展,难以实现分离;使用 1.8 μm 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 μm 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 μm 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 检测值	加标后 测定值	加标曲 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 <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 <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 <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- 二硝基酚 2-methyl-4,6- 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 4-chlorine-3 methyl 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 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 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- 二硝基酚 2-cyclohexyl-4, 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 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.