

固相膜萃取-超声洗脱衍生法 分析水中酚类化合物

张 莉, 张永涛, 张辰凌, 李晓亚, 桂建业

(中国地质科学院水文地质环境地质研究所监测中心, 河北 正定 050803)

摘要:建立了水中酚类化合物的新型预处理技术。在水样 pH 3~4 时, 采用 SDB-XC 固相萃取膜, 5 min 可完成 500 mL 水样中酚类化合物的萃取; 将膜片折叠置于反应瓶中, 以五氟苄基溴溶液为衍生试剂, 20 min 可完成膜片上酚类化合物的超声洗脱和衍生; 以 HP-5MS 色谱柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm) 为分析柱, 用负化学电离源在 10 min 内完成检测。对膜片的选择、酸度的控制、衍生条件、超声条件及干扰情况进行逐一分析并优化, 结果表明, 在 10~200 μg/L 线性范围内, 各组分的相关系数 $r^2 > 0.997$, 加标回收率在 70%~107% 之间, 相对标准偏差为 3.8%~10.4%。应用该方法检测实际样品, 部分样品有检出。该方法可实现样品的快速萃取、洗脱衍生一体化、低污染和高灵敏检测。

关键词:水; 酚类化合物; 固相膜萃取; 同步超声洗脱衍生; 气相色谱-负化学源质谱

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2018)05-0623-07

doi: 10.7538/zpxb.2018.0028

Determination of Phenolic Compounds in Water by Solid Phase Membrane Extraction Coupled with Ultrasonic Assisted Desorption and Derivation

ZHANG Li, ZHANG Yong-tao, ZHANG Chen-ling, LI Xiao-ya, GUI Jian-ye

(*Institute of Hydrogeology and Environmental Geology,*

Chinese Academy of Geological Sciences, Zhengding 050803, China)

Abstract: A new pretreatment technology of phenolic compounds analysis in water was established. When the pH value of the water sample was 3-4, the extraction of phenolic compounds in 500 mL water sample could be completed in 5 min by using SDB-XC solid phase extraction membrane. Then the folded membrane was put into a reaction bottle, in which five fluorinated benzyl bromide solution was used as the derivatization reagent to complete the elution and derivatization of phenolic compounds on the membrane by 20 min ultrasound. HP-5MS column (30 m×0.25 mm×0.25 μm) was selected as analytical column, the detection could be completed within 10 min by using negative chemical ionization source. In this method, the selection of membrane, the control of acidity,

收稿日期: 2018-03-16; 修回日期: 2018-05-22

基金项目: 基于反应质谱的有机单体同位素多目标在线分析机理研究项目(B2017504001)资助

作者简介: 张莉(1965—), 女(汉族), 河北人, 高级工程师, 从事有机分析研究。E-mail: zhangli202004@126.com

derivation condition, ultrasonic condition and interference situation were analyzed and optimized. The results showed that the correlation coefficient of each component was greater than 0.997 in the linear range of 10-200 $\mu\text{g/L}$. The recoveries of different concentrations were 70%-107%, and the relative standard deviations were 3.8%-10.4%. Some phenolic compounds were detected in actual samples by this method. The method can achieve the rapid extraction, synchronous elution, low pollution and high sensitivity detection of samples.

Key words: water; phenolic compounds; solid-phase membrane extraction; ultrasonic desorption and derivation; gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry

随着科技的发展和人民生活水平的提高,环境污染成为人们关注的首要问题。环境污染的特征之一是有有机污染,而酚类是有有机污染物的一大类,对一切生物都有危害。酚类化合物含有羟基官能团,直接用液相色谱或气相色谱法进行分析的检出限较高。利用化学反应将酚类转化为弱极性化合物,可以增大该类化合物的挥发性,提高其在色谱上的分辨率,从而实现该类化合物的气相色谱高灵敏度分析。在目前标准方法或文献中^[1-5],该类化合物最成熟的预处理手段是液液萃取或固相小柱萃取,分析流程基本是萃取—浓缩—测定或衍生后测定的模式,而繁杂的预处理过程必然造成目标物损失。因此有必要探索新的预处理途径,以保证分析的准确度和精密度。超声技术^[6-9]以萃取速度快、溶剂用量少而被广泛应用于有机分析的预处理工作中,但仅适用于固体样品的分析,若在水分析中应用该技术,必须要进行液固转换。液液萃取不能实现液固转换,固相柱萃取可以达到这一目的,但利用超声技术解吸化合物的难度较大,固相膜萃取为这一技术的实现提供了可能。在文献[10]中,以硅胶为吸附剂的C18膜片对水中多环芳烃进行分析;在文献[11]中,用C8膜片对水中的有机氯农药、羧酸类有机物进行了超声萃取。但未见对酚类化合物研究的报道。以苯乙烯/二乙烯苯聚合物为吸附剂的SDB-XC固相萃取膜适合保留含有亲水基团的疏水性酚类化合物,因其具有比表面积大、路径短、不易堵塞、高选择吸附等特点,能够快速地将液体样品转化为固体样品,更容易将样品无损转移到合适的器皿中,从而实现超声洗脱衍生分析。

本研究拟采用SDB-XC膜萃取酚类化合

物,结合超声技术使用最少的溶剂、最短的时间对膜片上的化合物同时洗脱衍生,并减少溶剂浓缩、转移等过程,以达到提高分析效率、增加准确度、减少环境次生污染、为同类有机物的分析提供技术思路的目的。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

TRACE DSQ 气相色谱-质谱联用仪:美国 Thermo 公司产品;KQ-700DV 数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司产品;SBEQ-CP0100 膜片式固相萃取仪:德国 CNW 公司产品;SDB-XC 萃取膜(47 mm):美国 3M 公司产品;衍生瓶(10 mL):美国 Supelco 公司产品。

二氯甲烷、丙酮和正己烷(农残级):德国 Merck 公司产品;五氟苯基溴(纯度为 95%):美国 Thermo Fisher 公司产品; K_2CO_3 、磷酸:均为优级纯,北京化学试剂厂产品;2-甲酚、4-甲酚、2,4-二甲基苯酚、2-氯苯酚、4-氯-3-甲基苯酚、2,4-二氯苯酚、2,4,6-三氯苯酚、2,3,4,6-四氯苯酚、五氯酚标准物质:德国 Dr. Ehrenstorfer 公司产品。

1.2 实验条件

HP-5MS 色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);程序升温:初始温度 90 $^\circ\text{C}$,以 30 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 200 $^\circ\text{C}$,再以 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 300 $^\circ\text{C}$,保持 2 min;进样口温度 230 $^\circ\text{C}$;不分流进样,进样体积 1 μL 。

反应气:甲烷;电离能量:70 eV;负化学电离源(NCI)温度:200 $^\circ\text{C}$;连接杆温度:220 $^\circ\text{C}$;选择离子扫描(selected ion monitoring)模式。主要参数列于表 1。

表1 衍生产物定性定量主要参数

Table 1 Main qualitative and quantitative parameters of derivative products

化合物 Compounds	保留时间 Retention times/min	衍生产物分子质量 Molecular weight of derivative products	定量离子 Quantitative ions (<i>m/z</i>)	参考离子 Reference ions (<i>m/z</i>)
2-甲酚	4.833	288	107	—
4-甲酚	4.990	288	107	—
2,4-二甲基苯酚	5.317	302	121	—
2-氯苯酚	5.350	308	127	—
4-氯-3-甲基苯酚	6.077	322	141	—
2,4-二氯苯酚	6.340	343	161	163
2,4,6-三氯苯酚	6.835	377	195	197
2,3,4,6-四氯苯酚	8.237	411	231	229,233
五氯酚	9.498	446	267	269,271

1.3 样品处理

将 SDB-XC 固相萃取膜装在膜片式固相萃取装置上,依次用 5 mL 二氯甲烷、5 mL 丙酮和 10 mL 纯水进行活化,保持膜片上有 3~5 mm 高度的纯水。在 500 mL 水样中(预先除去沉淀物和悬浮物),加入磷酸溶液(1:1, V:V)调节水样 pH 3~4,以约 100 mL/min 的流速流经萃取膜。萃取完成后,继续抽真空约 2 min。将膜片折叠放入衍生瓶中,加入 2 mL 丙酮、200 μ L 10% 五氟苄基溴溶液和 10 μ L 30% K_2CO_3 溶液,盖好瓶盖,置于数控超声波清洗器中。

设置水浴温度 40 $^{\circ}C$,功率 40%,动态萃取衍生 20 min 后,取出衍生瓶,放至室温后,取出 1.0 mL 溶液于浓缩瓶中,用微弱的氮气流吹至近干,以正己烷定容至 1 mL,待气相色谱-负化学源质谱检测。

1.4 溶剂及标准溶液的制备

10% 五氟苄基溴:称取 1 g 五氟苄基溴溶于 10 mL 丙酮溶剂中,低温保存。

30% K_2CO_3 溶液:称取 3 g K_2CO_3 溶于 10 mL 纯水中。

称取适量酚类标准物质于丙酮溶剂中,再逐级稀释成 1.0 mg/L 的标准使用溶液。用此溶液制备成溶剂为丙酮、体积为 2 mL、浓度范围为 10~200 μ g/L 的标准系列溶液,按照 1.3 节衍生、超声条件进行处理。

2 结果与讨论

2.1 固相膜与水样酸度的优化

以硅胶为吸附剂的 C8 固相萃取膜在最佳

酸性条件(pH<2)下对酚类化合物是选择性吸附,吸附对象主要是分子质量较大、溶解度较小的多氯酚,回收率可达 70% 以上,对小分子的 2-甲酚、4-甲酚等回收率只有 10% 左右。SDB-XC 固相萃取膜的吸附剂是苯乙烯/二乙烯苯聚合物,适合保留含有亲水基团的疏水性酚类化合物,但其吸附效果与水样 pH 值有很大关系。理论上,当水样 pH<2 时,酚类化合物不带电荷,能够很好地保留在 SDB-XC 膜上,但实际结果并非如此。逐渐增大水溶液的 pH 值,当 pH 3~4 时,膜片对其有较好的吸附保留,回收率在 78%~103% 之间。因此,使用 SDB-XC 膜片,优化溶液 pH 值非常关键。两种萃取膜片的萃取回收率对比图示于图 1,不同水样酸度对回收率的影响示于图 2。分析还发现,水样流速在 80~100 mL/min 范围内的回收率不受影响,均在 70% 以上,这与膜片比表面积(450 m^2/g)

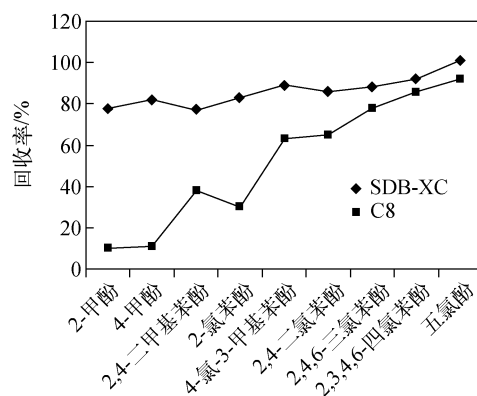


图1 两种膜片的回收率对比

Fig. 1 Comparison of recoveries between two disks

较大、水流路径(膜片厚度 0.5 mm)较短、水样与膜片接触时间(5 min)短有很大关系。因此,本方法确定流速为 100 mL/min。

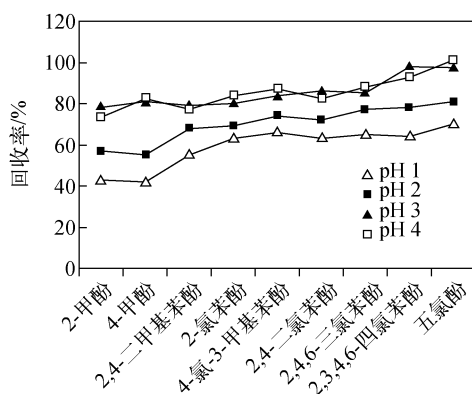


图2 水样酸度对回收率的影响
Fig. 2 Effect of water pH on recoveries

2.2 超声衍生条件优化

在酚类与衍生试剂的反应中,溶剂提供衍生环境, K_2CO_3 溶液提供碱性环境,因此,所选择的溶剂要与 K_2CO_3 溶液互溶才能达到较好的衍生效果。经验证,在与之互溶的甲醇、丙酮中衍生回收率均在70%以上,本实验选择丙酮为溶剂。为达到较好的洗脱和衍生效果,并避免分析过程中溶剂的浓缩,对洗脱溶剂的加入量进行了控制。经观察验证,在10 mL衍生瓶中加入2 mL溶剂能够将膜片完全浸没,衍生完毕后能够定量取出1 mL溶剂完成后续的分析检测。本实验以五氟苄基溴为衍生试剂对酚类化合物进行衍生。当10%五氟苄基溴的加入量分别为25、50、100、200 μ L时,衍生效率逐渐增大,如继续加大五氟苄基溴的用量,衍生效率则无明显变化,因此,本方法确定的衍生试剂加入量为200 μ L。逐渐改变30% K_2CO_3 溶液的加入量,当加入量为10 μ L时有较好的衍生效果,衍生效率均在70%以上。

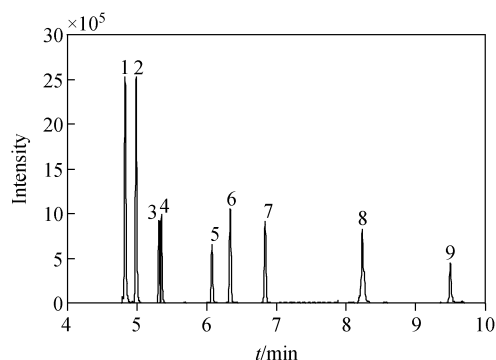
定量取出1 mL溶剂进行后续分析,衍生过程中为避免丙酮(沸点56 $^{\circ}C$)的挥发,最终确定超声温度为40 $^{\circ}C$;膜片在大功率超声下会有微量溶出,造成萃取液的轻度浑浊,因此确定超声功率为40%。在此基础上优化了衍生时间,发现超声衍生20 min的衍生效率能够达到最大值。

2.3 干扰和净化分析

标准溶液的配制使用丙酮作为溶剂,与样品衍生溶剂一致,避免了因溶剂不同产生分析误差。SDB-XC固相萃取膜具有高选择性,吸附酚类的同时可对水中干扰物进行部分净化,化合物的洗脱和衍生一体化,避免了溶剂的多次浓缩和转移,基本无干扰引入。因此,净化的主要对象是过量的五氟苄基溴和 K_2CO_3 。按照1.3节的氮吹处理可去除衍生试剂;氮吹近干时, K_2CO_3 会结晶在浓缩瓶底部,不溶于正己烷溶剂, K_2CO_3 的存在对检测无影响。在该条件下,SDB-XC会吸附部分羧酸类有机物,并衍生,但一般情况下,衍生物的保留时间和定量离子不会与酚类化合物重叠,因此,对酚类化合物不产生影响。

2.4 仪器配套检测

用气相色谱(ECD检测器)检测时,化合物有较低的检出限,但对衍生产物的定性有一定困难。气相色谱-质谱(EI源)对净化要求较低,但检出限较高。气相色谱-负化学源质谱(NCI源)对含有卤素原子的化合物有非常灵敏的响应,而对基质中大多数杂质不响应,因此,其色谱图中杂质峰很少、本底低、信噪比更强,灵敏度比EI源提高了1~2个数量级,只需简单净化就可得到较低的检出限。各化合物的定量、定性离子列于表1。酚类化合物衍生物的总离子流图示于图3。



注:1. 2-甲酚;2. 4-甲酚;3. 2,4-二甲苯酚;4. 2-氯苯酚;
5. 4-氯-3-甲基苯酚;6. 2,4-二氯苯酚;
7. 2,4,6-三氯苯酚;8. 2,3,4,6-四氯苯酚;9. 五氯酚

图3 酚类化合物衍生物的总离子流图
Fig. 3 Total ion chromatogram of phenolic compound derivatives

2.5 方法评价

各化合物在 10~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内,其线性相关系数(r^2)均大于 0.997。向空白水中加入酚类化合物标准溶液,以逐级降低浓度添加水平的方法来确定方法的检出限和定量限。当水样体积为 500 mL,洗脱体积为 2 mL(即样品浓缩倍数为 250 倍)时,检出限($S/N=3$)、定量限($S/N=10$)及相关参数列于表 2。以 TOC(总有机碳) $<0.2 \text{ mg/L}$ 的纯水和 $\text{TOC}=4.9 \text{ mg/L}$ 的

地下水为基体,添加样品浓度水平分别为 0.1、0.2、0.5 $\mu\text{g/L}$,相应的仪器检测浓度值分别为 25.0、50.0、125.0 $\mu\text{g/L}$ 。按照优化的条件进行分析,回收率为 70%~107%,相对标准偏差为 3.8%~10.4%。以 TOC 分别为 18.4、32.4 mg/L 的 2 个地表水为基体进行上述浓度的加标,部分样品的回收率降低,对此类样品可采用减少水样量的方法进行检测分析。说明该方法不适用于严重污染的地表水及其他工业废水。

表 2 检出限、定量限及相关参数

Table 2 Detection limits, quantitative limits and correlation coefficients

化合物 Compounds	线性范围 Linearity ranges/ $(\mu\text{g/L})$	相关系数 Correlation coefficients(r^2)	检出限 LODs/ $(\mu\text{g/L})$	定量限 LOQs/ $(\mu\text{g/L})$
2-甲酚	10~200	0.997	0.014	0.042
4-甲酚	10~200	0.998	0.015	0.045
2,4-二甲基苯酚	10~200	0.997	0.014	0.042
2-氯苯酚	10~200	0.997	0.016	0.048
4-氯-3-甲基苯酚	10~200	0.997	0.012	0.040
2,4-二氯苯酚	10~200	0.997	0.013	0.042
2,4,6-三氯苯酚	10~200	0.998	0.014	0.046
2,3,4,6-四氯苯酚	10~200	0.999	0.016	0.048
五氯酚	10~200	0.999	0.015	0.045

2.6 实际样品分析

采用本方法分析不同地域的水样,部分样品有检出,对其中 3 个 TOC 含量分别为 0.78、1.39、3.14 mg/L 的样品进行不同浓度的加标

分析,其回收率在 70%~108%之间,结果列于表 3。表 3 中数据说明了酚类污染的广泛性及污染程度,基体加标分析结果验证了该方法的可行性。

表 3 样品和基体加标分析结果

Table 3 Detection and spiked results of real samples

化合物 Compounds	样品浓度 Sample concentrations/ $(\mu\text{g/L})$	加标浓度 Spiked concentrations/ $(\mu\text{g/L})$	测定值 Measured values/ $(\mu\text{g/L})$	回收率 Recoveries/%
2-甲酚	1.22	0.10	0.96	72.8
	0.78	0.20	0.74	75.6
	—	0.40	0.31	78.6
4-甲酚	—	0.10	0.77	77.0
	1.38	0.20	1.12	71.2
	—	0.40	0.33	82.5
2,4-二甲基苯酚	2.36	0.10	1.74	70.6
	—	0.20	1.46	72.8
	—	0.40	0.29	73.4

续表 3

化合物 Compounds	样品浓度 Sample concentration/($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 Spiked concentration/($\mu\text{g/L}$)	测定值 Measured values/($\mu\text{g/L}$)	回收率 Recoveries/%
2-氯苯酚	0.24	0.10	0.26	76.4
	—	0.20	0.16	80.0
	—	0.40	0.31	77.5
4-氯-3-甲基酚	—	0.10	0.80	80.0
	—	0.20	1.57	78.7
	—	0.40	0.35	87.5
2,4-二氯苯酚	2.31	0.10	2.16	89.6
	0.36	0.20	0.45	80.4
	—	0.40	0.34	85.0
2,4,6-三氯苯酚	—	0.10	0.90	90.0
	0.22	0.20	0.36	85.7
	—	0.40	0.37	92.5
2,3,4,6-四氯苯酚	—	0.10	0.98	98.0
	0.18	0.20	0.39	102.6
	—	0.40	0.36	90.0
五氯酚	0.29	0.10	3.24	83.1
	0.24	0.20	3.61	82.0
	—	0.40	0.41	102.5

3 结论

本研究利用超声技术的优势,将超声、衍生技术融为一体,避免了溶剂的多次浓缩和转移所造成的化合物损失,有较高的准确度和精密密度,负化学源技术的使用降低了检出限。实验中,膜片活化溶剂使用量为 10 mL,洗脱衍生溶剂使用量为 2 mL,萃取时间为 5 min,超声洗脱和衍生时间仅为 20 min,远低于国家环境标准方法及相关文献^[1-5]的时间和溶剂使用量,是一种低污染、高效率的分析技术,在实际检测分析中有很好的应用价值。

参考文献:

- [1] HJ 676—2013. 水质酚类化合物的测定液液萃取/气相色谱[S]. 北京:中国环境科学出版社, 2014.
- [2] HJ 744—2015. 水质酚类化合物的测定气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国环境科学出版社, 2015.
- [3] SL463—2009. 气相色谱酚测定水中酚类化合物

[S]. 北京:水利水电出版社,2010.

- [4] 苏宇亮,胡克武. 水中酚类化合物的固相萃取-气质联用法测定[J]. 分析测试学报,2008,27(增刊1):127-129.
- SU Yuliang, HU Kewu. Determination of phenols in water by solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2008, 27(Suppl 1): 127-129(in Chinese).
- [5] 任雪东,吕蓉,刘成雁,等. 水中 11 种酚类化合物的固相萃取/气相色谱-质谱/选择离子法测定[J]. 分析测试学报,2008,27(5):501-504.
- REN Xuedong, LV Rong, LIU Chengyan, et al. Determination of 11 phenolic compounds in water by solid phase extraction/gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitoring mode[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2008, 27(5): 501-504(in Chinese).
- [6] U. S. EPA Method 3550B, Ultrasonic extraction [S]. Washington, DC: U. S Government Printing Office, 1996.

- [7] HJ911—2017. 土壤和沉积物有机物的提取 超声波萃取法[S]. 北京:中国环境科学出版社, 2018.
- [8] 张莉, 桂建业, 张辰凌, 等. 原位衍生分析土壤中多种酸性有机农药残留[J]. 质谱学报, 2015, 36(2):135-140.
ZHANG Li, GUI Jianye, ZHANG Chenling, et al. In situ derivatization analysis of acidic organic pesticide residues in soil[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2015, 36(2): 135-140(in Chinese).
- [9] 杨丽莉, 王美飞, 胡恩宇, 等. 超声波提取-气相色谱法测定土壤中 21 种酚类化合物[J]. 色谱, 2013, 31(11):1 081-1 086.
YANG Lili, WANG Meifei, HU Enyu, et al. Determination of 21 phenolic compounds in soil by ultrasonic extraction-gas chromatography[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2013, 31(11): 1 081-1 086(in Chinese).
- [10] 潘海祥, 麦碧娴, 庄汉平, 等. 使用 C18 固相萃取膜-质谱联用定量分析饮用水中痕量多环芳烃的初步研究[J]. 分析化学, 1999, 27(2):140-144.
PAN Haixiang, MAI Bixian, ZHUANG Hanping, et al. Quantitative analysis of trace polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water with C18-solid-phase extraction-gas chromatography/mMass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 1999, 27(2): 140-144 (in Chinese).
- [11] 张莉, 桂建业, 赵国兴, 等. 固相膜萃取-超声洗脱-原位衍生法分析水中不同极性农药残留[J]. 分析化学, 2014, 42(4):592-596.
ZHANG Li, GUI Jianye, ZHAO Guoxing, et al. Determination of different polarity pesticide residues in water by solid phase membrane extraction-ultrasonic assisted elution-in situ derivatization method[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2014, 42(4): 592-596 (in Chinese).