

自动固相微萃取 - 气相色谱法检测水样中壬基酚^{*}

陈 玲¹, 周海云², 刘 岚¹, 邓芹英¹

(1 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

(2 中山大学测试中心, 广东 广州 510275)

摘 要: 利用气相色谱仪器上的自动固相微萃取平台, 建立了自动固相微萃取 - 气相色谱 (SPME-GC) 联用测定水样中壬基酚的分析方法。对 SPME 的条件如萃取纤维涂层、萃取时间、解吸时间、离子强度等条件进行了优化, 并用于珠江水样和造纸工业废水等实际水样的分析。该方法的检测限为 $2.0 \mu\text{g/L}$, 线性范围为 $5.0 \sim 100 \mu\text{g/L}$, 线性相关系数为 0.997 3, 相对标准偏差 (RSD) 为 3.3% ($n = 5$), 回收率为 83.2% ~ 106.4%。

关键词: 壬基酚; 固相微萃取; 气相色谱

中图分类号: O657.7⁺¹ **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2007) 05-0045-04

壬基酚 (nonylphenol, NP) 是一种环境内分泌干扰物, 可以通过雌激素效应或毒性作用对雄性鱼类, 两栖动物及哺乳动物的生殖系统产生有害影响。环境中壬基酚主要来源于应用广泛的非离子表面活性剂 - 壬基酚聚氧乙烯醚的生物降解或光催化裂解。与母体化合物相比, 壬基酚具有更高的毒性、稳定性和生物累积效应, 在水中的溶解度仅为 5.4 mg/L , 具有较高的辛烷值 ($\log K_{ow} = 4.48$), 其环境污染效应不容忽视^[1-4]。近几年来, 壬基酚引起的环境问题开始引起关注。陆续有文献报道在我国的湖泊水、城市污水以及河流流域的淤泥中检出不同程度的壬基酚^[5-6]。

近年来发展起来的固相萃取技术 (SPE) 和固相微萃取 (SPME) 非常适用水中痕量有机物的富集处理, 这些技术最大的特点是有机溶剂消耗少, 节省预处理时间, 从而减少对环境造成的二次污染。目前, 文献报道的水中壬基酚的富集技术基本上集中在 SPE 技术的应用, 鲜有 SPME 技术的应用报道。SPME 是一种无溶剂的样品前处理技术, 它集采样、萃取、浓缩、进样于一体, 样品富集后可直接将萃取纤维插入色谱分析仪器进行解吸, 操作简便、快速, 容易实现自动化。

本研究利用气相色谱仪上的自动固相微萃取装置, 建立固相微萃取 - 气相色谱 (SPME-GC) 联用测定水样品中壬基酚的方法, 进行了萃取参数的优化, 并对珠江水样和某造纸厂处理前污水样品进行壬基酚的检测。该法操作简单、自动化程度高、

无需萃取溶剂、所需样品量少、分析时间短。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

CP-3800 气相色谱仪 (Varian), 配有 FID 检测器和 SPME 自动固相萃取与进样装置, 萃取瓶体积为 2 mL ; SPME 纤维 (Supelco); 壬基酚 (Aldrich); 丙酮 (分析纯); 实验用水为双蒸水。

1.2 色谱条件

色谱柱为 HP-5 MS 石英毛细管柱 ($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$); 进样室温度, 230°C ; 检测器温度 280°C ; 载气为 N_2 , 流速 1 mL/min ; 程序升温: 初温 70°C , 以 20°C/min 升温至 260°C 。

1.3 壬基酚标准溶液的制备和实际样品的采集与前处理

制备 50 mg/L 壬基酚的丙酮储备液, 使用时以水稀释。操作时应注意, 稀释后丙酮与溶液体积比不超过 0.5%, 以防止有机溶剂对萃取效果的干扰^[7]。

取珠江表层水样和某造纸厂处理前废水样品, 过滤以除去悬浮杂质, 于冰箱中保存待测。

1.4 实验步骤

将 1 mL 样品溶液, 转入 2 mL 萃取瓶中, 用带有孔盖和聚四氟乙烯隔垫的顶盖封好, 置于固相微萃取平台上室温震荡萃取。萃取后萃取纤维转入 GC 进样口热解吸检测, 以保留时间和峰型定性, 以峰面积定量。整个操作过程包括萃取、震荡、解

* 收稿日期: 2006-11-12

基金项目: 国家“985”二期“食品安全与公共卫生创新平台”资助项目

作者简介: 陈玲 (1978年生), 女, 博士研究生; 通讯联系人: 周海云; E-mail: zhouhy@mail.sysu.edu.cn

吸由色谱工作软件控制自动进行。

2 结果与讨论

2.1 壬基酚的定性与定量

壬基酚具有多种异构体，在所用色谱条件下，各异构体不能达到完全分离，而得到保留时间在 6.5~7.0 min 范围内的一组峰，如图 1 所示。因此，根据保留时间和组峰峰型进行壬基酚的定性，组峰峰面积进行定量。进行定量积分计算峰面积时，为简单化，在锁定保留时间为 6.7~7.2 min 范围内进行组积分（group integration）。

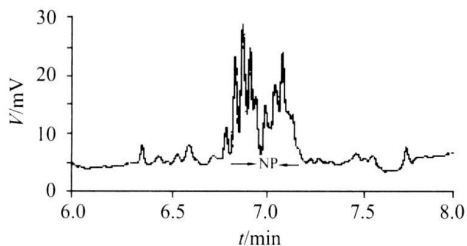


图 1 壬基酚的气相色谱图 ($c_{NP}=50.0\mu\text{g/L}$)

Fig. 1 The gas chromatogram of NP standard

2.2 萃取参数的优化

本实验对影响 SPME 萃取效果的因素包括萃取纤维涂层选择、萃取时间、解吸时间和溶液离子强度等因素进行了优化。

2.2.1 萃取纤维的选择 实验首先考察了如下 4 种商品化萃取纤维的萃取效率：涂层厚度为 $7\mu\text{m}$ 和 $100\mu\text{m}$ 的聚二甲基硅氧烷（PDMS）、涂层厚度为 $65\mu\text{m}$ 的聚二甲基硅氧烷 二乙烯基苯（PDMS/DVB）、涂层厚度为 $85\mu\text{m}$ 的聚丙烯酸酯（PA）。萃取纤维在启用前均按说明书进行活化。

在相同萃取条件下以峰面积作为比较参数，结果显示纤维涂层极性不同，萃取效果也不同，PDMS/DVB ($65\mu\text{m}$) 得到最高萃取率，PA ($85\mu\text{m}$) 和 PDMS/DVB ($65\mu\text{m}$) 的萃取率分别为 PDMS/DVB ($65\mu\text{m}$) 的 65.9% 和 75.4%，而 PDMS ($7\mu\text{m}$) 的萃取率仅为 PDMS/DVB ($65\mu\text{m}$) 的 2% (图 2)。根据“相似相溶”原理，萃取物壬基酚具有弱极性，PDMS/DVB ($65\mu\text{m}$) 与 PA 涂层和壬基酚极性较为相近，因此，萃取效果相对较高。而 PDMS 为非极性涂层，萃取效率最底。同时，PDMS/DVB 是一种复合涂层，具有多孔性，萃取表面积较大，同时，这种对苯环化合物具有较高的萃取效率，所以其萃取率明显高于极性涂层 PA^[8]。因此，实验采用 PDMS/DVB ($65\mu\text{m}$) 萃取纤维进行其它条件优化和实际水样的测定。

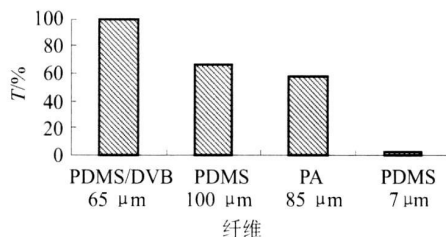


图 2 4 种萃取纤维相对于 PDMS/DVB 的萃取率

Fig. 2 The relative extraction efficiency of the fibers to PDMS/DVB ($65\mu\text{m}$)

2.2.2 萃取时间对萃取效果的影响 在仪器所设计的震荡萃取条件下，考察了 PDMS/DVB ($65\mu\text{m}$) 对壬基酚的萃取动力学，结果如图 3 所示。

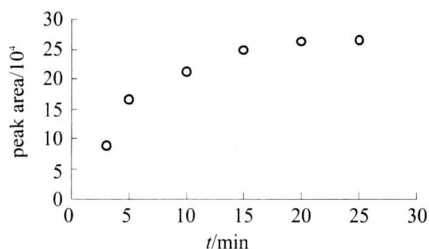


图 3 壬基酚的 SPME 吸附量-时间曲线

Fig. 3 The adsorption profile of nonylphenol by PDMS/DVB ($65\mu\text{m}$)

萃取过程为待测物在水相与萃取纤维涂层之间的分配过程，达到分配平衡时萃取量最高。由图 3 可以看到，NP 的萃取量随萃取时间的延长明显增加，20 min 基本达到平衡，萃取量没有明显的增加，因此，萃取时间选为 20 min。

2.2.3 解吸条件的优化 在气相色谱气化室，分析物在高温作用下很容易从萃取纤维上解吸出来，解吸量受解吸时间和温度的影响，时间短、温度低则有可能解吸不完全。壬基酚的解吸曲线如图 4 所示，12 min 基本达到平衡。因此，选择解吸时间 12 min。

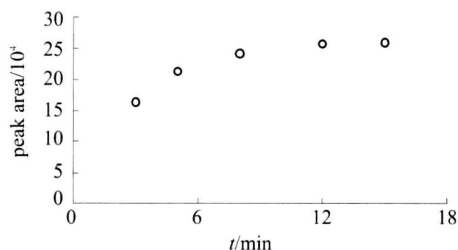


图 4 壬基酚的解吸曲线

Fig. 4 The desorption profile of nonylphenol

同时，本实验考察了在 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下的解吸量，结果显示没有明显的区别。PDMS/DVB

(65 μm) 使用温度范围为 200~270 $^{\circ}\text{C}$, 考虑到长时间在高温下使用会令其使用寿命缩短, 因此选择 230 $^{\circ}\text{C}$ 作为解吸温度。

2.2.4 离子强度优化 以 NaCl 调节萃取溶液的离子强度, 考察离子强度对壬基酚萃取量的影响。实验结果表明, 萃取液中 NaCl 质量分数在 20% 范围内, 萃取率随 NaCl 浓度的升高而降低 (图 5), 萃取液中不添加 NaCl 萃取率最高。

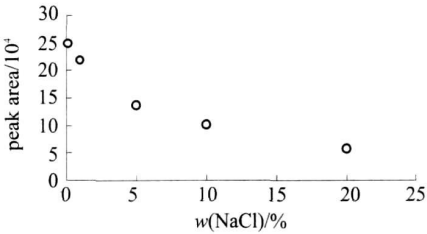


图 5 离子强度对萃取量的影响
Fig. 5 Effect of the ionic strength on the extraction efficiency

一般来说, 萃取液中盐度的增加会引起三个方面的变化, 首先, 盐析效应降低了分析物在溶液中的溶解度, 从而可以促使分析物的吸附; 其次, 溶液中的离子可以改变萃取纤维表面液膜的物理性质, 减弱其吸附能力; 最后, 分析物与溶液中的盐存在静电作用, 减弱了分析物从液相向气相扩散的能力。对壬基酚来说, 后两个因素的结果占主导作用, 因此, 盐的加入降低了壬基酚的萃取量。

最后优化好的萃取条件为: 萃取纤维为 PDMS/DVB (65 μm), 萃取时间 20 min, 解析时间 12 min, 解析温度 250 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.3 萃取系数的测定

SPME 萃取平衡可以用萃取物在液相与萃取纤维固定相之间的分配系数 (K) 表示。

$$K = \frac{c_s}{c_{aq}} = \frac{n_s V_{aq}}{V_s (V_{aq} C_{aq}^0 - n_s)}$$

式中, c_s 与 c_{aq} 分别表示固定相与液相中分析物的浓度。 n_s 为萃取量, V_{aq} 和 V_s 分别为液相和固定相的体积, C_{aq}^0 为分析物在液相中的初始浓度^[7-9]。实验采用加标法, 向实际水样加入 NP, 测定壬基酚在选定萃取纤维固定相 (PDMS/DVB) 与液相之间的分配系数。萃取溶液体积 (V_{aq}) 为 1 mL, 壬基酚初始浓度 C_{aq}^0 为 50 $\mu\text{g/L}$, 萃取量 n_s 以直接进样 (丙酮作溶剂) 标准曲线定量为 $45.97 \times 10^{-3} \mu\text{g}$ (3 次进样, 取平均值), 固定相体积为 3.378 μL , 此时, K 可以计算为 3 413 高于已报道的 PA 对酚的萃取系数^[10]

2.4 方法检测限、线性、回收率和重复性

在已优化的萃取条件下, 壬基酚标准溶液的质量浓度在 5.0~200 $\mu\text{g/L}$ 时, 其峰面积与质量浓度呈良好的线性关系 ($r^2 = 0.9973$)。以 50 $\mu\text{g/L}$ 的壬基酚标样平行测定 5 次得到的峰面积求精密度, 其相对标准偏差 (RSD) 为 3.3%。以基线噪音的 3 倍为判断标准, 萃取体积为 1 mL 时, 实测标准溶液的检测限为 2.0 $\mu\text{g/L}$ 。回收率为 83.2%~106.4%。

2.5 实际水样的测定以及影响定量准确性的因素

为验证所建立的方法对实际样品检测的可行性, 分别对某造纸厂处理前废水和水珠江水样进行了壬基酚含量测定。造纸厂处理前废水分析结果如图 6 所示。根据保留时间在 6.7~7.0 min 之间的色谱峰与壬基酚标样色谱峰峰型一致, 可以判断出造纸厂处理前废水含有壬基酚, 定量结果为 26.2 $\mu\text{g/L}$ 。

在此条件下, 珠江水样并未检出壬基酚, 本实验在自动萃取装置上进行, 限制了萃取样体积为 1 mL。根据胡霞林等的研究结果, 样品体积也是影响萃取效果的重要因素之一^[11]。据此, 将自动萃取模式改为手动模式并将萃取体积增加到 100 mL, 此时得到的色谱图如图 7 所示。从图中可以看出, 保留时间在 6.7~7.0 min 之间的色谱峰与壬基酚标样色谱峰峰型基本一致, 说明珠江水样含有 NP, 以外标添加法定量得到其含量为 0.24 $\mu\text{g/L}$ 。

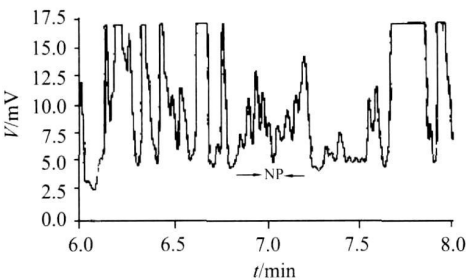


图 6 某造纸厂处理前废水样品气相色谱图
Fig. 6 Gas chromatogram of the waste water from a paper mill

从以上的色谱图可以看出, 除了壬基酚的峰以外, 还出现其它的杂质峰。纤维的萃取涂层是根据相似相容的原理进行设计和使用, 因此对目标化合物的萃取选择性不高, 当样品基质较为复杂时, 色谱图上表现出的较多杂峰, 容易对目标化合物的判断造成干扰。其次, 萃取纤维在完成解吸一次后, 有必要再次进行解吸以便观察所吸附的物质是否完全解吸。

在进行定量时发现, 萃取时间对定量的重复性

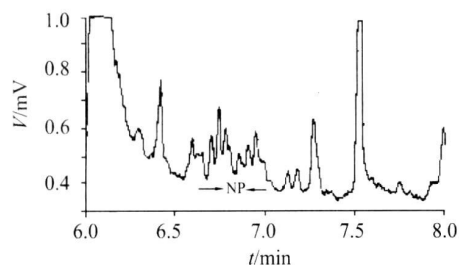


图 7 珠江水样气相色谱图

Fig 7 Gas chromatogram of the extract from the river water

有影响, 因此对时间必须进行严格控制。纤维的使用次数直接影响定量的检测结果, 当发现萃取量明显减少时, 应该考虑更换新的萃取纤维。

3 结 论

建立了自动固相微萃取-气相色谱连用检测水样中壬基酚的方法。方法检测限为 $2.0 \mu\text{g/L}$, 线性范围为 $5 \sim 100 \mu\text{g/L}$, 线性相关系数为 0.997 3, 回收率为 83.2% ~ 106.4%, 相对标准偏差为 3.3%。该法快速、简便, 可用与实际水样的检测。

参考文献:

[1] JOBLING S J, SUMPTER J P. Detergent components in sewage effluent are weakly estrogenic to fish: an *in vitro* study using rainbow trout hepatocytes [J]. *Aquat Toxicol* 1993 27(3-4): 361-372

[2] BALAGURE P, FRANCOIS F, COMUNATE F et al. Report cell lines to study the estrogenic effects of xenoestrogens [J]. *Sci Total Environ* 1999 233(3): 47-56

[3] 吴伟, 瞿建宏. 壬基酚在鱼体组织中的累积及对鱼类性腺的影响 [J]. *中国环境科学*, 2005 25(4): 420-423

[4] YING G, WILLIAMS B, KOOKANA R. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates: a review [J]. *Environ Inter* 2002 28(3): 215-226

[5] 王晓东, 赵新华, 张新波, 等. 固相萃取-高效液相色谱-荧光检测法同时测定水中的壬基酚和双酚 A [J]. *分析实验室*, 2006 25(9): 27-29

[6] 陈兵, 麦碧娴, 陈社军, 等. 珠江三角洲河流沉积物中的壬基酚 [J]. *中国环境科学*, 2005 25(4): 484-486

[7] CASTELLS P, SANTOS F G, GALCERANS M T. Solid microextraction for the analysis of short chain chlorinated paraffines in water sample [J]. *J Chromatogr A* 2003 984(1): 1-8

[8] CHU T, HUNG G, HSU C. Solid phase microextraction for the investigation of sex pheromone of *Eucomia notanthes* Meyrick [J]. *Talanta* 2005 65(3): 743-749

[9] BUCHHOLZ K D, PAWLLYSZY J. Optimization of solid phase microextraction conditions for determination of phenols [J]. *Anal Chem* 1994 66(1): 160-167

[10] BARTAK R, CAP L. Determination of phenols by solid phase microextraction [J]. *J Chromatogr A* 1997 767(1-2): 171-175

[11] 胡霞林, 刘景富, 彭锦峰, 等. 固相微萃取-高效液相色谱联用测定环境水样中双酚 A 的自由溶解态浓度 [J]. *分析实验室*, 2006 25(7): 109-113

Analysis of Nonylphenol in Water Samples by Automatic Solid-phase Microextraction-Gas Chromatography

CHEN Ling¹, ZHOU Hai-yun², LIU Lan¹, DENG Qin-yang¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

2. Instrumental Analysis and Research Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract An automatic solid phase microextraction procedure coupled with gas chromatography (SPME-GC) was developed and applied for analysis of nonylphenol (NP) in water samples. Several parameters affecting the SPME procedure, including selection of the SPME coating, extraction and desorption time and the ion strength were optimized. The result showed that the fiber coated with polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) of 65 μm thickness was the most appropriate parameter. It was carried out with no salt addition. The optimized adsorption and desorption time were 20 min and 12 min, respectively. The method was linear over the ranges between $5.0 \sim 200 \mu\text{g/L}$ with $r^2 = 0.9973$. The detection limit was $2.0 \mu\text{g/L}$. The recovery was 83.2% ~ 106.4%.

Key words nonylphenol; solid phase microextraction; gas chromatography