

研究简报

固相微萃取/ 高效液相色谱联用分析 水样中邻苯二甲酸酯

王超英, 李碧芳, 李攻科

(中山大学 化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘要: 研究了固相微萃取 (SPME) / 高效液相色谱 (HPLC) 联用测定环境中痕量邻苯二甲酸酯的分析方法。比较了 5 种不同类型涂层对 5 种邻苯二甲酸酯的萃取效果, 采用 3 因素 3 水平正交实验设计对 SPME 的条件如萃取时间, 离子强度, 解吸时间等进行了优化。SPME 优化的条件为: 65 μm 聚二甲基硅烷/ 乙烯苯 (PDMS/DVB) 涂层, 室温, 搅拌速率 1 100 r/min, 萃取时间 30 min, 纯乙腈解吸, 解吸时间 2 min。HPLC 的条件: C_{18} 反相色谱柱, 乙腈- 水 (体积比 60: 40) 梯度淋洗, 流速 1 mL/min, 紫外检测波长 228 nm。方法的线性范围为 0.50~ 80.00 $\mu\text{g/L}$, 检出限为 0.11~ 2.20 $\mu\text{g/L}$, 相对标准偏差 ($n=6$) 为 2.5% ~ 9.6%。用于自来水、凉开水和雨水等实际水样的分析, 回收率为 82% ~ 128%。

关键词: 固相微萃取; 高效液相色谱; 邻苯二甲酸酯; 水样

中图分类号: O657; O658 文献标识码: A 文章编号: 1004- 4957(2005) 05- 0035- 04

Determination of Phthalate Esters in Water Samples by Solid-phase Microextraction and High Performance Liquid Chromatography

WANG Chao_ying, LI Bi_fang, LI Gong_ke

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

Abstract: A solid-phase microextraction (SPME) method coupled with HPLC/UV was developed and validated for the determination of five phthalate esters (dimethyl-, diethyl-, di-n-butyl-, butylbenzyl-, di-2-ethyl-hexyl- and di-n-octyl phthalate) in water samples. Five different types of SPME polymer coatings were investigated. On the basis of orthogonal experiments with three factors, three levels and nine groups, the SPME experimental conditions, such as extraction time, effects of ion strength, and thermal desorption time were optimized. The optimized parameters for the SPME method were as follows: 65 μm PDMS/DVB fiber, room temperature, stirring rate of 1 100 r/min, extraction time of 30 min, thermal desorption time of 5 min, and use of acetonitrile as desorption solution. Acetonitrile- water (60: 40 by volume) was used as the mobile phase with gradient elution on the C_{18} reversed phase chromatography column, and the flow rate was 1 mL/min. The detection wavelength was 228 nm with the UV-VIS detector. The linear range of the method was determined to be from 0.50 to 80.00 $\mu\text{g/L}$, and the detection limit varied from 0.11 to 2.20 $\mu\text{g/L}$. The relative standard deviation ($n=6$) was 2.5% - 9.6%. This method was used for determination of phthalate esters in water sample, such as tap, boiled and rain water, and the recoveries ranged from 82% to 128%. The method is fast, convenient, sensitive, solvent-free, and suitable for the determination of trace phthalate esters in environmental water samples.

Key words: Solid-phase microextraction; High-performance liquid chromatography; Phthalate esters; Water sample

邻苯二甲酸酯是农药载体、驱虫剂、化妆品、香味品、润滑剂和去泡剂的生产原料, 在家具、汽车、电线电缆、服装等行业也有广泛的应用。由于邻苯二甲酸酯的大量使用对生态环境造成了污染。邻苯

收稿日期: 2004- 08- 09; 修回日期: 2005- 01- 12

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (031586); 广东省高等学校“千百十工程”优秀人才培养基金资助项目 (Q 校 02006); 贵州省科学技术基金资助项目

作者简介: 王超英 (1958-), 女, 云南开远人, 副教授; 李攻科, 联系人, Tel: 020- 84110922, E-mail: cesgkl@zsu.edu.cn

二甲酸酯具急毒性和致畸、致突变性, 甚至还有致癌活性^[1], 因此国内外已将此类化合物列为优先控制污染物。目前, 关于环境中邻苯二甲酸酯预富集方法有液-液萃取、固相萃取、索氏提取和超声提取, 超临界流体萃取^[2]、微波辅助萃取^[3]和固相微萃取^[4-6](SPME)。Kelly 等^[4]用 SPME/HPLC 联用比较了 4 种涂层富集水溶液中邻苯二甲酸二乙酯(DEP)的效果, Penalver 等^[5]用 SPME/GC-MS 联用分析了水样中 6 种邻苯二甲酸酯和 1 种乙二酸酯。刘振岭等^[6]采用自制的聚硅氧烷/富勒烯聚二甲基硅氧烷涂层, 顶空 SPME 富集水中 5 种邻苯二甲酸酯, 其选择性优于商用的 SPME 涂层。本文建立了 SPME/HPLC 联用测定环境水样中痕量邻苯二甲酸酯的分析方法, 比较了 5 种商用涂层对水样中 5 种邻苯二甲酸酯的萃取效果, 采用正交实验优化了 SPME 条件, 并用于实际样品的分析。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

日本 Shimadzu(岛津公司)液相色谱仪, 包括 LC_10Avp 双泵系统, SPD_10Avp UV-Vis 检测器, SCL_10Avp 系统控制器与 CLASS-VP 液相色谱工作站; Diamonsil C₁₈ 色谱柱(200×4.6 mm i.d., 5 μm)。美国 Supelco 公司固相微萃取装置, 萃取头: 涂层为 7 μm 和 100 μm 聚二甲基硅烷(PDMS); 65 μm 聚二甲基硅烷/乙烯苯(PDMS/DVB); 85 μm 聚丙烯(PA); 50 μm 聚乙二醇/模板树脂(CW/TPR)。SPME/HPLC 接口(由六通进样阀和解吸室组成)。

5 种邻苯二甲酸酯标准品: 邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)、邻苯二甲酸二正辛酯(DOP), 质量浓度为 1 000 μg/mL 甲醇溶液(国家环保总局标准样品研究所提供), 用甲醇稀释为 20 μg/mL 的储备液, 标准工作液由储备液用纯水稀释而成。色谱纯乙腈(Merk, Germany)。怡宝纯净水(怡宝食品饮料深圳有限公司), 所有流动相均经 0.45 μm 滤膜过滤; 氯化钠(GR, 广州化学试剂厂, 使用前在马弗炉中 500 °C 下烧 4 h)。

1.2 样品采集

对于实际水样的采集均是用在高温下烘过的烧杯直接盛装, 不经过任何的塑料制品。

另外, 取来装熟食用的一次性白色塑料袋和快餐盒, 分别用 40 mL 煮沸纯净水浸泡, 冷却后进行测定。

根据保留时间进行定性, 5 种邻苯二甲酸酯的标准色谱图见图 1; 在 SPME 非平衡态下^[7]对峰面积积分进行外标法定量。

1.3 实验方法

在室温下, 调节搅拌子转速为 1 100 r/min, 将 65 μm PDMS/DVB 纤维浸没于 4 mL 含 100 g/L NaCl 萃取溶液中, 萃取 30 min 后, 在解吸室用纯乙腈静态解吸 5 min。然后在反相色谱柱上进行梯度洗脱: 0~5 min, 流动相从乙腈-水(体积比 6:4)过渡到 100% 乙腈, 5~20 min 保持 100% 乙腈; 流速为 1 mL/min, 于 228 nm 处检测邻苯二甲酸酯。

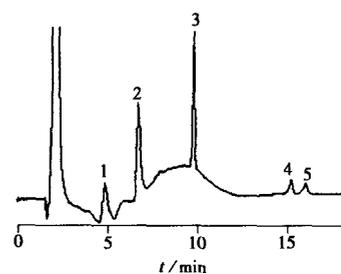


图 1 邻苯二甲酸酯标准色谱图
Fig. 1 Chromatogram of phthalate esters
1. DMP; 2. DEP; 3. DBP; 4. DEHP; 5. DOP(4.0 μg/L for each phthalate esters)

2 结果与讨论

2.1 涂层的选择和 SPME 条件的优化

2.1.1 涂层的选择 选择了 5 种商用的、包括了吸收和吸附^[8] 2 种类型和不同极性的涂层进行了比较研究。

同样是吸收型的涂层, PDMS 涂层是在熔融石英纤维上涂有一层交联的液体膜, 而 PA 涂层则是固体膜。这种涂层在萃取过程中, 分析物在涂层上的迁入和迁出不存在竞争, 涂层的萃取能力取决于涂层的厚度和分析物的相对分子质量大小^[9]。涂层的极性则决定其适合于何种分析物的萃取。

由于 PDMS 涂层是非极性的, 它对极性较强的 DMP 和 DEP 的萃取效率很低。在同样的实验条件下, 7 μm 的 PDMS 比 100 μm 萃取更多的非极性物质 DEHP 和 DOP, 这是因为 7 μm 的涂层比较薄, 邻苯

二甲酸酯在涂层和水相中达到吸收平衡的时间较短, 解吸时也能迅速地从涂层迁移到解吸溶剂。极性的 PA 涂层对 5 种邻苯二甲酸酯的萃取效果均不理想。

吸附型的涂层 65 μm PDMS/DVB 和 50 μm CW/TPR 的涂层为固相膜, 材料表面的孔状结构在范德华力和氢键作用下很容易捕捉到分析物。由于固相涂层的吸附位点有限, 各分析物在涂层上的吸附和脱附是一个竞争过程, 会对萃取效率产生影响。这 2 种涂层对邻苯二甲酸酯表现出较好的萃取效果。由于这 5 种物质的极性范围较宽, 综合考虑各物质的分析灵敏度, 选 65 μm PDMS/DVB 涂层进行下一步的研究。

2.1.2 正交设计优化萃取条件 SPME 过程包括了萃取和解吸两个步骤, 对邻苯二甲酸酯的分析体系, 萃取时间(A)、萃取溶液的离子强度(B)和解吸时间(C)是影响分析灵敏度和重复性的最主要的 3 个因素, 每个因素取 3 个水平进行正交实验, 设计安排与实验分析结果见表 1、2。

从正交分析表可以看出, 萃取溶液中 NaCl 的浓度是影响萃取效果的最主要因素, 对 4 种邻苯二甲酸酯(除 DBP) 的萃取效率都有显著的提高作用, 而 NaCl 的加入对 DBP 则是负效应。实际上, NaCl 对萃取效率的影响非常复杂, 主要有 3 个方面^[10]: 首先是当分析物在水溶液中以中性分子形式存在时, NaCl 的加入增加了溶液的离子强度, 产生“盐析效应”, 降低了分析物在溶液中的溶解度, 因而增加了吸附量; 其次是溶液中盐的存在会改变涂层上静态液膜的物理性质, 从而减小了分析物从静态液膜到涂层的扩散速度; 最后是由于分析物与氯化钠的某些物理作用, 使其在溶液中稳定存在。这些因素综合作用的结果, 使 NaCl 的加入对 5 种邻苯二甲酸酯的影响有正负两种效应。综合 5 种物质的分析灵敏度, 最后选择 100 g/L 的盐度。

萃取时间是第二个主要影响因素, 在未达到萃取平衡前, 增加萃取时间可以提高萃取量。结果表明: 萃取时间越长, DMP、DEP、DEHP 和 DOP 被涂层吸附的量越大。时间的增加对这 4 种物质灵敏度的提高有显著作用, 这是因为 60 min 时这些物质还未到达萃取平衡。而 DBP 在 5 种邻苯二甲酸酯的分析灵敏度中是最高的, 其达到平衡的时间比较短, 所以当萃取时间增大, DBP 在涂层上的吸附就受到其他 4 个物质的竞争, 导致其吸附量有所降低。在保持分析灵敏度的前提下选取了 30 min 的萃取时间。

解吸时间对灵敏度的影响不大, 解吸是分析物在涂层和解吸溶液两相中的分配过程, 解吸过程应该是逐渐趋于平衡的, 是一个动态的解吸、吸附平衡。在乙腈溶液中, 邻苯二甲酸酯达到解吸平衡的时间很短, 实验选择 5 min。

2.2 线性范围、检出限及精密度

在优化的实验条件下, 对 0.5~ 80 $\mu\text{g/L}$ 范围内的 5 种邻苯二甲酸酯的标准工作液进行萃取分析, 根据峰面积和浓度的关系计算标准工作曲线, 按 IUPAC 标准计算检出限, 见表 3。

表 1 $L_9(3^3)$ 正交实验设计

Table 1 Orthogonal experiment design of $L_9(3^3)$

Sample No	A	B	C
	Extraction time <i>t</i> /min	NaCl concentration $\rho_{\text{NaCl}}/(g \cdot L^{-1})$	Desorption time <i>t</i> /min
1	30	0	2
2	30	200	5
3	30	360	8
4	45	0	5
5	45	200	8
6	45	360	2
7	60	0	8
8	60	200	2
9	60	360	5

表 2 5 种邻苯二甲酸酯正交分析结果

Table 2 Orthogonal analytical results of phthalate esters

	Level	Peak area/%		
		A	B	C
DMP	1	62.0	51.3	82.6
	2	84.4	100	78.4
	3	100	86.5	100
	$\Delta(X_{\text{max}} - X_{\text{min}})$	38.0	49.7	21.6
DEP	1	63.1	46.3	83.0
	2	82.0	77.4	100
	3	100	100	67.4
	$\Delta(X_{\text{max}} - X_{\text{min}})$	36.9	53.7	32.6
DBP	1	100	100	100
	2	88.4	53.9	88.8
	3	67.6	49.6	62.2
	$\Delta(X_{\text{max}} - X_{\text{min}})$	32.4	50.4	37.8
DEHP	1	55.6	25.5	100
	2	70.6	95.8	91.7
	3	100	100	94.1
	$\Delta(X_{\text{max}} - X_{\text{min}})$	44.4	74.5	8.3
DOP	1	51.1	20.0	99.9
	2	71.0	76.5	100
	3	100	100	89.6
	$\Delta(X_{\text{max}} - X_{\text{min}})$	48.9	81.0	11.4

表 3 方法线性范围、相关系数、检出限和精密度
Table 3 Linear range, correlation coefficient, detection limit and precision of the method

Compound	Linear range	Correlation coefficient	Detection limit	RSD
	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	r	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$s_r/\%$
DMP	0.50~ 40.00	0.999 5	0.11	2.5
DEP	1.00~ 80.00	0.999 8	0.43	9.1
DBP	1.00~ 80.00	0.999 9	0.31	9.6
DEHP	2.50~ 40.00	0.998 9	2.20	9.4
DOP	2.50~ 40.00	0.998 9	2.07	8.7

2.3 实际样品的分析

在优化的实验条件下,分别测定了饮用自来水、凉开水及雨水样品中的邻苯二甲酸酯,同时作了回收率,分析结果见表 4,3 种实际水样的色谱图见图 2。

表 4 实际水样分析结果
Table 4 Analytical results of real samples

Compound	Real sample	Concentration	Added	Recovery	RSD
		$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho_x/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$R/\%$	$s_r/\%$
DMP	Drinkable tap water	ND	1.00	88	4.9
	Cool boiled water	ND	2.50	88	5.3
	Rain water	ND	2.50	82	3.7
DEP	Drinkable tap water	ND	1.00	96	7.3
	Cool boiled water	ND	2.50	89	8.4
	Rain water	ND	2.50	86	5.8
DBP	Drinkable tap water	2.78	2.00	128	9.5
	Cool boiled water	14.40	15.00	86	9.6
	Rain water	5.36	5.00	118	10.5
DEHP	Drinkable tap water	NQ	10.00	91	8.7
	Cool boiled water	ND	10.00	90	7.2
	Rain water	NQ	10.00	84	9.7
DOP	Drinkable tap water	ND	10.00	104	4.3
	Cool boiled water	ND	10.00	110	3.6
	Rain water	ND	10.00	98	4.9

ND. not detected; NQ. detected but not quantified

可以看出, DBP 含量不高的自来水在经过锅炉烧水系统后浓度增加了 5 倍,可能是在加工过程中引入了 DBP。此开水中 DBP 的浓度已经超过了安全饮用水的标准。

另外,还对市场上销售的塑料瓶装纯净水和蒸馏水萃取进样,检出 DBP 和 DEHP,而且生产日期越早邻苯二甲酸含量越高。分析塑料袋的浸取液,扣除纯净水空白后进行定量, DBP 溶出量为 $3.77 \mu\text{g}/\text{L}$, DEHP 与 DOP 均检出,但不能定量,而快餐盒的浸取液则检出 $2.77 \mu\text{g}/\text{L}$ 的 DMP。综合以上的分析结果,邻苯二甲酸酯在环境中随处可被检测到。

参考文献:

- [1] WILLIAM J A, GREGORY R B, KENNETH A R, *et al.* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1995, 14(9): 1569-1574.
- [2] CRISTINA N, ESTHER A, CAROLINA J. [J]. *Anal Chem*, 2002, 74(22): 5831- 5836.
- [3] CHEE K K, WONG M K, LEE H K. [J]. *Anal Chim Acta*, 1996, 330(2- 3): 217- 227.
- [4] KELLY M T, LARROQUE M. [J]. *J Chromatogr, A*, 1999, 841(2): 177- 185.
- [5] PENALVER A, POCURULL E, BORRULL F, *et al.* [J]. *J Chromatogr, A*, 2000, 872: 191- 201.
- [6] LIU Zhenling, XIAO Chunhua, WU Caiying, *et al.* [J]. *Chinese Journal of Chromatography*(刘振岭, 肖春华, 吴采樱, 等. [J]. 色谱), 2000, 18(6): 568- 570.
- [7] AI J. [J]. *Anal Chem*, 1997, 69(6): 1230- 1236.
- [8] SHIREY R E, MINDRUP R F. SPME- Adsorption versus Absorption: Which Fiber is Best for Your Application? Supelco, 1999, T400011.
- [9] MODER M, SCHRADER S, FRANCK U, *et al.* [J]. *Fresenius J Anal Chem*, 1997, 357(2): 326- 334.
- [10] WU Y C, HUANG S D. [J]. *J Chromatogr, A*, 1999, 835(1- 2): 127- 135.

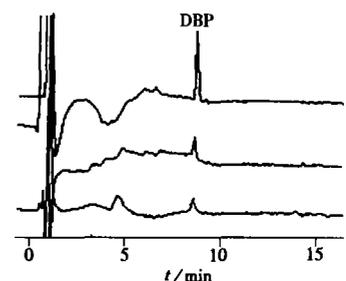


图 2 实际水样色谱图

Fig. 2 Chromatogram of real samples
1. drinkable tap water; 2. rain water; 3. cool boiled water