

固相萃取技术预富集环境水样中邻苯二甲酸酯

戴树桂, 张东梅, 张仁江, 张林, 金珊珊(南开大学环境科学与工程学院, 天津 300071, E-mail: sgdai@public1.tpt.tj.cn)

摘要: 使用 C_{18} 固相萃取柱, 系统地研究了环境水样中邻苯二甲酸酯类化合物的固相萃取预富集方法, 考虑影响回收率的 4 个主要因素, 即水样流速、洗脱溶剂、洗脱溶剂用量及洗脱速率, 利用正交试验进行萃取条件的优化。最后确定最佳萃取条件为: 水样流速 $4\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 洗脱溶剂为乙酸乙酯、洗脱溶剂用量 2 mL , 洗脱速率 $2\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。并探讨了其它影响萃取效果的因素, 除邻苯二甲酸二辛酯(DEHP)外, 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)的固相萃取回收率在 $96.5\% \sim 120\%$ 范围内, 相应化合物的液-液萃取回收率为 $92.9\% \sim 120\%$ 。表明固相萃取, 在环境水样中的邻苯二甲酸酯类化合物分离富集方面可以取代液-液萃取。同时, 进行了固相萃取柱在不同条件下的贮存实验。

关键词: 固相萃取, 邻苯二甲酸酯, C_{18} 固相萃取柱, 预富集。

中图分类号: X832.02 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2000)02-0066-04

Isolation of Phthalate Esters in Aquatic Samples by C_{18} Bonded-Phase Extraction Column

Dai Shugui, Zhang Dongmei, Zhang Renjiang, Zhang Lin, Jin Sansan(College of Environmental Science & Engineering of Nankai University, Tianjin 300071, China E-mail: sgdai@public1.tpt.tj.cn)

Abstract: In this paper, the method of preconcentration of phthalate esters in water was systematically studied. Several factors which may affect recoveries of analytes were optimized by orthogonal design. These include flow-rate, type of eluting solvent, amount of eluting solvent and eluting rate. The optimized results were as follows: flow-rate was $4\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, eluting solvent was ethyl acetate, amount of eluting solvent was 2 mL , and eluting rate was $2\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Except DEHP, the recoveries of DMP, DEP, DBP were between $96.5\% \sim 120\%$ and $92.9\% \sim 120\%$ by solid phase extraction(SPE) and L-L extraction, respectively. Compared with L-L extraction, SPE was rapid, less labor intensive and eliminates the need for large volumes of hazardous and expensive solvents. It can replace L-L extraction for isolating and concentrating environmental pollutants in aquatic samples. In addition, the experiment of storage of C_{18} column in different conditions was done.

Keywords: solid phase extraction, phthalate esters, C_{18} column, preconcentration.

近年来国内的研究工作者开始采用自制的固相萃取柱进行环境水样中预测物的分离富集^[1~2]。它虽具有固相萃取的一些优点, 但也存在明显的缺点: 萃取柱需经预处理(一般为 8h)才能使用; 不能现场采样, 不便于携带和保存。本研究以邻苯二甲酸酯类化合物(PAEs)中的 4 种化合物: 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)、邻苯二甲酸二辛酯(DEHP)为代表化合物, 选择 C_{18} 键合硅胶为吸附介质, 系统研究了环境水样中邻苯二甲酸酯类化合物的固相萃取条件及其影响因素。

1 实验部分

1.1 试剂与器材

甲醇, 乙酸乙酯, 二氯甲烷, 正己烷, 乙腈, 无水 Na_2SO_4 均为分析纯, C_{18} 型小柱分别购于天津津杨滤材厂和天津富集色谱技术公司, C_{18} 柱的填料量为 500 mg , 22 型注射泵(Syringe pump 22), 美国 Harvard Apparatus 公司生产, 日本岛津 GC-9A 气相色谱仪, 惠普 HP-5 型石英毛细柱, 玻璃注射器 10 mL 、 20 mL 若干,

作者简介: 戴树桂(1927~), 男, 教授, 博士生导师。
收稿日期: 1999-06-29

752C 紫外可见分光光度计, 惠普 HP-5890 型 GC/MS.

1.2 实验方法

(1)固相萃取操作步骤 ①C₁₈柱的活化与润湿: 用 5m l 左右甲醇通过小柱, 并浸泡 1~2m in, 再用约 5~10m l 去离子水将甲醇顶出柱子. ②样品的萃取: 使水样以一定的流量(约 1~5m l•m in⁻¹)通过柱子. ③柱子的净化: 用去离子水以一定速度通过柱子, 以除去一些干扰杂质; 柱子的干燥: 用注射器中空气将柱中的残留水分顶出, 此步骤是为了减少在洗脱液脱水步骤中无水 Na₂SO₄ 用量. ④洗脱: 用几毫升有机溶剂将柱上吸附的分析物淋洗下来. ⑤柱子的再生: 用一种或几种有机溶剂通过柱子.

(2)洗脱液的脱水 在洗脱液中加入足够量的无水 Na₂SO₄ 充分振荡, 静置, 以除去洗脱液中的水分, 然后转移至另一浓缩管中.

(3)浓缩 将洗脱液用 N₂ 流或空气流吹至所需体积.

(4)定量分析 色谱柱升温 and 控温程序:

120℃ (2m in) $\xrightarrow{5^{\circ}\text{C}\cdot\text{m in}^{-1}}$ 200℃
 $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}\cdot\text{m in}^{-1}}$ 250℃ (10m in)

进样口温度: 300℃, 检测器温度: 300℃, 载气: 高纯氮气, 柱前压: 0.8kg/cm², 尾吹流量: 40m l•m in⁻¹, 进样方式: 分流进样, 分流比: 30:1, 进样量: 5~10μl, FID: 氢气流量 37m l•m in⁻¹, 空气流量 550m l•m in⁻¹.

(5)定性分析 色谱柱升温 and 控温程序:

120℃ (2m in) $\xrightarrow{5^{\circ}\text{C}\cdot\text{m in}^{-1}}$ 200℃
 $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}\cdot\text{m in}^{-1}}$ 250℃ (10m in)

进样口温度: 300℃, 色-质传输线路温度: 300℃; 载气: 高纯氮, 流量: 1.0m l•m in⁻¹ (柱头压, 2.1kg•cm⁻²); 进样方式: 分流进样, 分流比: 30:1, 进样量: 1~5μl, 质谱离子源: 电子轰击源(EI), 质谱调谐标准物质: 全氟三丁胺(Perfluorotributylamine: PFTBA), 样品定性方法: 全扫描方式, 扫描质量范围: 30~450am u, 同时结合标准物质的色谱保留时间确

证, 质谱检测谱库: NBS75K (美国国家标准局).

1.3 实验结果与讨论

(1)pH 对回收率的影响 选择 pH=2、pH=6、pH=10 的 4 种 PAEs 加标水样进行回收率试验, 结果见表 1. 表 1 表明, pH=6 为水样最佳条件. 以下试验均选择 pH=6.

表 1 4 种 PAEs 在不同 pH 值下的回收率/%

pH	DMP	DEP	DBP	DEHP
2	90.5	89.4	78.1	11.2
6	99.4	103.1	80.9	13.3
10	20.7	35.2	40.7	10.9

(2)正交试验设计 为确定水样流速, 洗脱溶剂, 洗脱溶剂用量及洗脱速率 4 个因素对 PAEs 回收率的影响, 设计了 3 水平 4 因子(3⁴) 正交试验表^[3](表 2), 以确定最佳萃取条件, 选择水样中污染物浓度为 mg•L⁻¹ 级, 而不是痕量水平是为了避免溶质与水的竞争吸附对回收率测定的影响以及由于浓缩引起的误差^[4,5]. 正交试验结果见表 3.

表 2 PAEs 正交试验

试验号	流速	洗脱液	洗脱速率	洗脱体积
	/m l•m in ⁻¹		/m l•m in ⁻¹	/m l
1	1.0	乙腈	0.5	1.0
2	1.0	乙酸乙酯	1.0	2.0
3	1.0	二氯甲烷	2.0	4.0
4	2.0	乙腈	1.0	4.0
5	2.0	乙酸乙酯	2.0	1.0
6	2.0	二氯甲烷	0.5	2.0
7	4.0	乙腈	2.0	2.0
8	4.0	乙酸乙酯	0.5	4.0
9	4.0	二氯甲烷	1.0	1.0

正交试验结果分析: 先计算每一因素每一水平下试验指标(即回收率)的平均值, 由平均值求出试验指标随因素水平变化而改变的最大范围即极差 R, 结果见表 4. 从 4 因素极差 R 影响大小分析, 洗脱液对 3 种酯影响均最大, 其次是洗脱速率, 再次为洗脱体积的影响, 水样流速的影响最小. 因此选择流速为 4m l•m in⁻¹, 洗脱液为乙酸乙酯, 洗脱体积为 2m l, 洗脱速率为 2m l•m in⁻¹, 即保证了较高的回收率, 又使萃

取能在较短时间内完成.

表 3 PAEs 正交试验回收率/%

试验号	DMP	DEP	DBP	DEHP
1	82.0	83.9	50.5	2.4
2	98.4	99.2	86.6	23.4
3	83.6	87.8	93.5	39.5
4	77.5	72.2	54.3	4.2
5	105.2	105.9	92.0	8.4
6	89.7	92.4	90.9	14.4
7	87.9	88.5	69.9	2.8
8	95.2	96.0	90.2	7.4
9	73.8	75.6	77.0	10.0

表 4 PAEs 正交试验极差(R) 优化分析结果

PAEs	流速	洗脱液	洗脱体积	洗脱速率
	/m l• m in ⁻¹	/m l	/m l	/m l• m in ⁻¹
DMP	4.1	17.2	6.6	9.0
DEP	3.6	18.9	8.1	8.8
DBP	2.2	31.4	9.3	12.5
DEHP	15.2	18.2	10.1	8.8

(3) 甲醇对 PAEs 回收率的影响 表 5 给出了不同浓度甲醇对 4 种 PAEs 回收率的影响结果. 由表 5 可以看出, 随甲醇的加入, DEHP 的回收率有提高, 但同时 DMP、DEP 的回收率下降很快. 尤其是 DMP, 在未加甲醇时回收率接近 100%, 而在加 10% 甲醇后, 回收率仅为 50%; 在加 20% 甲醇后, 回收率更是下降到 21%. 研究表明^[5]: 当甲醇加入量达到 50% 时, DMP、DEP 的回收率甚至下降为 0. DEHP 的回收率则达到了 65%. 因此, 若同时预富集 DMP、DEP、DBP、DEHP 不应加入甲醇, 单独富集 DEHP, 加入大量甲醇虽可显著提高回收率, 但甲醇耗费过多(占水样体积的 40% ~ 50%) 也不宜实行.

表 5 含不同比例甲醇的 PAEs 混合加标水样回收率¹⁾/%

甲醇体积比%	DMP	DEP	DBP	DEHP
0	96.6	105.4	91.3	11.1
10	49.5	84.9	89.2	14.1
20	21.0	87.4	86.5	22.4

¹⁾加标量 200μg• L⁻¹

(4) 萃取柱的重复萃取 用蒸馏水配制 PAEs 混合标样模拟清洁水中萃取次数对 4 种 PAEs 回收率的影响, 结果见表 6. 可以看出 5 次萃取的回收率值在平均值附近呈小范围波

动, 而 DEHP 的回收率则随萃取次数增加呈上升趋势. 这可能是萃取柱对 DEHP‘记忆效应’的结果. 鉴于此, 对一般 SPE 小柱, 建议一次性使用以保证结果的可靠性.

表 6 PAEs 混标水样 5 次萃取回收率¹⁾/%

萃取次数	DMP	DEP	DBP	DEHP
1	105.4	115.8	86.2	13.0
2	85.5	85.5	76.6	18.4
3	101.2	101.0	92.6	14.9
4	93.2	94.2	87.7	30.1
5	100.0	99.7	88.2	26.4
平均值	97.2	99.2	86.3	21.0
标准偏差	7.75	11.1	5.90	7.06
相对标准偏差	7.97	11.2	6.84	33.3

¹⁾加标量 200μg• L⁻¹

(5) 萃取柱的反向洗脱 C₁₈ 萃取柱预富集某些亲脂性组分有柱头浓缩现象. 若从正方向洗脱则需较多的洗脱液, 这就造成在萃取柱中被富集的样品在洗脱操作中又重新被稀释. 采用反向洗脱的方法可以用最少体积的洗脱液获得较高的样品浓度和回收率. J. Marin^[6]等人在分析人血清和尿中先锋霉素药物时以反方向洗脱, 仅用 1ml 洗脱液便可洗脱完全. 本文就 PAEs 混合加标水样的反向洗脱与正向洗脱效果加以比较, 结果见表 7. 结果显示反向洗脱对前 3 种水溶性较高 PAEs 的回收率影响不大, 而对亲脂性强的 DEHP 反向洗脱回收率比正向大约提高了 1 倍, 说明 DEHP 确实存在柱头浓缩现象.

表 7 PAEs 正/反相洗脱回收率比较/%

洗脱方式	DMP	DEP	DBP	DEHP
正相洗脱	96.5	95.6	92.6	12.5
反相洗脱	98.5	97.2	97.7	27.1

(6) 水样中 PAEs 浓度对回收率的影响 表 8 所示为 3 个不同浓度 PAEs 水样加标回收率结果. 由表 8 可见, 当 DMP、DEP、DBP、DEHP 在水样中的浓度低至 0.02mg• L⁻¹ 时, 其回收率仍在 84.4% ~ 90.2% 范围, 基本能满足水样中污染物分析要求. 另外, 同前面实验结果一致, DEHP 的回收率仍较低.

表 8 3 种不同浓度 PAEs 加标水样回收率/%				
水样浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	DMP	DEP	DBP	DEHP
1.00	95.5	95.7	93.7	13.8
0.20	91.4	100.0	90.9	17.4
0.02	84.4	90.2	88.5	10.6

(7) 萃取柱的贮存实验 为了解吸附在 C_{18} 小柱上的样品发生的降解等变化, 考察了 C_{18} 小柱的贮存时间和温度对样品回收率的影响. 水样为 50 ml 混合加标水样(加标率为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 经萃取后的柱子分别贮存在冰箱冷冻室中 (-24°C)、冰箱冷藏室中 (-2°C) 和室温 (20°C). 每个温度下的贮存时间分别为 1 d、3 d、5 d、7 d、14 d, 然后取出柱子用 2 ml 乙酸乙酯洗脱, 进气相色谱分析, 结果如表 9 所示. 结果显示, 在室温下, DMP、DEP、DEHP 的浓度下降均较快, 且在 14 d 实验时间内浓度变化速率相差不大; DBP 在 14 d 内, 第 1 d 浓度下降很快, 随后浓度变化很小; 在 -2°C 条件下, DMP、DBP 浓度变化较小, DEP、DEHP 浓度随时间变化较大; 在 -24°C 条件下, 4 种 PAEs 前 7 d 浓度随时间变化均较小. 因此, PAEs 在分析前应贮存在冷冻室中, 且贮存时间不要超过 7 d.

表 9 PAE 在 C_{18} 柱上不同贮存温度
和时间的试验结果

温度 / $^{\circ}\text{C}$	贮存时间 /d	回收率/%			
		DMP	DEP	DBP	DEHP
20	1	95.5	95.6	75.2	43.3
	3	92.4	91.5	69.1	36.6
	5	80.1	76.3	61.0	34.8
	7	74.0	81.0	78.0	15.4
	14	68.5	62.9	78.2	9.6
- 2	1	94.3	96.7	83.2	42.4
	3	95.1	92.2	77.6	33.6
	5	82.5	87.2	72.5	29.3
	7	88.2	86.5	71.7	31.4
	14	88.4	77.2	90.1	12.6
- 24	1	104.7	96.7	98.9	18.2
	3	95.8	99.8	96.7	13.1
	5	103.5	96.6	93.6	18.8
	7	104.9	97.8	91.1	17.1
	14	89.5	80.9	95.1	10.6

(8) 实际水样固相萃取法与液-液萃取的比较 采集海河河水, 过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜后, 采用美国 EPA 标准方法 625.1 在 $\text{pH} = 7$ 时用二氯甲

烷对其进行了 3 次萃取; 同时用 C_{18} 小柱对其进行固相萃取试验, 结果见图 1. 对比 2 种萃取方法的加标回收率结果, 除 DEHP 外, DMP、DEP、DBP 的固相萃取回收率与液-液萃取的结果相近. 但液-液萃取是萃取了 3 次, 且有机溶剂用量是固相萃取的 10 倍.

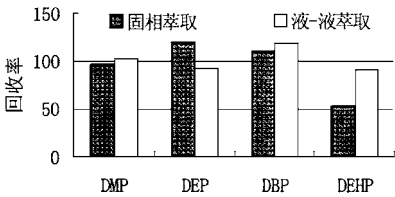


图 1 河水的液-液萃取与固相萃取加标
回收率比较(加标量 $20 \mu\text{g/L}$)

2 结语

固相萃取柱用于环境水样中邻苯二甲酸酯类化合物的预富集, 可以达到液-液萃取的效果. 它的重现性好, 并且操作快速, 样品和溶剂用量少, 萃取后的样品可以贮存. 除 DEHP 外, 该法对其它几种邻苯二甲酸酯类化合物的回收率均较高, 可以满足定量分析的要求.

参考文献

1 孙静, 刘耀, 封世珍, 李玉兰, 王芳琳. 固相萃取法提取净化生物检材中三类农药的实验研究. 环境化学, 1995, 14 (3): 221~ 225.

2 金朝晖, 黄国兰, 李红亮, 孙红文, 陈勇生. 水中邻苯二甲酸酯类化合物的预富集. 环境科学, 1998, 19(1): 30~ 33.

3 邓勃. 数理统计方法在化学分析中的应用. 北京: 化学工业出版社, 1987. 103.

4 Thuram an E M. Prediction of Capacity Factors for Aqueous Organic Solutes Adsorbed on a Porous Acrylic Resin. Anal. Chem., 1978, 50: 775~ 779.

5 Ema Cankemeier, A J H Louter et al. On-line Coupling of Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography with Atomic Emission Detection for Analysis of Trace Pollutants in Aqueous Samples. Chromatographia, 1995, 40 (314): 119~ 124.

6 Martin J et al. HPLC Analysis of Cefmetazole and Norcadicins A and E in Human Serum and Urine Using Solid-Phase Extraction. J. Liq. Chromatogr., 1988, 11(8): 1729 ~ 1739.