2013 年 8 月 色 谱 Vol. 31 No. 8
August 2013 *Chinese Journal of Chromatography* 809 ~ 812

技术与应用 DOI: 10.3724/SP.J.1123.2013.01029

固相萃取-微乳液相色谱法测定环境水体中的 3 种酚类化合物

丘秀珍, 郭会时*, 陈步青

(韶关学院化学与环境工程学院, 广东 韶关 512005)

摘要:建立了固相萃取-微乳液相色谱法同时测定环境水体中的苯酚、双酚 A (BPA)、2,4-二氯苯酚 3 种酚类化合物的检测方法。水样加酸酸化后,经 C18 固相萃取小柱富集净化,用微乳液相色谱法测定 3 种目标物的含量。在 Inertsil C18 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)上以微乳(3.0% 十二烷基硫酸钠(SDS)-6.0% 正丁醇-0.8% 正庚烷-90.2% (水 + 0.5% HAc))和乙腈作为流动相进行梯度洗脱,流速 1.0 mL/min,检测波长 280 nm。结果表明,苯酚、双酚 A、2,4-二氯苯酚的检出限(S/N = 3)依次为 0.74、8.0、8.0 μg/L,线性范围在 0.1 ~ 10 mg/L 范围内,相关系数(r)均大于 0.999。将 3 种酚类化合物定量加到空白水样中,苯酚、双酚 A、2,4-二氯苯酚的加标回收率分别为 82.7%、87.8%、82.6%,其 RSD 均小于 5% (n = 6)。对环境水样的酚类化合物分析也取得了良好的加标回收率,其值均在 85.7% ~ 113.2% 之间。结果表明,该方法准确可靠、灵敏度高,适用于环境水体中酚类化合物的检测。

关键词:固相萃取;微乳液相色谱;苯酚;双酚 A;2,4-二氯苯酚

中图分类号:O658 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-8713(2013)08-0809-04

Determination of three phenolic compounds in water samples by solid phase extraction with microemulsion liquid chromatography

QIU Xiuzhen, GUO Huishi*, CHEN Buqing

(*College of Chemistry and Environmental Engineering, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China*)

Abstract: A method for the determination of phenol, bisphenol A (BPA), 2,4-dichlorophenol in water samples based on solid-phase extraction with microemulsion liquid chromatography (MELC) was established. The water sample was acidified, and then cleaned-up by a C18 solid-phase extraction cartridge. The separation was carried out on an Inertsil C18 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) with a gradient elution using a microemulsion (consisting of 3.0% sodium dodecyl sulfate (SDS), 6.0% butyl alcohol, 0.8% *n*-heptane, 90.2% (water + 0.5% acetic acid)) and acetonitrile as mobile phases at a flow rate of 1.0 mL/min and a detection wavelength of 280 nm. The detection limits (S/N = 3) of phenol, BPA, 2,4-dichlorophenol were 0.74, 8.0, 8.0 μg/L, respectively. Good linearities were achieved for the target compounds over the range of 0.1 – 10 mg/L. The spiked recoveries of three phenolic compounds in blank water samples were 82.7%, 87.8%, 82.6% for phenol, BPA, 2,4-dichlorophenol respectively. The recoveries of target compounds in real water samples ranged from 85.7% to 113.2%. The developed method is simple, selective, sensitive and applicable for the analysis of environmental water samples.

Key words: solid-phase extraction (SPE); microemulsion liquid chromatography (MELC); phenol; bisphenol A; 2,4-dichlorophenol

酚类化合物是生产环氧树脂、聚碳酸酯和聚砜树脂等高分子材料的主要工业原料。研究显示,双酚 A、2,4-二氯酚、五氯酚、壬基苯酚和辛基苯酚等酚类化合物具有雌激素的特性,故亦称“环境荷尔蒙”。这类物质在环境中难以降解,易于在生物体内蓄积,即使含量极低也能使生物内分泌失调,具有

* 通讯联系人. E-mail: guohuishi@163.com.

基金项目:教育部留学回国人员科研启动基金项目(第 39 批);广东省自然科学基金项目(9151200501000008);韶关学院大学生创新创业立项项目.

收稿日期:2013-01-14

致癌、致畸、致基因突变的潜在毒性[1]。工业废水的排放是环境水体中酚类化合物的主要来源之一，因此环境水体中酚类化合物的测定是环境监测中的一个重要课题。

本研究采用微乳液相色谱法(microemulsion liquid chromatography, MELC)分离分析水体中的酚类化合物。微乳液相色谱是以微乳为流动相的高效液相色谱法[2]，微乳是由表面活性剂、助表面活性剂、水相及油相在适当的比例下自发形成的一种稳定的、低黏度的、光学透明且热力学稳定的体系[3]。把表面活性剂引入色谱的两相分配中，增大了分离的选择性。与常规的 HPLC 方法相比，MELC 具有分离效率高和分离速度快的优越性，且由于其独特的组成，使得各种极性的物质都能在微乳中溶解，因而非常适合于各种极性较强的混合物的分离[4-12]。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司)，配有二极管阵列检测器(PDA)；C18 固相萃取小柱(60 mg, 3 mL，迪马科技有限公司)。

苯酚(0.93 g/L，中国计量科学院)、2,4-二氯苯酚(1.00 g/L，中国计量科学院)、双酚 A(BPA，1.00 g/L，上海展云化工有限公司)；乙腈、甲醇、正己烷(色谱纯)；十二烷基硫酸钠(SDS)、正丁醇、庚烷、冰醋酸、二氯甲烷、乙酸乙酯(分析纯)。

1.2 微乳的制备

微乳成分：将表面活性剂、油相、助表面活性剂及水和冰醋酸按顺序混合[5-7]，其质量分数分别为 3.0% SDS、6.0% 正丁醇、0.8% 正庚烷、90.2% 水 + 冰醋酸(99.5∶0.5, v/v)。超声 30 min 至形成澄清透明溶液，经 0.45 μm 滤膜过滤，静置，即得透明稳定的微乳。

1.3 样品处理

准确量取 1 L 水样，以硫酸调节水样 pH = 2，将水样以 3 ~ 5 mL/min 的流速通过 C18 固相萃取小柱，用氮气吹扫，以排出小柱中滞留的水分。再用甲醇以 1.0 mL/min 的流速洗脱，收集洗脱液，定容至 10.00 mL。

1.4 色谱条件

色谱柱：Inertsil C18 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)；流动相：微乳-乙腈，采用梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1；流速：1 mL/min；柱温：室温；检测波长：280 nm；进样量：20 μL。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

Time/min	φ(Microemulsion)/%	φ(Acetonitrile)/%
0.01	70	30
7.00	30	70
9.00	30	70
12.00	70	30
20.00	70	30

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的优化

2.1.1 洗脱剂的选择

由于酚类化合物具有强极性基团，故极性较大的溶剂对酚类化合物具有较强的溶解能力。实验考察了用甲醇、乙醇、乙酸乙酯作洗脱剂对酚类化合物的洗脱能力。实验发现，甲醇的洗脱效果最好，酚类化合物能完全洗脱下来，提取率高，且杂质干扰小。

2.1.2 溶液 pH 值的选择

酚的酸性随卤素或硝基取代数目的增加而提高，在接近中性的水中主要是离解态。要使酚类主要以非离子形式存在，须将水样酸化。实验考察了用硫酸调节水样 pH 值为 1 ~ 4 时固相萃取小柱对 3 种酚类化合物的保留能力，结果表明，水样 pH = 2 时，固相萃取小柱对 3 种酚类化合物的保留能力最强。

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 流动相的选择

分别以乙腈-水(50∶50, v/v)、乙腈-水(表 1 梯度程序，以水代替微乳)、乙腈-微乳(表 1 梯度程序)作流动相，考察了不同流动相体系对酚类化合物分离的影响。结果显示，用乙腈和水作流动相时，BPA 和 2,4-二氯苯酚分不开；以乙腈-微乳作流动相时，按表 1 梯度洗脱，3 种酚类物质得到了较好的分离度，且出峰时间适宜，见图 1。故选择乙腈-微乳体系作流动相。

2.2.2 表面活性剂含量的选择

据文献报道，表面活性剂 SDS 的含量一般为 3% ~ 5% (质量分数)，易形成 O/W 型的微乳。在微乳形成的浓度范围内，随着表面活性剂浓度的增加，微乳液滴的粒径减小，比表面积增大，溶质与分散相作用的机会增加，与微乳液滴有相互作用的溶质(即亲脂化合物)的保留降低[8-10]。实验考察了 SDS 的质量分数为 1.5%、3.0%、3.3%、5.0% 时对酚类化合物的分离效果。结果表明，SDS 的质量分数为 3.0% 时，3 种酚类化合物的出峰时间适宜，分离度较好；SDS 的质量分数为 5.0% 时形成的微乳体

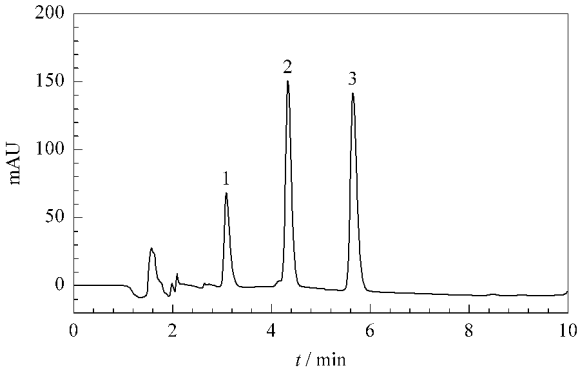

图 1　混合标准溶液的色谱图

Fig. 1　Chromatogram of a mixed standard sample

1. phenol (0.093 mg/L); 2. bisphenol A (0.10 mg/L); 3. 2,4-dichlorophenol (0.10 mg/L).

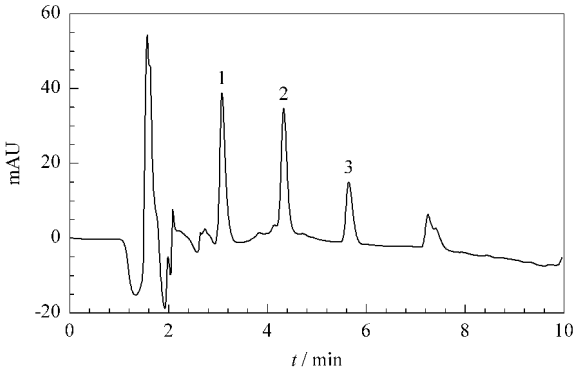

图 2　加标水样的色谱图

Fig. 2　Chromatogram of a water sample spiked with standards

1. phenol (0.062 mg/L); 2. bisphenol A (0.025 mg/L); 3. 2,4-dichlorophenol (0.010 mg/L).

系不稳定。

2.2.3　油相的种类及含量的选择

考察了不同油相(正己烷、正辛烷、正庚烷)对 3 种酚类化合物的分离效果,发现用正庚烷作油相的微乳对 3 种酚类化合物的选择性较好。在微乳中增加油的含量,流动相中的有机相比例增加,溶质的保留时间降低[11]。实验表明,正庚烷用量为 0.8% 时 3 种目标物的出峰时间短,分离度较高。

2.2.4　助表面活性剂的种类及含量的选择

助表面活性剂含量对组分保留的影响不及表面活性剂,但其类型不同对分离的选择性影响较大[12]。本实验考察了用正丁醇、正辛醇、正戊醇等溶剂作助表面活性剂,质量分数分别为 6.0% 和 6.6% 时对酚类化合物的分离效果,结果显示,只有用 6.0% 的正丁醇作助表面活性剂才能形成稳定的微乳体系,并使 3 种酚类化合物得到很好的分离。

2.2.5　流动相酸度的选择

考察了加入 0.0%、0.1%、0.2%、0.4%、0.5% (体积分数)醋酸和 0.1% 磷酸缓冲液的微乳体系对分离的影响。结果显示,随着微乳体系 pH 值的减小,各目标物的保留因子略有增大,且加入 0.5% 醋酸时形成的微乳体系更稳定,故实验选用在水相中加入 0.5% 醋酸。

图 2 为在优化的色谱条件下实际水样的加标色谱图。

2.3　线性关系及检出限

将质量浓度分别为 0.1、0.5、1.0、5.0、10.0 mg/L 的双酚 A、2,4-二氯苯酚和苯酚标准溶液依次进样分析,以峰面积 y 对质量浓度 x (mg/L)进行线性回归;采用在空白蒸馏水中添加目标组分的方法,依据色谱峰的信噪比(S/N)大于 3 确定本方法的检出限;结果见表 2。

表 2　线性方程、相关系数与检出限

Table 2　Linear equations, correlation coefficients and detection limits

Compound	Linear equation	Correlation coefficient (r)	Detection limit/ (μg/L)
Phenol	$y = 98018x + 103605$	0.9996	0.74
BPA	$y = 98018x + 103605$	0.9991	8.0
2,4-Dichlorophenol	$y = 11750x + 1838.3$	0.9990	8.0

y: peak area; x: mass concentration, mg/L.

2.4　方法的回收率和精密度

在蒸馏水、自来水和河水 3 种基质中进行 5.0、10.0 mg/L 两个质量浓度水平的加标回收试验,每个浓度进行 6 次平行试验,测定 3 种酚类化合物的平均回收率和精密度(见表 3)。结果表明,在纯水基体中苯酚、双酚 A、2,4-二氯苯酚的平均回收率依次为 82.7%、87.8%、82.6%;实际环境水样基体中酚

表 3　3 种化合物的回收率与 RSD(n = 6)

Table 3　Recoveries and the relative standard deviations (RSDs, n = 6) of the three compounds

Compound	Added/ (mg/L)	Pure water		Tap water		River water	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
Phenol	5.0	81.6	2.8	85.7	3.0	101.2	1.7
	10.0	83.8	1.8	89.6	2.4	107.6	2.3
BPA	5.0	85.3	1.4	89.8	4.1	99.7	1.9
	10.0	90.3	2.1	96.9	2.8	94.6	4.6
2,4-Dichlorophenol	5.0	81.1	3.3	88.1	2.3	113.2	2.7
	10.0	84.1	1.2	97.8	3.1	109.6	3.0

类化合物的回收率均在 85.7% ~ 113.2% 之间,相对标准偏差(RSD)(n = 6)均小于 5%,表明方法的精密度和准确度均较好。

3 结论

本方法把微乳体系加入到液相色谱流动相中,增大了组分在两相中的选择性,使结构相似、极性较强的酚类化合物得到了较好的分离。该方法简便、快速,准确度高,且溶剂用量少,绿色环保,适用于饮用水、工业废水、生活污水等环境水体中酚类化合物的检测。

参考文献:

[1] Zhou Y L. Journal of Environmental Monitoring Management and Technology (周艳玲. 环境监测管理与技术), 2011, 23 (Suppl): 70

[2] Liu J F, Sun J, He Z G. Chinese Journal of Analytical Chemistry (刘建芳, 孙进, 何仲贵. 分析化学), 2007, 35 (10): 1529

[3] Zhang T, Cui Y. Chinese Journal of Chromatography (张婷, 崔颖. 色谱), 2011, 29(8): 768

[4] Li N, Huang G L, Li Y L, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (李宁, 黄光亮, 李玉兰, 等. 分析化学), 2009, 37(12): 1791

[5] Li N, Hou X Z, Wang J X, et al. Journal of Instrumental Analysis (李宁, 侯璇珠, 王锦旋, 等. 分析测试学报), 2010, 29(2): 115

[6] Marsh A, Clark B J, Altria K D. Chromatographia, 2005, 61: 539

[7] Yang J R, Huang L N, Huang G L, et al. Chinese Journal of Chromatography (杨建锐, 黄丽娜, 黄光亮, 等. 色谱), 2011, 29(10): 995

[8] McEvoy E, Donegan S, Power J, et al. Chromatographia, 2008, 68: 49

[9] He S, Zhang Z Y, Zhang S Y. Journal of Instrumental Analysis (贺帅, 张忠义, 张守尧. 分析测试学报), 2008, 27(6): 654

[10] Chen L J, Zhang Z Y, Zhang S Y. Journal of Instrumental Analysis (陈莉婧, 张忠义, 张守尧. 分析测试学报), 2009, 28(10): 1217

[11] Ren J B, Dai M, Li N. Journal of Instrumental Analysis (任晶波, 戴敏, 李宁. 分析测试学报), 2011, 30(5): 562

[12] Altria K D, Marsh A, Clark B J. Chromatographia, 2006, 63: 309