文章编号：1006-3617(2011)04-0250-03　　中图分类号：R1　　文献标志码：A

【实验方法】

固相微萃取气相色谱法测定鱼胆中的五氯酚

吴英，许晓国，欧阳运富

摘要：［目的］研究运用自动固相微萃取（SPME）超声波辅助的萃取技术与气相色谱联用方法测定鱼胆汁中的五氯酚含量。［方法］优化鱼胆中五氯酚的顶空浓缩和微萃取技术，然后使用HP-5、DB-17毛细管气相色谱法分离，电子捕获检测器定量测定。［结果］该方法线性范围为0.08~100.00 μg/L，相关系数 r=0.9997，检出限为0.053 μg/L，加标回收率为81.5%~92.6%，相对标准偏差为3.6%~6.3%。［结论］固相微萃取气相色谱法简便、快速、灵敏，且无溶剂污染，是测定鱼胆中五氯酚含量的理想方法。

关键词：固相微萃取技术；气相色谱法；五氯酚；鱼胆

Determination of Pentachlorophenol in Fish Gall Bladder by Solid Phase Microextraction Gas Chromatography　*WU Ying*, *XU Xiao-guo*, *OUYANG Yun-fu*（*Changzhou Center for Disease Control and Prevention*, *Changzhou*, *Jiangsu* 213022, *China*）

Abstract:［Objective］To establish determination methodology of pentachlorophenol in fish gall bladder by automatic solid-phase microextraction（SPME）with ancillary extraction of supersonic wave and gas chromatography.［Methods］Pentachlorophenol in fish gall bladder was extracted using optimized SPME technology, separated by HP-5 and DB-17 chromatographic columns and the content of pentachlorophenol in fish gall bladder was determined by electron capture detector（ECD）under optimized conditions.［Results］The linear range of the calibration curve was 0.08-100.00 μg/L with a correlation coefficient of 0.9997 and the detection limit for pentachlorophenol was 0.053 μg/L. The recovery rates were between 81.5%-92.6% and the relative standard deviations were between 3.6%-6.3%.［Conclusion］The method is simple, rapid and sensitive without solvent pollution, which is a ideal method for determination of pentachlorophenol in fish gall bladder.

Key Words: solid-phase microextraction; gas chromatography; pentachlorophenol; fish gall bladder

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20世纪50年代以来，它主要用于杀灭血吸虫的中间宿主——钉螺而广泛使用于长江中下游湖沼水网地区，因此使渔业的养殖水域环境受到不同程度的污染，影响到鱼类的健康生长，甚至造成鱼类死亡[2]。五氯酚在鱼胆汁中有较强的生物富集性，比其在血浆、组织液和周围水域中的浓度高得多，通过对鱼胆汁的分析就可以反映出水域中五氯酚的污染状况。

本研究拟利用全自动固相微萃取（SPME）超声波辅助萃取技术对鱼胆汁中的五氯酚进行萃取，以气相色谱-微电子捕获检测器（GC-μECD）[3-4]对9个鱼塘中鲫鱼的鱼胆汁进行检测分析，讨论各种实验条件对分析结果的影响。本文报道该研究结果。

1　材料与方法

1.1　主要试剂

五氯酚钠（纯度为98%）：在万分之一电子天平上称取10.6 mg，用甲醇配制成1.06 mg/mL的标准储备液，取标准储备液1.0 mL于100 mL容量瓶中用矿泉水定容至刻度得浓度为10.6 μg/mL的标准使用液；氯化钠（分析纯）；氢氧化钠（分析纯）；H_2SO_4（pH=1.5）。

1.2　仪器及条件

6890N-μECD气相色谱仪（安捷伦公司）；HP-5毛细管柱（30 m×0.32 mm×0.25 μm）；DB-17毛细管柱（30 m×0.53 mm×1.0 μm）；Combi PAL 固相微萃取装置，Combi PAL全自动进样装置，85 μm聚丙烯酸酯（PA），20 mL SPME棕色顶空瓶（配磁性铝盖和内衬聚四氟乙烯膜的密封垫）（联合层析国际科技有限公司）；超声波清洗仪（上海科导超声仪器有限公司），万分之一的电子分析天平（梅特勒-托利多公司）。色谱条件：以高纯氮为载气，恒流流速2.0 mL/min（HP-5）及3.4 mL/min（DB-17）；进样口温度260 ℃，分流比=10∶1；检测器温度280 ℃；柱温：恒温220 ℃，8 min。

1.3　标准曲线绘制

分别取浓度为10.6 μg/mL的五氯酚钠标准使用液10、20、40、80、160 μL于10 mL容量瓶中，用矿泉水定容至刻度得到标准系列溶液，取各标准系列溶液1.0 mL于20 mL SPME棕色顶空瓶中，加入3.0 g NaCl，再加入9 mL pH=1.5的H_2SO_4，得标

［作者简介］吴英（1972—），女，本科，学士，主管技师；研究方向：卫生理化检验；E-mail：wuy0616@qq.com
［作者单位］常州市疾病预防控制中心，江苏 常州 213022

准曲线的测定浓度为：1.06、2.12、4.24、8.48、16.96 μg/L，立刻盖紧瓶盖，超声波 40℃萃取 30 min，把样品瓶放入带 Combi PAL 固相微萃取装置的 Combi PAL 全自动进样装置中，80℃加热 20 min，SPME 萃取 10 min，280℃解吸 3.5 min，经 GC-μECD 检测分析。每个浓度测定 3 次，以 3 次测定的平均响应值（峰面积）与相应的浓度绘制标准曲线。

1.4　样品测定

称取鱼胆汁样品 1.00 g（精确到 0.01）于 20 mL SPME 棕色顶空瓶中，加入 1 mL 依云矿泉水，依据“1.3”的操作步骤进行测定，单位重量鱼胆汁样品中 PCP 的含量计算：X（μg/kg）=C·10.0/m，式中，C 为从标准曲线上查得的样品浓度，μg/L；m 为取样量 g，10.0 为定容体积，mL。

1.5　萃取头的选择

萃取头涂层的厚度，对待测物的吸附和达到平衡的时间都有一定的影响。萃取头涂层薄，待测物未完全吸附就会降低回收率；萃取头涂层厚，对待测物吸附量大，即会降低最低检出限。但是，涂层越厚，所需平衡萃取时间越长，解吸温度越高，涂层流失越快，会使分析速度减慢，萃取头的使用寿命缩短。综合考虑，本实验采用 85 μm 萃取头。

2　结果

2.1　pH 值选择

五氯酚钠只有在酸性条件下才能转化成五氯酚，酸度不够，不能转化成五氯酚，就不能被萃取头萃取。但酸性过强将脱离 PA 萃取头使用的条件（pH 1.0~11.0），因此只有在合适酸度的情况下才能达到良好的分析效果。

本实验对在鱼胆汁中加入 pH 1.0~5.0 的 H_2SO_4 分别进行了分析，实验证明只有在 H_2SO_4 pH = 1.5 的前提下检测结果才是最佳，见图 1。

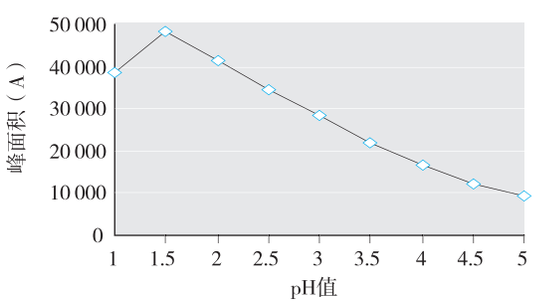


图 1　pH 值对 PCP 测定的影响

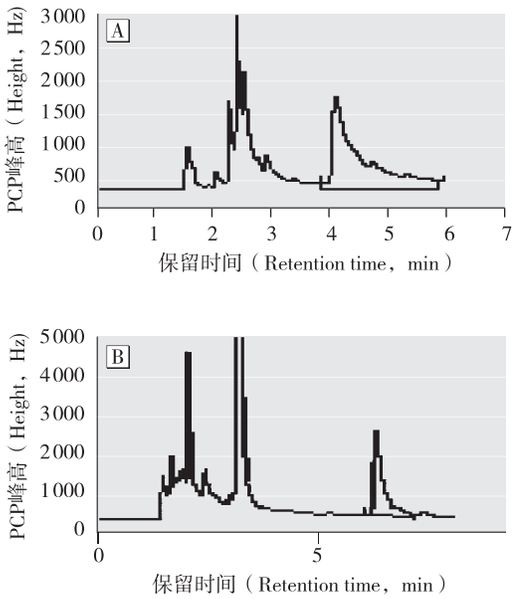
Figure 1　Effect of pH on the determination of PCP

2.2　色谱柱选择

到目前为止现有的文献大多采用 HP-5 毛细管柱，该柱为非极性柱，PCP 的色谱峰拖尾严重，峰形较宽，本实验采用中等极性的 DB-17 毛细管柱，PCP 的色谱峰较为理想，见图 2。

2.3　离子强度选择

在溶液中加入氯化钠，可增大溶液的离子强度，减少样品的溶解度，抑制 PCP 的电离，提高气液分配系数，提高萃取量和分析的灵敏度。本实验通过分别加入 0.5、1.0、2.0、3.0、3.6 g NaCl 做了比较，结果发现在加入 3.0 g NaCl 时 PCP 的萃取量最高，灵敏度最好。



A：HP-5 测定 PCP 的色谱图；B：DB-17 测定 PCP 的色谱图

图 2　不同色谱柱测定的 PCP 的色谱图

Figure 2　The gas chromatogram of different chromatographic column

2.4　标准曲线和检出限

在最佳实验条件下，PCP 浓度在 0.08~100.00 μg/L 范围内呈线性关系，其线性回归方程为 $y = 500.93x - 34.80$，相关系数 r 为 0.999 7。以 3 倍信噪比计算，最低检测浓度为 0.053 μg/L，换算到样品中为 0.53 μg/kg。

2.5　准确度和精密度

2.5.1　准确度的测试　应用加标回收法。对 1.00 g 鱼胆汁样品进行测定，测得其值（<0.53 μg/kg），然后取该样品 9 份，每份 1.00 g，每 3 份分别加入 1、5、25 μL 的浓度为 10.6 μg/mL 标准使用液（加标浓度分别为 1.06、5.30、26.50 μg/L），依据“1.3”的操作步骤进行测定，由平均值计算加标回收率，结果见表 1。

2.5.2　精密度的测试　选择测定方法线性范围内的低、中、高 3 个浓度 1.06、5.30、26.50 μg/L，每个点做 6 次，相对标准偏差测试结果见表 1。

表 1　方法的回收率和精密度

Table 1　The results of recovery and precision test（n=6）

加标量（μg/L）	测定值（μg/L）	回收率（%）	相对标准偏差 RSD（%）
1.06	0.864	81.5	6.3
5.30	4.660	87.9	3.6
26.50	24.540	92.6	4.1

2.6　实际样品的检测

用上述方法对 9 个鱼塘的鲫鱼鱼胆汁中 PCP 的含量进行了测定，结果见表 2。

表 2　鱼胆中 PCP 的检测结果

Table 2　The analytical results of PCP in fish gall bladder

样品编号	检测结果（μg/kg）
1	<0.53
2	12.60
3	<0.53
4	<0.53
5	5.42
6	20.19
7	<0.53
8	31.56
9	<0.53

2　讨论

用SPME超声波辅助的萃取技术，测定鱼胆汁中的五氯酚受萃取头涂层厚度、解吸温度、萃取时间、超声波辅助前处理、酸度条件等多方面条件的影响，本实验对以上条件进行了优化。

萃取时间的长短会直接关系着萃取的效率。萃取时间短，萃取效率就低，但是，萃取时间太长，达到动态平衡后萃取效率非但不会随时间的延长而提高，反而会使分析时间加长，故本实验采用80℃加热20 min，SPME萃取10 min。解析温度亦会直接影响检测的结果，如果温度太低解析不完全，温度太高由将会增加固定相损伤从而缩短萃取头的寿命，本实验采用280℃解析3.5 min。

由于鱼胆汁的成分较为复杂，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30 min，取得了理想的效果。

由于本实验的关键在于酸度的控制，因此酸的种类选择尤其重要。本实验对常用的HCl和H_2SO_4分别进行了实验，结果发现用H_2SO_4效果较为理想，因为HCl是挥发性酸，当气液达到平衡时顶空气中将有一部分HCl酸雾，它不仅会影响酸度的控制也将使色谱峰中出现更多的杂峰从而影响结果的判断。

本研究采用自动固相微萃取气相色谱法检测鱼胆汁中的五氯酚，操作简便、快捷，灵敏度高，无溶剂污染，是检测鱼胆汁中五氯酚较为理想的方法，可用于大规模的环境监测分析。

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]. J Chromatogr 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]邰昌松，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.

[4]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.

[5]谢秀琼. 现代中药制剂新技术[M]. 北京：化工出版社，2004.

（**收稿日期**：2010-05-20）

（英文编审：金克峙；编辑：徐新春；校对：洪琪）

（上接第 249 页）

时，则表明标准曲线的准确性好。本试验中，由标准曲线求得的两支质控样品的浓度均在标准样品的定值范围内，表明本标准曲线的准确性好，能够准确测量未知样品的浓度。

参考文献：

[1]崔九思. 室内空气污染检测方法[M]. 北京：化学工业出版社，2002：1-33.

[2]中华人民共和国卫生部，国家环境保护总局. GB/T 18883—2002 室内空气质量标准[S]. 北京：中国环境科学出版社，2002.

[3]中华人民共和国卫生部. GB 11737—89 居住区大气中苯、甲苯和二甲苯卫生检验标准方法　气相色谱法[S]. 北京：中国标准出版社，1989.

[4]国家环境保护局. GB/T 14677—1993 空气质量甲苯、二甲苯、苯乙烯的测定　气相色谱法[S]. 北京：中国标准出版社，1993.

[5]中华人民共和国卫生部. GBZ/T 160.42—2007 工作场所空气有毒物质测定　芳香烃类化合物[S]. 北京：人民卫生出版社，2007.

[6]徐伯洪，闫慧芳. 工作场所有害物质检测方法[M]. 北京：中国人民公安大学出版社，2003：149-150.

[7]周建钟，周钰芳，任媛媛，等. 溶剂解析气相色谱法测定室内空气中的苯和苯系物[J]. 湖南理工学院学报：自然科学版，2007，20(2)：57-60.

[8]姜丽娟，魏建荣. 顶空－毛细管柱气相色谱法测定水中苯系物方法[J]. 中国卫生检验杂志，2004，14(5)：546-547.

[9]许瑛华，罗振奎，李少霞. 吹扫捕集-GC/MS法测定生活饮用水中13种苯系物的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志，2006，16(8)：914-916.

[10]王淼，刘萍，贾舍平，等. 新型固相微萃取头测定胶粘剂中苯及同系物[J]. 环境科学与技术，2006，29(6)：43-45.

（**收稿日期**：2010-07-29）

（英文编审：黄建权；编辑：洪琪；校对：郭薇薇）