

文章编号: 1000-5013(2011)03-0292-04

加速溶剂萃取-高效液相色谱法测定五氯苯酚

李琳¹, 薛秀玲¹, 连小彬²

(1. 华侨大学 化工学院, 福建 泉州 362021;

2. 晋江出入境检验检疫局, 福建 泉州 362200)

摘要: 建立加速溶剂萃取-高效液相色谱联用的方法, 检测皮革中五氯苯酚的残余量. 采用正己烷为溶剂, 皮革样品经加速溶剂萃取、浓缩、过滤后, 以乙腈和 0.5% 的乙酸水溶液为流动相, 通过 C₁₈ 高效液相色谱柱, 在二极管阵列检测器波长为 214 nm 处进行检测, 以标准物质保留时间定性及外标法定量分析. 结果表明: 五氯苯酚在质量浓度为 0.1~20.0 mg·L⁻¹ 范围内具有良好的线性关系($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 96.0%~99.7%, 相对标准偏差为 0.74%~5.42%, 检测限为 0.02 μg·g⁻¹.

关键词: 五氯苯酚; 加速溶剂萃取; 高效液相色谱法; 皮革制品; 正己烷

中图分类号: O 657.72; TQ 243.3

文献标志码: A

五氯苯酚(PCP)是一种重要的防腐剂, 主要用于纺织品和皮革制品. 由于五氯苯酚比较稳定, 具有很强的致癌、致畸、致突变效应, 会通过呼吸、皮肤接触等形式在人体内产生生物累积, 危害人体健康, 因此被许多国家列入持久性有机污染物和优先污染物黑名单^[1]. 目前, 国内外对皮革及其制品中残留五氯苯酚的测定标准方法, 主要根据国际标准委员会制定的 ISO 17070—2006《皮革. 化学试验. 五氯苯酚含量测定》^[2] 和我国商检部门制定的行业标准 SN/T 0193.1—1993《出口皮革及皮革制品中五氯酚残留量检验方法 乙酰化-气相色谱法》^[3]. 然而, 上述方法萃取的有机溶剂用量大、耗时长, 而且五氯苯酚沸点较高, 需要经过衍生后才可气化, 样品前处理较为繁琐. Meyer^[4] 等建立了超临界流体萃取与气相色谱联用测定皮革中五氯苯酚的方法, 但方法较为复杂. 加速溶剂萃取(Accelerated Solvent Extraction, ASE)是一种萃取时间短、溶剂用量少、萃取效率高、安全、自动化程度高的方法, 已经被美国国家环保局批准为 EPA 3545 号标准方法^[5]. 本文建立了加速溶剂萃取与高效液相色谱联用的新方法, 测定皮革及其制品中五氯苯酚的残余量.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); ASE 300 型加速溶剂萃取仪(美国戴安公司); Milli-Q 型纯水系统(美国 Millipore 公司); Turbo 快速浓缩工作站(美国 Zymark 公司); PTFE 针式过滤头(0.45 μm/Φ13 mm, 美国 Agilent 公司).

1.1.2 试剂 正己烷、乙腈、甲醇(色谱纯, 美国 Tedia 公司); 冰醋酸(分析纯, 广东光华化学有限公司); 五氯苯酚标准品(纯度 99.5%, 德国); 0.5% 乙酸溶液, 去离子水于当天配制使用.

1.2 样品前处理

将皮革样品剪碎为 5 mm×5 mm 的小块, 混匀后精确称取 5.000 g, 放至底部放有玻璃纤维素滤纸片的 34 mL 的不锈钢萃取池中, 进行加速溶剂萃取. 在一定的温度和压力条件下, 进行加热和静态循环萃取; 然后, 用氮吹仪浓缩烘干, 准确加入 1 mL 正己烷溶解残渣, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 并进行高效液相色谱仪测定. 色谱条件: Agilent HC-C₁₈ 液相色谱柱(250 mm×4.0 mm, 5 μm), 流动相为 V(乙

收稿日期: 2009-10-21

通信作者: 薛秀玲(1975-), 女, 副教授, 博士, 主要从事环境分析化学的研究. E-mail: xueling@hqu.edu.cn.

腈) $:V(0.5\%$ 乙酸水溶液) $=75:25$,流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温为 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$,二极管阵列检测器(DAD)波长为 214 nm ,进样量为 $10\text{ }\mu\text{L}$.

1.3 定性与定量分析

采用保留时间对样品进行初步定性. 根据初步定性结果,在样品中加入一定量(一般为等量)的初步定性的组分,进行色谱分析.如果谱图中该组分的峰面积增加,并且周围没有新的色谱峰出现,可认为初步定性结果是正确的.采用外标峰面积法进行定量分析.

2 结果与讨论

2.1 萃取溶剂的选择

固定温度为 $120\text{ }^{\circ}\text{C}$,静态时间为 5 min ,循环次数为 2 次,氮气吹扫时间为 80 s ,考察正己烷、丙酮和二氯甲烷对皮革样品中五氯苯酚的萃取效率(η).结果表明:用正己烷和丙酮作为萃取溶剂,其萃取率分别为 98% 和 96% ,萃取液透明;以二氯甲烷作为萃取溶剂,其萃取率为 153% ,萃取液呈浑浊状,推测可能将样品中杂质也萃取出来,故需经后续的净化处理方可进行仪器分析.

由于皮革样品中添加了染料,丙酮极性强于正己烷,有可能将其中的染料组分也萃取出来,对后续的仪器分析造成一定的难度,故选择正己烷为加速溶剂萃取的溶剂.

2.2 萃取条件的选择

加速溶剂萃取中萃取剂的用量较少,且萃取剂体积有一定的限制,故不考虑萃取剂体积的影响.在单因素考察萃取溶剂类型的基础上,分别以A,B,C,D代表萃取温度(θ)、静态萃取时间(t_1)、循环次数(n)、吹扫时间(t_2)为主要影响因素,设计 $L_9(3^4)$ 正交实验.实验数据处理结果,如表1所示.

由表1的极差(R)值可知,影响萃取率的大小顺序依次为温度、静态萃取时间、循环次数、氮气吹扫时间.提高温度可减弱基质与被分析物间的作用力,加快被分析物从基质中解析并快速进入溶剂.静态萃取时间和循环次数对结果影响相当,增加循环次数时可适当减少静态萃取时间.氮气吹扫可以将萃取池及管路中的溶剂完全吹扫干净,但吹扫时间过长并不会提高萃取效果,故吹扫时间选择 80 s .

从表1还发现,5号实验的萃取率为 97.57% ,萃取效率最高,可得出最优组合为 $A_2B_2C_3D_1$.然而,考虑到增加循环次数可适当减少静态萃取时间,故将静态萃取时间从 5 min 降低为 3 min ,而循环次数由 2 次增加到 3 次,以体现萃取过程的少量多次,萃取率更高,得出新的最优实验条件 $A_2B_3C_2D_3$.

在最优条件下,皮革中五氯苯酚的萃取率为 99.38% ,萃取时间约为 16 min ,与传统方法如水蒸气蒸馏方法(约 5 h)和索氏提取方法(约 8 h)相比,缩短了 $4\sim 7\text{ h}$,而工作效率得到较大的提高.因此,采用最优方案组合:温度为 $120\text{ }^{\circ}\text{C}$,静态时间为 3 min ,循环次数为 3 次,氮气吹扫时间为 80 s .

2.3 液相色谱分析条件的选择

在乙腈/水、甲醇/水、乙腈/ 0.5% 乙酸水溶液、甲醇/ 1.0% 乙酸水溶液、甲醇/ $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵水溶液等流动相^[6-9]中,比较五氯苯酚的出峰情况.结果表明,在 $V(\text{乙腈}):V(0.5\%$ 乙酸水溶液) $=75:25$ 条件下,五氯苯酚峰形较好,而在其他条件下,五氯苯酚的出峰效果较差,存在出峰时间太晚或峰形拖尾严重等现象.这是因为样品组分与色谱柱上的硅醇基团相互作用,引起样品组分的次级保留效应,造成峰严重拖尾.通过在流动相中加入酸性改良剂(如乙酸),可以减少酸性组分的次级保留效应,使目标物五氯酚的峰形得到改善.此外,通过调节柱温及流速,五氯苯酚在 10 min 内出峰,且能与杂质完全分开.

实验最终选择高效液相色谱的条件: $V(\text{乙腈}):V(0.5\%$ 乙酸水溶液) $=75:25$,柱温为 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$,流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,DAD检测波长为 214 nm .样品的高效液相色谱(HPLC)图,如图1所示.

表 1 正交设计及实验数据

Tab. 1 Orthogonal design and experimental data

| 编号 | 水平 | | | | $\eta/\%$ |
|-----|---------------------------------------|--------------------|----------------|------------------|-----------|
| | A (θ)/ $^{\circ}\text{C}$ | B (t_1)/min | C (n /次) | D (t_2 /s) | |
| 1 | 80 | 1 | 1 | 60 | 39.72 |
| 2 | 80 | 5 | 3 | 100 | 67.17 |
| 3 | 80 | 3 | 2 | 80 | 62.29 |
| 4 | 120 | 1 | 3 | 80 | 93.49 |
| 5 | 120 | 5 | 2 | 60 | 97.57 |
| 6 | 120 | 3 | 1 | 100 | 92.72 |
| 7 | 100 | 1 | 2 | 100 | 55.37 |
| 8 | 100 | 5 | 1 | 80 | 77.48 |
| 9 | 100 | 3 | 3 | 60 | 87.34 |
| R | 38.200 | 17.923 | 12.694 | 6.000 | |

将五氯苯酚标准品和加速溶剂萃取提取皮革样品分别进行乙酰化衍生处理,使其生成五氯苯酚乙酸酯;然后,通过气相色谱-质谱进行定性分析,结果如图 2 所示.从图 2 可知,五氯苯酚乙酸酯的特征碎片离子为定量离子 266,定性离子 264,268 和 308,表明所测物质确为五氯苯酚.

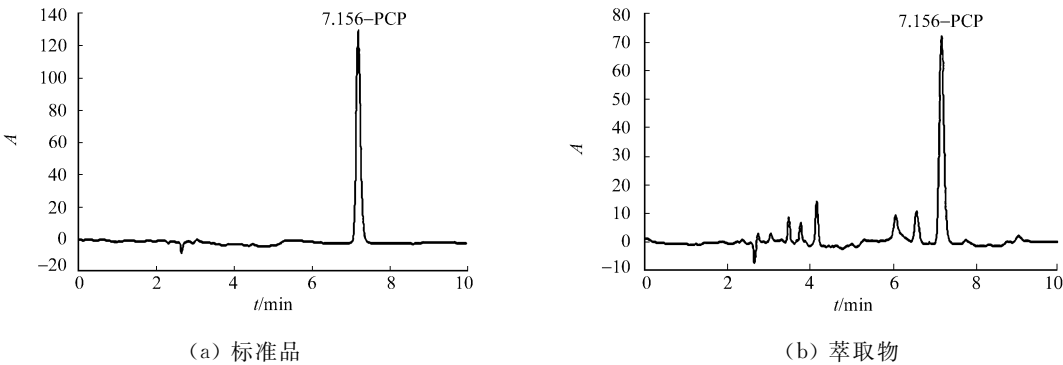


图 1 五氯苯酚的高效液相色谱图
Fig. 1 HPLC map of pentachlorophenol

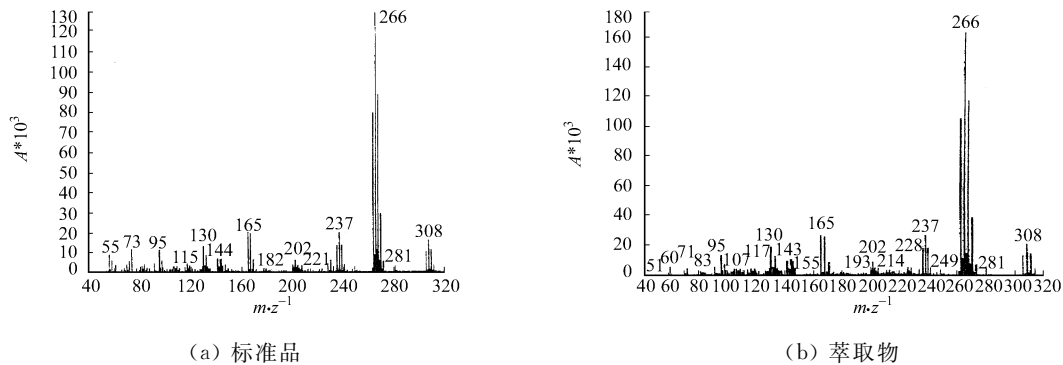


图 2 五氯苯酚乙酰化衍生物的质谱图
Fig. 2 Mass spectrum of pentachlorophenol's acetylated derivatives

2.4 线性范围与检测限的测定

对五氯苯酚标准工作溶液进行 HPLC 分析,根据峰面积绘制标准曲线.采用峰面积外标法定量分析,在 0.1~20.0 mg · L⁻¹ 范围内,色谱面积(Y)与质量浓度(X)呈良好线性关系.五氯苯酚线性回归方程为 Y=184.27X + 9.471 6,相关系数 r 为 0.999 8(n=8).以五氯苯酚响应的 3 倍信噪比计,依据最终样品溶液所代表的试样量、定容体积和进样体积计算,可得出方法最低检出限为 0.02 μg · g⁻¹.

2.5 准确度和精密度的测定

在最优实验条件下,分别对空白皮革样品进行低、中、高浓度添加水平的样品加标回收率实验.结果表明,皮革中五氯苯酚的平均回收率(n=7)为 96.0%~99.7%,相对标准偏差为 0.74%~5.42%.

2.6 测定方法的比较

分别采用文献[2],[3]所提出的方法,以及加速溶剂萃取-高效液相色谱(ASE-HPLC)方法对反绒皮样品进行测试,如表 2 所示.表 2 中:V 为总溶剂,t 为检测时间,ρ 为五氯苯酚质量浓度,ρ_i 为检测限,γ 为回收率.从表 2 可知,3 种方法测定值相当,可靠性高;文中建立的加速溶剂萃取-高效液相色谱联用法具有使用溶剂少、萃取时间短和萃取效率高等优点.

表 2 皮革中五氯苯酚检测方法的比较

| Tab. 2 Comparison of detection methods of pentachlorophenol in leather | | | | | | | | |
|------------------------------------------------------------------------|--------|--------------|------|-------|--------|--------------------------------------|------------|------------------------|
| 方法 | 前处理 | 主要萃取溶剂 | V/mL | t/min | 检测器 | ρ _i /μg · g ⁻¹ | γ/% | ρ/μg · g ⁻¹ |
| 文献[2]方法 | 水蒸气蒸馏 | 水、正己烷等 | 500 | 120 | GC-MSD | 0.10 | 96.0~107.0 | 65.0 |
| 文献[3]方法 | 液-液萃取 | 硫酸、四硼酸钠、正己烷等 | 120 | 60 | GC | 0.10 | 92.9~101.7 | 60.8 |
| ASE-HPLC 法 | 加速溶剂萃取 | 正己烷 | 35 | 16 | HPLC | 0.02 | 96.0~99.7 | 63.3 |

3 结束语

采用加速溶剂萃取-高效液相色谱检测皮革中五氯苯酚的方法,具有较高的灵敏度、精密度和回收率,符合国内外各标准对皮革及其制品中五氯苯酚含量的检测要求。在五氯苯酚质量浓度为 $0.1 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$),其平均回收率为 $96.0\% \sim 99.7\%$,相对标准偏差为 $0.74\% \sim 5.42\%$ ($n=7$),检测限为 $0.02 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。该方法可作为测定皮革中五氯苯酚的快速检测方法。

参考文献:

- [1] 孙磊,蒋新,周健民,等.环境样品中五氯苯酚分析方法的研究进展[J].分析科学学报,2004,20(6):642-646.
- [2] ISO. ISO 17070—2006 Leather: Chemical tests: Determination of pentachlorophenol content[S]. [s. l.]:ISO,2006.
- [3] 中华人民共和国进出口商品检验局. SN 0193. 1—1993 出口皮革及皮革制品中五氯酚残留量检验方法[S]. 北京:[s. n.],1993.
- [4] MEYER A, KLEIBÖHMER W. Determination of pentachlorophenol in leather using supercritical fluid extraction with in situ derivatization[J]. Journal of Chromatography (A),1995,718(1):131-139.
- [5] 牟世芬.加速溶剂萃取的原理及应用[J].环境化学,2001,20(3):299-300.
- [6] CODOGNOTO L, ZUIN V G, SOUZ D D, et al. Electroanalytical and chromatographic determination of pentachlorophenol and related molecules in a contaminated soil: A real case example[J]. Microchemical Journal,2004,77(2):177-184.
- [7] SINGH S, CHANDRA R, PATEL D K, et al. Investigation of the biotransformation of pentachlorophenol and pulp paper mill effluent decolorisation by the bacterial strains in a mixed culture[J]. Bioresource Technology,2008,99(13):5703-5709.
- [8] LIU Xi-tao, QUAN Xie, BO Long-li, et al. Simultaneous pentachlorophenol decomposition and granular activated carbon regeneration assisted by microwave irradiation[J]. Carbon,2004,42(2):415-422.
- [9] 刘静.戴安公司 ASE 快速溶剂萃取技术:解决您化学实验样品前处理的最新技术[J].检验检疫科学,2003,13(2):58.

Determination of Pentachlorophenol in Leather by Accelerated Solvent Extraction and HPLC

LI Lin¹, XUE Xiu-ling¹, LIAN Xiao-bin²

(1. College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China;

2. Jinjiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Quanzhou 362200, China)

Abstract: A method of accelerated solvent extraction and high performance liquid chromatography (HPLC) was developed for the determination of residue pentachlorophenol in leather. The leather samples were extracted using accelerated solvent extraction (ASE) with N-hexane, then enriched and filtrated. Pentachlorophenol (PCP) was eluted on a C_{18} column with acetonitrile and 0.5% acetic acid solution, which then were detected by diode array detection (DAD) at 214 nm . Qualitative and quantitative analysis was carried out by retention time of PCP and external standard method. The results show that the mass concentration of PCP was a linear range of $0.1 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ with good correlation coefficients ($r=0.999\ 8$), the mean recoveries were $96.0\% \sim 99.7\%$, with the relative standard deviation were $0.74\% \sim 5.42\%$, and the detection limit of this method for PCP was $0.02 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.

Keywords: pentachlorophenol; accelerated solvent extraction; high-performance liquid chromatography; leather; N-hexane

(责任编辑:黄晓楠 英文审校:刘源岗)