

饮用水中 4 种氯酚的单液滴微萃取气相色谱-质谱测定方法研究

崔世勇, 樊珠凤, 姜丽华

摘要: [目的] 研究单液滴微萃取气相色谱-质谱法快速测定饮用水中 4 种氯酚的最优实验条件。[方法] 取 50 mL 水样, 加入内标 2, 4-二溴酚, 经不同条件萃取和衍生后, 采用气相色谱-质谱法检测定量。选择单液滴微萃取最佳实验条件, 并应用于样本中 4 种氯酚的测定, 再将测定结果与标准方法进行比较。[结果] 实验显示最优条件分别为: 萃取剂为正己烷-甲苯(1:1), 衍生剂为 N-叔丁基二甲基甲硅烷基-N-甲基三氟乙酰胺(MTBSTFA), 衍生剂比例为 20%, 搅拌速度为 200 r/min, 萃取时间为 30 min, 溶液离子强度为 200 g/L 的氯化钠溶液。在上述优化的实验条件下, 2-氯酚、2, 4-二氯酚、2, 4, 6-三氯酚、五氯酚在 0.2~100.0 µg/L 质量分数范围内, 其相关系数分别为 0.999 3, 0.999 3, 0.998 7, 0.999 9, 检出限分别为 0.021、0.018、0.026、0.035 µg/L。在 1、10、80 µg/L 三个氯酚水平的平均回收率在 85.6%~104.0%, 相对标准偏差为 2.5%~9.4%。本法测定结果与标准方法比较, 无统计学差异。[结论] 本研究的优化实验条件下采用单液滴微萃取气相色谱-质谱法步骤简单, 快速, 与标准方法测定结果一致性高, 适用于饮用水中氯酚的快速检测。

关键词: 氯酚; 饮用水; 单液滴微萃取; 气相色谱-质谱法; 硅烷化衍生

Determination of Four Chlorophenols in Drinking Water by Single-Drop Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry CUI Shi-yong, FAN Zhu-feng, JIANG Li-hua (Department of Quality Management, Baoshan District Center for Disease Prevention and Control, Shanghai 201901, China) • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To identify the best experimental condition for simultaneous determination of four chlorophenols in drinking water by single-drop microextraction (SDME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). [Methods] The method involved addition of 2, 4-dibromophenol as internal standard into 50 mL water samples, followed by extraction and derivatization at different conditions, and quantification using GC-MS detection. The best conditions for SDME efficiency was applied to analyze four chlorophenols in drinking water. The results determined by this method were compared with those by the national standard method. [Results] The optimized conditions for SDME were summarized as follows: hexane-toluene (1:1) as solvent; N-methyl-(tert-butyldimethylsilyl)trifluoroacetamide (MTBSTFA) as derivatization reagent; 20% MTBSTFA; microextraction was performed in a medium of 200 g/L NaCl, with a stirring rate of 200 r/min for 30 min. Calibration curves for the four chlorophenols (2-chlorophenols, 2, 4-dichlorophenols, 2, 4, 6-trichlorophenols, and pentachlorophenols) were linear within the range of 0.2-100.0 µg/L. The correlation coefficients were 0.999 3, 0.999 3, 0.998 7, and 0.999 9, respectively. The limits of detection were 0.021, 0.018, 0.026, and 0.035 µg/L, respectively. The average recoveries ranged from 85.6% to 104.0% at three spiked levels of 1, 10, and 80 µg/L for each chlorophenol, and the relative standard deviations ranged from 2.5% to 9.4%. No significant difference was found in the results between the proposed method and the national standard method. [Conclusion] The proposed method is simple, rapid, highly consistent with the standard method, and thus suitable for the determination of chlorophenols in drinking water.

Key Words: chlorophenol; drinking water; single-drop microextraction; gas chromatography-mass spectrometry; silylation derivatization

生活饮用水中的氯酚主要来自两方面: 被工农业废水、生活污水污染的水源水; 自来水加氯消毒过程所导致的二次污染。氯酚通过生物链累积作用对人体构成危害, 具有致畸、致癌、致突变效应^[1]。2-氯酚、2, 4-二氯酚、2, 4, 6-三氯酚和五

氯酚均是美国环境保护署和欧盟规定优先监测的有机污染物, 我国环境监测总站也将氯酚列入优先控制污染物的黑名单中^[2]。GB/T 5750.10—2006《生活饮用水标准检验方法》也规定了这 4 种氯酚的检测方法和限值, 但是检测方法操作繁琐, 试剂消耗大。

目前氯酚的检测方法主要有分光光度法^[3]、毛细管电泳法^[4]、高效液相色谱法^[5]、气相色谱法^[6]。分光光度法测定不同的氯酚需采用不同的处理方法, 操作繁琐; 毛细管电泳法对仪器要求高, 不易推广; 高效液相色谱法测定氯酚的种类

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2014.0175

[基金项目] 上海市宝山区科学技术委员会项目(编号: 2011-E-35)

[作者简介] 崔世勇(1974—), 男, 学士, 副主任技师; 研究方向: 卫生理化检验; E-mail: sycui@sina.com

[作者单位] 宝山区疾病预防控制中心质量管理科, 上海 201901

有限;目前使用最多的是气相色谱法。其前处理方法主要有液液萃取(LLE)^[7]、固相萃取(SPE)^[8]、固相微萃取(SPME)^[9]。LLE需要耗费大量的有机溶剂,导致高成本和对环境的污染;SPE需专用设备,且固相萃取小柱的成本较高;SPME纤维头价格昂贵、易碎、易裂。单液滴微萃取(SDME)是一种新型的样品前处理技术^[10],该技术集萃取和浓缩于一体,特别适合于环境样品中痕量、超痕量污染物的测定。本研究拟用单液滴微萃取技术对水中氯酚进行萃取和浓缩,采用气相色谱-质谱法(GC/MS)同时检测饮用水中4种氯酚,探讨最优实验条件,用此法检测饮用水中氯酚,并与标准方法进行比较。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

7890A-5975C气相色谱-质谱仪(美国Agilent公司);75N微量注射器(美国Hamilton公司);728磁力搅拌器(瑞士Metrohm公司);Milli-Q超纯水机(美国Millipore公司);CP224S电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);XW-80A旋涡混合器(上海医科大学仪器厂)。

2,4-二氯酚(2,4-DCP)、五氯酚(PCP)、2,4-二溴酚(2,4-DBP)(德国Dr.Ehrenstortler公司);2-氯酚(2-CP)、2,4,6-三氯酚(2,4,6-TCP)(美国FLUKA公司);N-叔丁基二甲基甲硅烷基-N-甲基三氟乙酰胺(MTBSTFA)(美国REGIS公司);氯化钠为优级纯,甲苯、正己烷、甲醇均为色谱纯(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器分析条件

色谱条件:HP-5ms毛细管色谱柱(30m×0.25mm×0.25μm,美国Agilent公司);高纯氮(99.999%),流速1.0mL/min;柱温:起始温度70℃保持1min,15℃/min升温至115℃,5℃/min升温至155℃,10℃/min升温至300℃保持1min;进样口温度280℃,不分流进样。

质谱条件:EI源电子能量70eV;离子源温度:230℃;四极杆温度:150℃;传输线温度:280℃;采集方式:选择离子(SIM)模式;溶剂延迟:10min。各化合物保留时间、定性和定量离子见表1。

表1 氯酚标样和内标的定性定量离子表

化合物	保留时间(min)	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)			
2-CP	11.38	185	93	95	149	187
2,4-DCP	14.43	219	93	95	183	221
2,4,6-TCP	16.44	255	93	217	253	257
PCP	20.77	323	93	321	325	327
内标2,4-DBP	17.07	311	148	228	307	309

1.3 实验方法

1.3.1 样品处理 取50mL水样置于50mL容量瓶中,加入30μL内标液2,4-DBP(100μg/mL),准确量取该水样4mL于4mL具塞样品瓶中,加入0.8g NaCl后旋涡混合器混匀。用5μL微量注射器抽取2μL萃取溶剂和衍生剂的混合液,将针尖浸入样品溶液上部1/3处,推动微量注射器的推拉杆使萃取溶剂完全推出并形成一个小液滴悬挂在针尖上,分别以事先设定的速度

(100~400r/min)开始搅拌,再分别萃取10~40min后,缓慢拉回推拉杆至1.8μL,将小液滴吸回微量注射器中,立即完全进样进行GC/MS分析。

1.3.2 标准曲线 分别准确称取2-CP、2,4-DCP、2,4,6-TCP、PCP各0.0500g,用甲醇溶解,定容至50mL,得到质量浓度为1.0mg/mL的标准储备液,4℃冰箱保存备用。临用前先用甲醇稀释成1.0mg/L的中间储备液,再分别准确移取中间储备液0.02、0.10、0.50、2.50、5.00、10.00mL于100mL容量瓶中,用纯水稀释至刻度,得到浓度为0.2~100μg/L的混合标准系列。再按“1.3.1”进行处理、测定,总离子流色谱图见图1。以每种氯酚的浓度(μg/L)为横坐标,测得氯酚的峰面积与内标DBP峰面积比为纵坐标,绘制标准曲线。

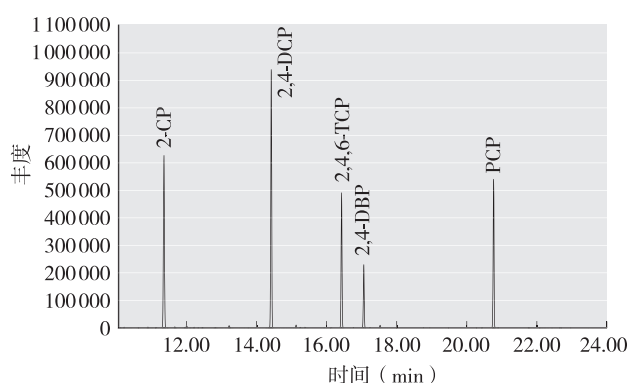


图1 4种氯酚和内标的总离子流色谱图

2 结果

2.1 实验条件的优化选择

2.1.1 萃取溶剂 实验表明,当正己烷-甲苯的混合溶剂中甲苯比例大于正己烷时,氯酚峰变宽或者形成双峰。不同比例正己烷-甲苯对氯酚的萃取效率见图2,结果表明正己烷-甲苯(1:1)对氯酚具有较好的萃取效率。

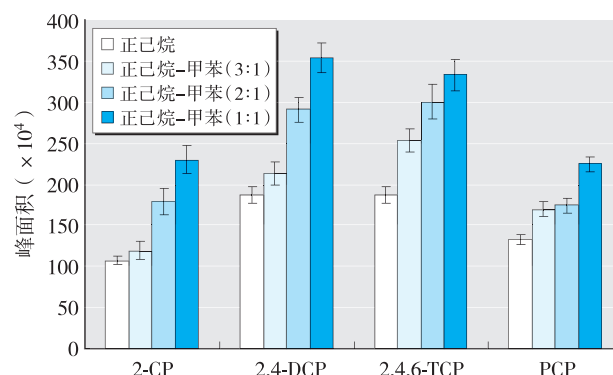


图2 萃取溶剂对氯酚萃取效率的影响

2.1.2 衍生剂 本实验选择MTBSTFA作为衍生剂,与氯酚生成的特丁基二甲基硅烷基(TBDMS)衍生物质谱裂解失去一个特丁基[-C(CH₃)₃]形成相应的高丰度特征离子[M-57]⁺,适于选择离子方式(SIM)定量分析,氯酚衍生物的分子结构式及质谱图见图3。

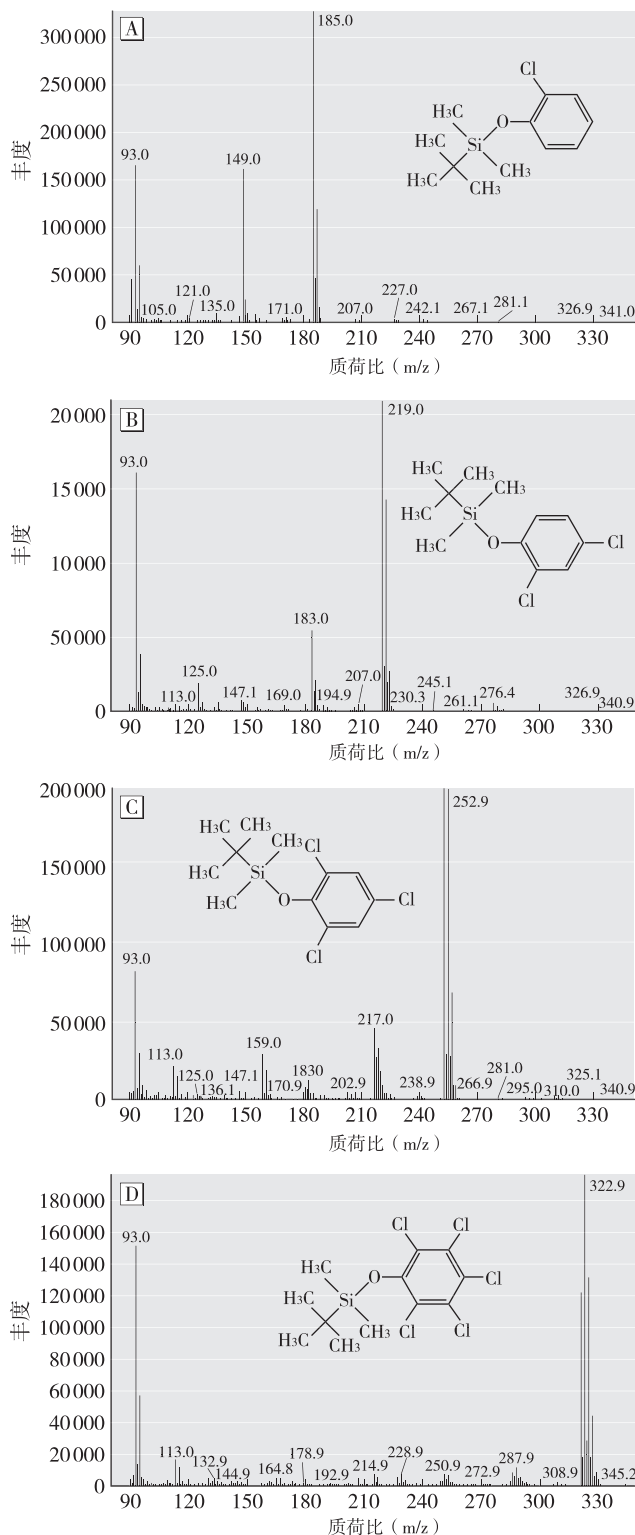


图3 氯酚的TBDMs衍生物质谱图

2.1.3 衍生剂在萃取溶剂中比例 萃取溶剂中不同比例的衍生剂(5%、10%、15%、20%、25%)对检测结果的影响见图4,结果表明衍生剂比例较小时,氯酚不能完全被衍生,响应值较低且重复性差,当MTBSTFA在萃取溶剂中的比例为20%时,氯酚的响应最高且稳定,但当比例>20%时氯酚的响应降低。

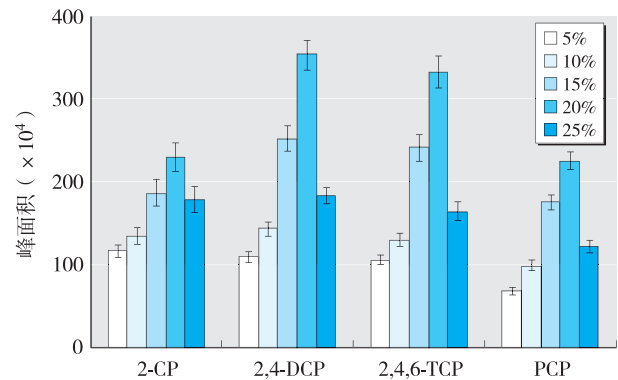


图4 衍生剂的比例对萃取效率的影响

2.1.4 搅拌速度 对比100~400 r/min搅拌速度的萃取效果见图5。结果表明随着搅拌速度的增大对氯酚的萃取效率提高,但搅拌速度>200 r/min时萃取效率降低,且萃取液滴很容易因悬挂不稳而分散到水相中。因此,为了保证萃取液滴的稳定,本实验选择200 r/min的搅拌速度。

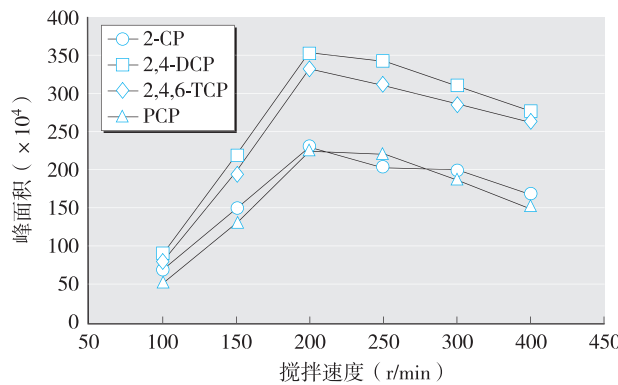


图5 搅拌速度对氯酚萃取效率的影响

2.1.5 萃取时间 不同萃取时间对萃取效率的影响见图6。结果表明随着萃取时间的延长,氯酚的萃取效率不断增加,但当萃取时间超过30 min以后,萃取溶剂分散到样品溶液中的可能性也增大,检测结果的重现性变差,且萃取效率呈下降趋势。因此,选择最接近平衡点且萃取溶剂损失较小的时间点30 min作为萃取时间。

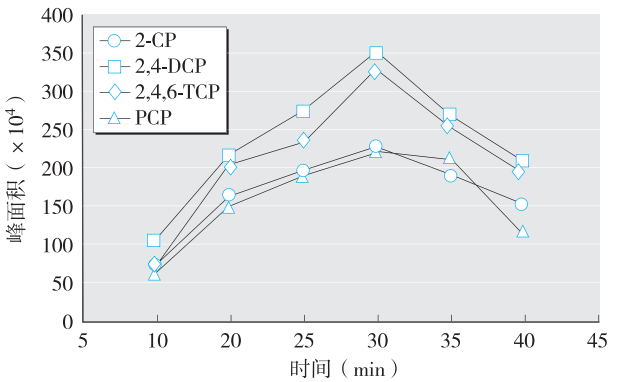


图6 萃取时间对氯酚萃取效率的影响

2.1.6 溶液离子强度 不同浓度 NaCl 溶液中的对氯酚的萃取效率结果表明, NaCl 对氯酚的萃取效率有很大的影响, 在 0~200 g/L 的 NaCl 浓度范围内, 氯酚的萃取效率随 NaCl 浓度的增加而显著增加, 但当 NaCl 的浓度 > 200 g/L 时, 萃取效率反而降低。因此, 选取最优 NaCl 的浓度为 200 g/L。

2.2 检测限、相对标准偏差及回收率

分别配制不同浓度的混合标准溶液, 在上述实验最优条件下找出它们的线性范围。按照国际理论与应用化学联合会 (IUPAC) 检出限计算公式 $L = KS/b$ ($K=3$) (L 为检出限, S 为测定空白值的标准偏差, b 为标准曲线回归方程中斜率) 计算氯酚的检出限 (表 2)。结果表明, 氯酚在 0.2~100 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性相关系数均 > 0.998。

于水样中分别加入含量为 1、10、80 $\mu\text{g/L}$ 的氯酚混合标准物质, 每个样品平行测定 6 次, 计算相对标准偏差及平均回收率 (表 2)。表中平均回收率均为 3 位有效位数。

表 2 4 种氯酚的线性方程、相关系数、检出限和回收率

化合物	线性方程	相关系数	检出限 ($\mu\text{g/L}$)	RSD (%)	平均回收率 (%)		
					1 $\mu\text{g/L}$	10 $\mu\text{g/L}$	80 $\mu\text{g/L}$
2-CP	$\hat{Y}=0.0137X-0.0056$	0.9993	0.021	5.7~8.4	92.7	88.4	102
2, 4-DCP	$\hat{Y}=0.0212X-0.0271$	0.9993	0.018	2.5~7.6	101	91.3	98.7
2, 4, 6-TCP	$\hat{Y}=0.0200X-0.0327$	0.9987	0.026	3.3~8.1	89.5	87.9	96.4
PCP	$\hat{Y}=0.0134X-0.0029$	0.9999	0.035	4.1~9.4	93.6	85.6	104

2.3 样品测定

应用本研究建立的检测方法, 分别对 20 件水样进行检测, 结果表明, 其中 6 件样品均有不同种类和含量的氯酚检出, 结果见表 3。其余 14 件样品氯酚含量均小于检出限。

表 3 水样中氯酚的测定结果 ($\mu\text{g/L}$, $n=3$)

化合物	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6
2-CP	<0.021	<0.021	0.592	<0.021	0.553	<0.021
2, 4-DCP	0.108	0.790	0.628	0.185	2.276	0.227
2, 4, 6-TCP	0.114	0.235	0.310	0.082	0.673	0.129
PCP	0.261	1.186	0.135	0.136	1.430	0.148

2.4 与标准方法的比较

分别采用单液滴微萃取气相色谱-质谱法 (以下简称“微萃取法”) 与标准方法 GB/T 5750.10—2006《生活饮用水标准检验方法》测定样品中氯酚含量。经 t 检验, 均 $P>0.05$ (表 4)。

表 4 微萃取法与标准检验方法测定结果对比 ($\mu\text{g/L}$)

样品 序号	2-CP		2, 4-DCP		2, 4, 6-TCP		PCP	
	微萃取法	国标法	微萃取法	国标法	微萃取法	国标法	微萃取法	国标法
1	10.90	11.6	24.70	25.8	14.400	13.7	0.716	0.724
2	3.72	3.59	0.628	0.661	0.310	0.332	0.135	0.148
3	21.30	22.4	35.5	32.0	21.4	23.1	3.53	3.20
4	4.28	4.03	5.29	5.66	3.66	3.95	7.11	6.77
5	62.30	61.8	67.2	63.7	41.8	38.5	6.53	6.12
6	94.10	98.6	90.2	88.3	72.4	69.3	10.3	10.7
P	0.289		0.195		0.343		0.425	

[注] 表中结果数据均为 3 位有效位数。

3 讨论

单液滴微萃取技术的关键是萃取溶剂的选择, 其选择的基本原则是“相似相溶原理”, 即溶剂的性质必须与待测物的性质相匹配, 才能保证溶剂对待测物有较强的萃取富集能力^[11], 同时要求萃取溶剂水溶性和挥发性相对较低且在仪器分析时容易与待测物分离。本实验选取了二氯甲烷、氯仿、不同体积比的正己烷-甲苯作为萃取溶剂。二氯甲烷和氯仿形成的液滴不能长时间稳定停留在注射器针头, 不适宜用作本实验的萃取溶剂, 可能是它们在水中的溶解度和比重较大造成的。甲苯含芳香结构, 与氯酚结构相似, 因此互溶性好、萃取效率高, 但是由于甲苯沸点较高容易使氯酚形成拖尾峰。为了降低萃取溶剂的沸点, 本实验采用沸点和水溶性较低的正己烷与甲苯互溶成混合溶剂, 则可有效保证氯酚的萃取效率并改善色谱分离效果。

硅烷化试剂是一种常见的气相色谱衍生剂, 通过硅烷基取代羟基、羧基、巯基等的活泼氢而进行衍生反应, 生成硅醚或硅脂。氯酚羟基上的活泼氢易与硅烷化试剂发生衍生反应。根据试剂的反应性、选择性、挥发性、副产物的形成等因素, MTBSTFA 和 BSTFA 应用最多, 与待测物反应生成相应的特丁基二甲硅烷基 (TBDMS) 衍生物和三甲硅烷基 (TMS) 衍生物。TBDMS 衍生物比 TMS 衍生物对水更稳定, 而且能给出有用的质谱碎片, 挥发性更强^[12]。这是因为 TBDMS 衍生物的硅-氧键被较大骨架结构的叔丁基保护免受水分子的进攻, 在反应体系中有水的条件下表现更稳定; 另外 MTBSTFA 硅烷化氯酚后生成的衍生产物有较大的分子量, 不易变化分解, 在质谱分析中可有效地减少基体干扰。因此本实验选择 MTBSTFA。

为了使氯酚能更容易通过两相界面, 缩短萃取时间, 得到更好的重现性, 在萃取过程中, 需对样品溶液进行搅拌, 搅拌速度是影响分析的重要因素。根据对流-扩散的膜动力学理论, 搅拌可降低扩散膜层的厚度^[13-14], 增加氯酚在水相中的扩散系数, 提高氯酚向萃取溶剂的扩散速率, 缩短达到平衡的时间, 从而提高萃取效率。但如果搅拌速度过快, 样品溶液内部会产生气泡附着在液滴上, 阻碍扩散过程, 影响测定的精密性, 并且加速有机溶剂的流失, 降低萃取效率。

单液滴微萃取过程是氯酚在样品溶液与萃取溶剂之间的液液分配过程, 达到平衡前, 萃取溶剂内部氯酚的浓度会随着萃取时间的增加而增大, 达到动态平衡后, 萃取溶剂内部氯酚的浓度不再随时间的增加而变化。但是由于萃取溶剂在水中均有一定的溶解度 (V/V, 正己烷 0.014%、甲苯 0.052%), 随着萃取时间的增加, 一部分萃取溶剂会溶解在水溶液中^[13-14], 体积本来就不大的有机液滴会出现一定的损失, 造成部分已富集到液滴内部的氯酚重新分散到水中。为了保证得到较好的重现性, 萃取时间必须严格控制。

氯酚在萃取溶剂和样品之间的分配系数受样品基体的影响, 当样品基体发生变化时, 分配系数也会发生变化。向样品溶液中加入 NaCl, 可以增加溶液的离子强度, 水分子在盐离子周围发生水合作用, 通过盐析等反应降低氯酚在水溶液中的溶解度, 增大分配系数, 提高氯酚在有机相中的分配量, 从而提高分析方法的灵敏度^[15]。但当 NaCl 浓度超过 200 g/L 时, 会

减小氯酚进入液滴的扩散速度, 由于电离反应反而降低萃取效率, 而且萃取液滴容易溶解到水相中带来较大的测定误差。

采用单液滴微萃取气相色谱-质谱法测定水中的氯酚, 装置简单, 成本低廉, 富集效果好, 所需要的有机溶剂非常少, 是一项环境友好的样品前处理技术, 方法操作简便、灵敏度高、结果准确, 满足卫生标准规范的要求, 适合水中氯酚的检测和突发事件的快速检测, 具有一定的应用价值。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1] 王晓东, 张光辉, 顾平, 等. 水体中氯酚类污染物的生物降解性研究进展[J]. 中国给水排水, 2008, 24(16): 17-21.
- [2] 王彦丽. 多氯酚污染物的降解研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(30): 14858-14861.
- [3] 胡林林, 李鱼, 耿辉, 等. 紫外分光光度法测定水样中五氯酚[J]. 吉林大学学报: 理学版, 2007, 45(2): 320-323.
- [4] ZHANG LH, ZHANG CJ, CHEN X, et al. In-capillary solid-phase extraction-capillary electrophoresis for the determination of chlorophenols in water[J]. Electrophoresis, 2006, 27(16): 3224-3232.
- [5] SHARMA N, JAIN A, SINGH V K, et al. Solid-phase extraction combined with headspace single-drop microextraction of chlorophenols as their methyl ethers and analysis by high-performance liquid chromatography-diode array detection[J]. Talanta, 2011, 83(3): 994-999.
- [6] FATTAHI N, ASSADI Y, HOSSEINI MR, et al. Determination of chlorophenols in water samples using simultaneous dispersive liquid-liquid microextraction and derivatization followed by gas chromatography-electron-capture detection[J]. J Chromatogr A, 2007, 1157(1/2): 23-29.
- [7] 高学杰, 张毅, 孙仕萍. 毛细管气相色谱法测定水中 2, 4, 6-三氯酚和五氯酚[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(5): 1098-1099.
- [8] PADILLA-SÁNCHEZ JA, PLAZA-BOLAÑOS P, ROMERO-GONZÁLEZ R, et al. Simultaneous analysis of chlorophenols, alkylphenols, nitrophenols and cresols in wastewater effluents, using solid phase extraction and further determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Talanta, 2011, 85(5): 2397-2404.
- [9] REGUEIROA J, BECERRIL E, GARCIA-JARES C, et al. Trace analysis of parabens, triclosan and related chlorophenols in water by headspace solid-phase microextraction with in situ derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2009, 1216(23): 4693-4702.
- [10] JAIN A, VERMA KK. Recent advances in applications of single-drop microextraction: A review[J]. Anal Chim Acta, 2011, 706(1): 37-65.
- [11] PALIT M, PARDASANI D, GUPTA A, et al. Application of single drop microextraction for analysis of chemical warfare agents and related compounds in water by gas chromatography/mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2005, 77(2): 711-717.
- [12] SCHUMMER C, DELHOMME O, APPENZELLER BM, et al. Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis[J]. Talanta, 2009, 77(4): 1473-1482.
- [13] ZHAO L, LEE HK. Application of static liquid-phase microextraction to the analysis of organochlorine pesticides in water[J]. J Chromatogr A, 2001, 919(2): 381-388.
- [14] HOU L, LEE HK. Application of static and dynamic liquid-phase microextraction in the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. J Chromatogr A, 2002, 976(1/2): 377-385.
- [15] JEANNOT MA, PRZYJAZNY A, KOKOSA JM. Single drop microextraction-Development, applications and future trends[J]. J Chromatogr A, 2010, 1217(16): 2326-2336.

(收稿日期: 2013-12-18)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 洪琪; 校对: 丁瑾瑜)

【告知栏】

《环境与职业医学》杂志开通优先数字出版

《环境与职业医学》杂志已与中国知网(《中国学术期刊》光盘版电子杂志社)签订优先数字出版协议。从2013年7月1日起, 本刊已录用待发表的论文, 先于印刷版出版日期在中国知网优先出版数字期刊。凡投稿至本刊, 通过审理加工并终审被录用的论文, 将于印刷版排版前在中国知网的数字期刊优先出版(印刷版出版后将替换优先出版的数字化版本)。