

使用 Agilent Bond Elut Plexa 固相萃取 和 HPLC 测定饮用水中的酚类

翟晨溪

(安捷伦科技公司, 上海, 200131)

本文开发并验证了一种同步测定饮用水中 11 种酚类化合物的方法. 分析物使用 Agilent Bond Elut Plexa 固相萃取柱进行萃取, 并采用 Agilent Poroshell 120 色谱柱通过 HPLC 进行分离. 总体回收率在 87%—108% 范围内, 相对标准偏差在 1.4%—6.7% 之间. 该方法是一种萃取、富集以及分析饮用水中多种酚类化合物的简便、有效的方法.

酚类物质是危害人类与环境的化合物, 当其氯化时可导致水中具有金属气味. 这类化合物常常作为水污染物进入环境中, 因此酚类物质的分析测定必不可少. 本文使用 Agilent Bond Elut Plexa 柱进行样品萃取、纯化、富集方法的开发, 以及使用 Agilent Poroshell 120 色谱柱进行分离、HPLC 进行定量的方法. 根据 EPA 604 方法, 共选择 11 种酚类化合物进行研究.

1 实验部分

1.1 试剂与化学品

本研究所使用化合物的结构与 pK_a 值如表 1 所示. 标准溶液与其它化学品均购自 Sigma-Aldrich 公司(美国密苏里州圣路易斯). 所有试剂和溶剂均为 HPLC 级或分析纯. 甲醇、乙腈、水和四氢呋喃均来自 Honeywell 公司(美国密歇根州马斯基根). 甲酸 (FA) 来自 Fluka 公司(Sleinheim, 德国).

表 1 化合物的结构与 pK_a 值

No.	名称	pK_a	结构式	No.	名称	pK_a	结构式
1	苯酚	9.89		7	4-氯-3-甲基苯酚	9.56	
2	4-硝基酚	7.08		8	2,4-二氯酚	7.68	
3	2-氯酚	8.56		9	4,6-二硝基邻甲酚		
4	2-硝基酚	7.22		10	2,4,6-三氯酚	7.41	
5	2,4-二硝基苯酚	4.09		11	五氯酚	4.92	
6	2,4-二甲基苯酚	10.6					

标准溶液(苯酚、2-硝基酚、2-氯酚、2,4-二氯酚、2,4-二甲基苯酚均为 $500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;2,4-二硝基苯酚和 2,4,6-三氯酚均为 $1500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;4-氯-3-甲基苯酚、4,6-二硝基邻甲酚、4-硝基酚、五氯酚均为 $2500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)用甲醇制备加标溶液,使用乙腈:0.1%甲酸水(1:1)制备.

1.2 仪器和材料

仪器 Agilent 1200 系列高效液相色谱系统,Agilent Poroshell 120 SB-C18 色谱柱($2.1\text{ mm}\times 100\text{ mm},2.7\text{ }\mu\text{m}$),固相萃取柱 Agilent Bond Elut Plexa 柱($60\text{ mg},3\text{ mL}$);固相萃取多管真空装置 Agilent Vac Elut 20.

HPLC 条件;流动相 A:0.1% 甲酸水溶液,B: 0.1% 甲酸的乙腈溶液,梯度时间见表 2; 流速 $0.4\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测条件 UV,检测波长 280 nm ;进样量 $40\text{ }\mu\text{L}$.

表 2 流动相梯度

时间/min	0	10	11	12	12.5	14
B%	15	50	90	90	15	15

1.3 样品前处理

饮用水购自当地一家超市.通过使用磷酸溶液($0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)将 pH 值调节至 2.0,制备 250 mL 水样品. Agilent Bond Elut Plexa 柱经过 3 mL 四氢呋喃与 3 mL 甲醇预处理,之后使用 3 mL 水进行平衡. 250 mL 样品在真空条件下以 $5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速通过色谱柱.在样品完全通过色谱柱后,使用 2 mL 水冲洗并弃去冲洗液.色谱柱随后在低于 2.0 kPa 的负压下干燥 3 min .最后,使用 3 mL 四氢呋喃对柱进行洗脱.收集到的洗脱液在室温条件氮气流下浓缩到约 0.2 mL .所得溶液以水精确定容至 0.5 mL .溶液通过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,使用 HPLC 进行分析.SPE 萃取使用的步骤如图 1 所示.

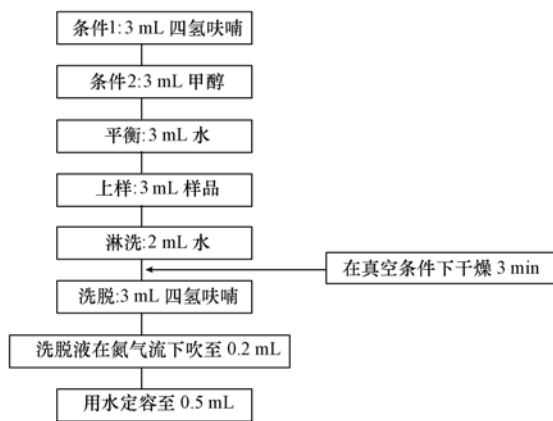


图 1 水中酚类的 SPE 流程

2 结果与讨论

将饮用水经过整个萃取和样品纯化过程处理得到空白基质材料.外标标准曲线通过不同浓度的空白基质加标绘制.使用峰面积和加标浓度计算酚类的线性回归方程.方法的精密度通过在饮用水中加入的酚类经 SPE 流程处理之后的回收率测定,每个浓度重复分析 6 次.空白样品、加标样品与标准品的色谱图如图 2 所示.线性、回收率与重现性数据见表 3.

表 3 使用 SPE 测定饮用水中酚类的线性、回收率与相对标准偏差

化合物	回归方程	相关系数	加标 / $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	回收率 /%	RSD/% ($n=6$)
苯酚	$y=75.621x-0.1425$	0.9995	2.5	96.7	5.1
4-硝基酚	$y=82.313x-0.0897$	0.9992	12.5	98.2	1.4
2-氯酚	$y=103.267x-0.2578$	0.9986	2.5	93.7	5.6
2-硝基酚	$y=68.304x-0.0752$	0.9993	2.5	92.6	4.8
2,4-二硝基苯酚	$y=75.366x-0.2335$	0.9997	7.5	99.3	2.8
2,4-二甲苯酚	$y=66.689x-0.1226$	0.9984	2.5	99.5	6.2
4-氯-3-甲基苯酚	$y=76.407x-0.0571$	0.9991	12.5	87.3	3.7
2,4-二氯酚	$y=59.018x-0.2639$	0.9979	2.5	91.5	2.3
4,6-二硝基邻甲酚	$y=125.735x-0.3428$	0.9996	12.5	90.6	1.9
2,4,6-三氯酚	$y=70.028x-0.1112$	0.9989	7.5	96.4	2.9
五氯酚	$y=62.135x-0.1457$	0.9991	12.5	108.2	6.7

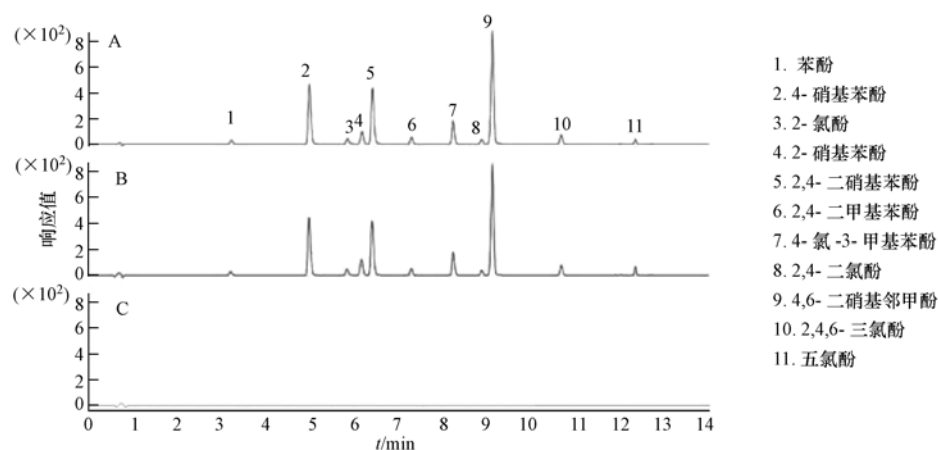


图2 空白样品、加标样品与标准品的色谱图

A:空白基质制备的标准品溶液;B:饮用水中加入标准品,经 SPE 流程处理;C:经 SPE 流程处理的饮用水空白样品

3 结论

Agilent Bond Elut Plexa 柱为饮用水中多种酚类化合物的萃取与富集提供了一种简便有效的单一柱方法. 基于标准溶液的回收率和重现性结果对于饮用水中酚类残留物的测定而言是较为理想的. 水中的杂质含量微小,不会干扰所分析的任何一种酚类化合物.