

顶空固相微萃取-气相色谱法测定尿中五氯酚

张博, 梅勇, 邹晓雪, 宋冠仪, 刘佩佩, 姬晓宇, 商律

摘要: [目的] 建立顶空固相微萃取-气相色谱法测定尿中五氯酚的方法。[方法] 利用顶空固相微萃取技术, 富集尿中五氯酚, 优化萃取条件和色谱柱, 利用电子捕获检测器测定。[结果] 该方法测定范围为0.50~5.00 mg/L, 相关系数 $r=0.9993$, 检出限为0.09 mg/L, 平均回收率为97.6%~103.7%, 精密度为1.63%~6.78%。[结论] 顶空固相微萃取技术处理尿样简便快速, 检出限低, 结果准确可靠, 可用于职业接触五氯酚人群尿中五氯酚的测定。

关键词: 顶空固相微萃取; 气相色谱; 五氯酚; 尿

Determination of Pentachlorophenol in Human Urine by Headspace Solid Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography ZHANG Bo, MEI Yong, ZOU Xiao-xue, SONG Guan-yi, LIU Pei-pe, JI Xiao-yu, SHANG Lü (School of Public Health, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430065, China). Address correspondence to MEI-Yong, E-mail: meiyong2006@163.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To establish a method for pentachlorophenol determination in human urine by headspace solid phase microextraction coupled with gas chromatography. [Methods] Headspace solid phase microextraction technology was used to enrich pentachlorophenol in urine. The extraction conditions and the chromatographic column were optimized. Pentachlorophenol was determined with electron capture detector. [Results] The linear detection range for pentachlorophenol in urine was 0.50-5.00 mg/L; the correlation coefficient was 0.9993; and the limit of detection was 0.09 mg/L. The average recovery rate for pentachlorophenol was from 97.6% to 103.7%, with relative standard deviations of 1.63%-6.78%. [Conclusion] The method is featured by easy sample preparation, low limit of detection, and high accuracy, and suitable for the determination of pentachlorophenol in worker's urine.

Key Words: headspace solid phase microextraction; gas chromatography; pentachlorophenol; urine

五氯酚(C_6Cl_5OH)因具有杀菌、杀虫、防腐作用而应用广泛。我国曾大规模使用五氯酚钠(PCP-Na)灭杀钉螺, 防控血吸虫病^[1]。五氯酚难以降解, 同时具有致畸、致癌、致突变作用^[2]。研究表明, 受试者摄入五氯酚后, 70%左右从尿中代谢排出^[3]。我国职业接触五氯酚的生物限值为1.5 mg/g肌酐。美国政府工业卫生学家协会(ACGIH)制定的五氯酚的生物接触指数为2 mg/g肌酐^[4]。顶空固相微萃取与气相色谱联用技术^[5]测定尿液中五氯酚, 是利用手柄萃取头上的固相微萃取涂层吸附、萃取尿液中的五氯酚^[6]。萃取头是在一根石英纤维上涂上固相萃取涂层, 外套不锈钢管以保护石英纤维不被折断, 萃取头可在不锈钢管中伸缩。将不锈钢管插入顶空瓶, 伸出萃取头暴露在顶空气体中, 待萃取吸附在气相中达到平衡后, 将萃

取头缩回不锈钢管内, 然后将纤维头取出插入气相色谱汽化室, 热解析涂层上吸附的物质。该方法操作简单, 回收率高^[7]。顶空固相微萃技术适用于基体较为复杂的生物材料^[8-9]、食品^[10-11]、污水^[12]等样品前处理。本研究旨在建立并优化顶空固相微萃取-气相色谱法测定人体尿液中五氯酚的方法, 并将该测定方法进行了实际应用。

1 材料与方法

1.1 仪器

7890B气相色谱仪, 电子捕获检测器(安捷伦, 美国); 色谱柱: HP-5(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm)毛细管柱(安捷伦, 美国); 20 mL顶空瓶(Welch, 美国); 85 μm聚丙烯酸酯(PA)、100 μm聚二甲基硅烷(PDMS)、7 μm聚二甲基硅烷(PDMS)和75 μm碳分子筛/聚二甲基硅氧烷(CAR/PDMS)固相微萃取头(Supelco, 美国); 手动萃取手柄(Supelco, 美国), PGJ-20-AS超纯水机(武汉品冠仪器设备有限公司, 中国)。

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.16342

[作者简介] 张博(1991—), 男, 硕士生; 研究方向: 卫生检验学研究;

E-mail: b.zhang4th@foxmail.com

[通信作者] 梅勇, E-mail: meiyong2006@163.com

[作者单位] 武汉科技大学公共卫生学院, 湖北 武汉 430065

1.2 试剂

五氯酚溶液标准物质(GBW90(E)080475, 1.00mg/mL, 中国计量科学研究院, 中国); 无水硫酸钠、超纯水、氯化钠(分析纯, 国药集团, 中国)。

1.3 样品

收集大学生志愿者尿样于硬质玻璃瓶中, 测定尿比重, 小于1.010和大于1.030的尿样弃去。密封保存在4℃条件下, 7d内备用。

1.4 分析步骤

标准曲线制备: 准确量取0.50 mL五氯酚标准物质溶液, 溶解定容于50.00 mL容量瓶中, 配制成浓度为10.00 mg/L的标准储备溶液。密封避光保存在4℃条件下, 6个月内备用。

取标准储备液, 用空白尿液(大学生志愿者尿样, 经检测不含五氯酚)配制成0.00、0.50、1.00、2.00、3.00、5.00 mg/L的标准系列, 分别量取上述溶液5.00 mL于20.00 mL顶空瓶中, 加2.0 g氯化钠后盖紧摇匀, 80℃水浴平衡后, 顶空萃取30 min, 直接置于进样口(280℃)解析3 min进样, 以保留时间定性, 峰面积定量。

样品测定: 取尿样5.00 mL于20.00 mL顶空瓶中, 加2.0 g氯化钠后盖紧摇匀, 用测定标准系列同样的条件及操作测定尿样和空白, 计算尿样中五氯酚浓度。

由于标准曲线取样量与尿样取样量均为5.00 mL, 且尿样未经稀释, 故可由标准曲线直接查出尿样中五氯酚的浓度。

2 结果

2.1 色谱条件选择

采用HP-5(30 m×0.32 mm×0.25 μm)毛细管柱; 进样口设置为280℃, 解析5 min; 检测器设置为300℃; 柱箱温度: 起始温度为40℃, 保持2 min, 以20℃/min升至240℃, 保持3 min; 不分流条件下, 尿样中五氯酚保留时间为 t_R =12.191 min, 峰形良好, 未发现干扰, 图1为3.00 mg/L五氯酚溶液色谱图。

2.2 萃取条件优化

根据五氯酚的理化性质, 在参考有关文献基础上, 分别使用浓度为0.50、2.00及5.00 mg/L的标准系列对85 μm PA、100 μm PDMS、7 μm PDMS和75 μm CAR/PDMS 4种涂层的萃取效果进行比较。表1显示, 7 μm PDMS和75 μm CAR/PDMS萃取效果较差, 85 μm PA、100 μm PDMS萃取效果较好, 但85 μm PA所得色

谱峰拖尾并有杂峰干扰, 故选择100 μm PDMS萃取涂层进行后续分析。PDMS为聚二甲基硅烷萃取头, 多应用于小分子挥发性非极性物质的富集分析。在该实验条件下同一PDMS萃取头使用200次以内对实验结果无明显影响。

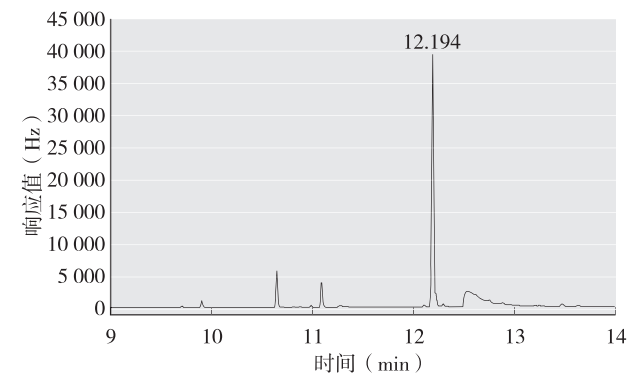


图1 尿样中3.00 mg/L五氯酚溶液色谱图

浓度 (mg/L)	不同萃取头的萃取相应值 (Hz)			
	85 μm PA	100 μm PDMS	7 μm PDMS	75 μm CAR/PDMS
0.50	8 657.20	5 790.54	3 254.60	2 437.98
2.00	36 439.53	22 316.80	12 896.40	9 643.60
5.00	83 769.23	52 399.90	30 247.90	22 368.80

增加盐度可提高顶空方式的萃取效率, 比较了0.0、1.0、2.0、2.5 g NaCl 和0.0、1.0、2.0、2.5 g Na₂SO₄的盐析效果, 结果表明2.0 g NaCl的盐析效果最佳。见图2。

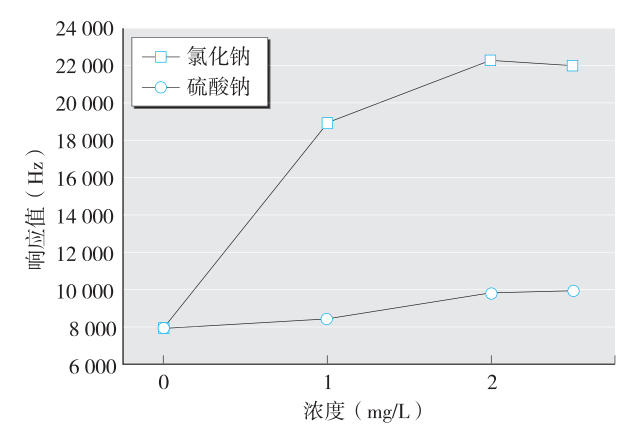


图2 盐析条件选择效果

对于顶空固相微萃取技术来说, 升高温度可以缩短平衡时间, 使萃取效率大大提高; 但温度过高也会导致萃取效率下降。观察0.50、2.00和5.00 mg/L的五氯酚溶液分别在50℃、60℃、70℃、80℃及90℃下萃取的响应值, 结果见图3。平衡温度升高, 响应值相应

升高, 80℃时响应值已满足实验分析要求。因此, 本实验平衡温度选取80℃。在80℃, 保持其它条件不变, 在10~50 min范围内, 观察0.50、2.00和5.00 mg/L的五氯酚溶液在不同平衡时间下响应值的变化。结果显示, 在30 min后响应值变化趋于平稳, 故实验平衡时间选取30 min, 见图4。

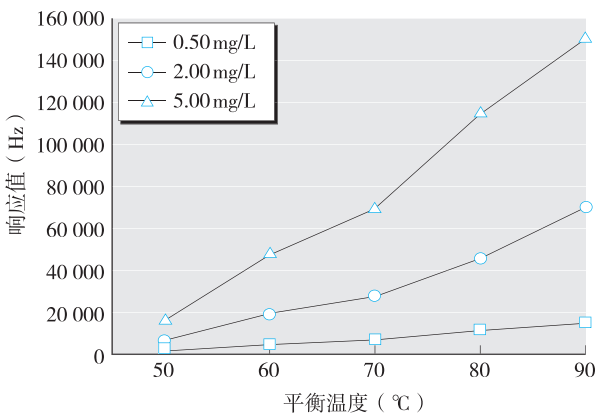


图3 平衡温度对不同浓度五氯酚溶液响应值的影响

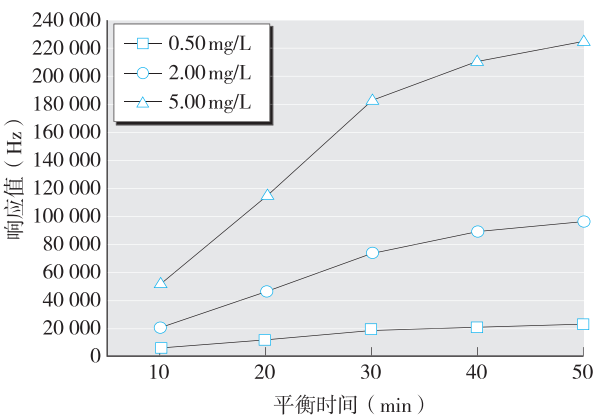


图4 平衡时间对不同浓度五氯酚溶液响应值的影响

2.3 解析条件

在280℃下分别解析3、5、6 min。结果发现, 解析3 min时, 将萃取头进行第2次热解析时有五氯酚的色谱峰出现, 解析时间为5 min及6 min时, 将萃取头进行第2次热解析, 未见五氯酚的色谱峰出现, 故解析时间选为5 min。

2.4 测定范围和检出限

五氯酚在0.50~5.00 mg/L范围内呈现良好的线性关系, 相关系数 $r=0.9993$ 。本法检出限按空白尿样重复测定10次所得的标准差3倍对应的浓度计算, 检出限为0.09 mg/L。

2.5 回收率和精密度

尿样加标0.50、2.00、5.00 mg/L, 密封保存在4℃条

件下, 分别在第1、3、5天, 每天平行进样6次, 方法精密度良好。由表2可见, 平均回收率为97.6%~103.7%, 精密度为1.63%~6.78%。

表2 方法精密度与加标回收试验

加标浓度 (mg/L)	本底值 (mg/L)	测定 时间	测定浓度 均值(mg/L)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD, %)	
						日内	日间
0.50	ND	第1日	0.50	96.0~106.5		2.66	
	ND	第3日	0.54	103.4~109.9	102.8	1.68	1.88
	ND	第5日	0.50	98.0~103.0		1.27	
2.00	ND	第1日	2.03	96.2~104.9		9.15	
	ND	第3日	2.04	99.1~104.9	103.7	5.87	6.78
	ND	第5日	2.15	102.9~110.3		8.03	
5.00	ND	第1日	4.87	95.7~99.0		8.18	
	ND	第3日	4.88	95.4~99.2	97.6	9.91	1.63
	ND	第5日	4.90	96.2~98.9		7.50	

2.6 实际应用

用建立的方法测定20份大学生志愿者尿样, 在12.191 min时没有色谱峰, 未检出五氯酚, 样品色谱图见图5。同时在上述尿样中分别加2.00 mg/L五氯酚溶液, 每个样品测定3次取平均值, 测定回收率在95.5%~110.0%之间, 方法准确可靠。加标样品色谱图见图6。

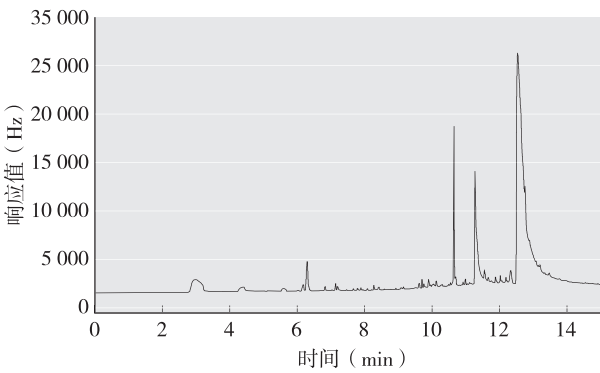


图5 样品色谱图

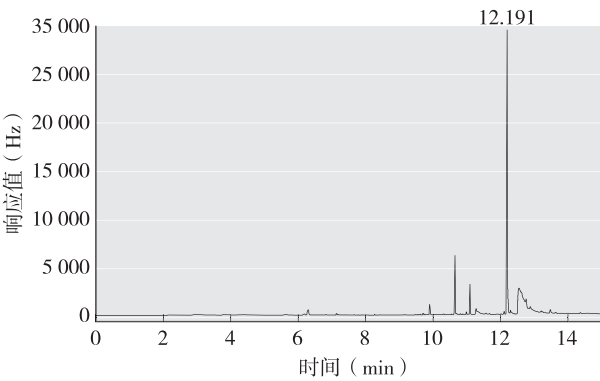


图6 加标样品色谱图

3 讨论

五氯酚被列为优先控制的持久性有机污染物之一,准确简便的测定方法是研究五氯酚在环境中外剂量水平及人体内暴露剂量的基础。目前,国内外检测五氯苯酚常用的分析方法有分光光度法、高效液相色谱法、离子选择电极法和气相色谱法等。由于尿样基体复杂、干扰大,本研究利用顶空固相微萃取技术,对尿样中五氯酚进行萃取,简化了样品的前处理过程。通过选择萃取涂层,优化萃取温度、平衡时间和盐析条件,建立了顶空固相微萃取-气相色谱法测定尿中五氯酚的方法。该方法简便实用,精密度和加标回收率均符合要求,是测定尿中五氯酚的可行方法,可用于职业接触人群尿中五氯酚的测定。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] 李梦耀, 杨婧晖, 钱会. 五氯苯酚测定方法研究进展[J]. 分析测试技术与仪器, 2007, 13(4): 285-290.
- [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] 许文青, 樊柏林, 陈明, 等. 五氯苯酚和五氯苯酚钠毒性作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2011, 25(6): 596-600.
- [4] Castleman BI, Ziem GE. American conference of governmental industrial hygienists: low threshold of credibility[J]. Am J Ind Med, 1994, 26(1): 133-143.
- [5] 胡庆兰. 自制离子液体固相微萃取涂层分析人体尿液中的五氯酚[J]. 应用化学, 2013, 30(3): 323-328.
- [6] 徐溢, 付钰洁. 固相微萃取萃取头制备技术及试验方法的进展[J]. 色谱, 2004, 22(5): 528-534.
- [7] Ouyang GF, Pawliszyn J. SPME in environmental analysis[J]. Anal Bioanal Chem, 2006, 386(4): 1059-1073.
- [8] Polo M, Gómez-Noya G, Quintana JB, et al. Development of a solid-phase microextraction gas chromatography/tandem mass spectrometry method for polybrominated diphenyl ethers and polybrominated biphenyls in water samples[J]. Anal Chem, 2004, 76(4): 1054-1062.
- [9] 王玉飞, 金米聪, 李继革. 顶空固相微萃取-气相色谱法测定尿中苯酚[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(10): 2401-2402.
- [10] Campillo N, Peñalver R, Hernández-Córdoba M. A sensitive solid-phase microextraction/gas chromatography-based procedure for determining pentachlorophenol in food[J]. Food Addit Contam, 2007, 24(7): 777-783.
- [11] Eisert R, Levsen K. Determination of organophosphorus, triazine and 2, 6-dinitroaniline pesticides in aqueous samples via solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection[J]. Fresenius' J Anal Chem, 1995, 351(6): 555-562.
- [12] Limam I, Guenne A, Driss MR, et al. Simultaneous determination of phenol, methylphenols, chlorophenols and bisphenol-A by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry in water samples and industrial effluents[J]. Int J Environ Anal Chem, 2010, 90(3-6): 230-244.

(收稿日期: 2016-04-27)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 洪琪; 校对: 葛宏妍)

(上接第 1186 页)

- 量学研究[J]. 中国辐射卫生, 2006, 15(1): 13-16.
- [5] Koukorava C, Carinou E, Simantirakis G, et al. Doses to operators during interventional radiology procedures: focus on eye lens and extremity dosimetry[J]. Radiat Prot Dosimetry, 2011, 144(1-4): 482-486.
- [6] Sandblom V. Evaluation of eye lens doses received by medical staff working in interventional radiology at Sahlgrenska university hospital[R]. Sweden: The Sahlgrenska Academy, 2012.
- [7] Kim KP, Miller DL. Minimising radiation exposure to physicians performing fluoroscopically guided cardiac catheterisation procedures: a review[J]. Radiat Prot Dosimetry, 2009, 133(4): 227-233.
- [8] 许昌韶. 高等教育教材: 肿瘤放射治疗学[M]. 2版. 苏州: 苏州大学出版社, 2005.

(收稿日期: 2016-06-15)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 洪琪; 校对: 汪源)