

Capillary Electrophoretic Determination of Nitrophenols by Homogeneous Liquid-Liquid Extraction

Hongyi Zhang, Hui Chen, Lijuan Ge

College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding, China

Email: hyzhang@hbu.edu.cn

Abstract: A fast and effective preconcentration method for the extraction of o, m and p-nitrophenol was developed using a homogeneous liquid-liquid microextraction. The extracted o, m and p-nitrophenol were determined using capillary electrophoresis. After centrifugation, the extracting solvent was sedimented in the bottom of the conical test tube. The o, m and p-nitrophenol were transferred into the sedimented phase during the phase separation step. Phenols are hydrophobic in acidic solution. But under alkaline condition, they become deprotonated and present in hydrophilic salt forms. So, the pH should be considered before the phase separation step. Several factors, such as, pH, volume of the consolute solvent, type and volume of the extraction solvent, concentration of phase separator reagent, extraction time influencing the extraction efficiency were investigated and optimized. The optimum conditions were as following: 8 mL sample solution, 1.8 mL consolute solvent (methanol), 220 μ L extraction solvent (dichloromethane), pH 1.5 and 22% NaCl (w/v). Under these conditions, the extraction recovery for o, m and p-nitrophenol were 64.7%, 18.6% and 18.4%, respectively. The preconcentration factors were 103.6, 29.8 and 29.4 for o, m and p-nitrophenol. Finally, the proposed method was successfully applied for the extraction and determination of the o, m and p-nitrophenol in waste water samples.

Keywords: Homogeneous Liquid-Liquid Extraction; Capillary Electrophoresis; Nitrophenols

均相液-液微萃取结合毛细管电泳测定水样中邻、间、对-硝基酚

张红医, 陈 辉, 盖丽娟

河北大学, 化学与环境科学学院, 保定市, 中国 071002

Email: hyzhang@hbu.edu.cn

摘 要: 在相分离现象的基础上, 用均相液-液微萃取法对水样中的邻、间、对-硝基酚进行预富集, 并用毛细管电泳对其进行测定。加盐才能发生相分离现象, 离心后, 萃取剂沉降在离心管的底部。与此同时, 邻、间、对-硝基酚从水相进入萃取剂。酚类物质的特性是, 在酸性溶液中以疏水的分子形式存在, 而在碱性溶液中则以亲水的离子形式存在。所以, 在相分离前必须考虑溶液的 pH 值。对影响萃取效率的 pH 值, 助溶剂的用量, 萃取剂的种类和用量, 相分离试剂的浓度和萃取时间等因素进行了考察。最佳实验条件为: 8 mL 水样, 1.8 mL 助溶剂 (甲醇), 220 μ L 萃取剂 (二氯甲烷), pH=1.5 和 22% NaCl(w/v)。在最佳条件下, 邻、间、对硝基酚的萃取效率分别为 64.7%、18.6% 和 18.4%, 富集因子分别为 103.6、29.8 和 29.4。最后, 用该方法对实际水样进行了测定。

关键词: 均相液-液微萃取; 毛细管电泳; 邻、间、对-硝基酚

1 引言

酚类化合物是环境中一种重要的污染物, 属于环

境优控类物质。因此, 对环境中的酚类物质进行分离和测定具有十分重要的意义。通常采用的分析方法主要有: 光度法^[1]、气相色谱法^[2]、液相色谱法^[3]和毛细管电泳法^[4]。

资助信息: 国家自然科学基金面上项目 (No. 20875020)

毛细管电泳以其进样量小、分析时间短和消耗少等优点得到迅速的发展。然而,毛细管电泳的检测灵敏度较低,这就限制了其对水样中痕量硝基酚类化合物的分析。因此,需要在毛细管电泳测定之前采用一些富集技术对水样中的硝基酚类化合物进行预富集。

在常用的预富集技术中,均相液液微萃取是一种新型的富集技术。在助溶剂的存在下,通过振荡,萃取剂和样品溶液能形成均一的溶液,再加入盐打破这种平衡。同时,溶液中形成无数纳米级的萃取剂小液滴,可称作萃取器,这样萃取剂和样品溶液的接触面积就无限增大,萃取效率大大提高,最后通过离心使萃取剂沉降,再进行分析。

酚类物质最重要的特性就是,在酸性溶液中以疏水的分子形式存在,而在碱性溶液中则以亲水的离子形式存在^[5]。因此,形成均一相后,需要对溶液进行酸化。由于萃取剂一般为与水不互溶的有机溶剂,不适合于毛细管电泳直接进样,于是,本文将其用氮气吹干,再用碱液进行溶解,然后直接进行毛细管电泳分析。

2 实验部分

2.1 仪器、试剂与材料

P/ACE MDQ 型电泳仪(美国 Beckman 公司),石英毛细管柱(60.2cm×75μm i.d.),有效长度 50cm(河北永年光导纤维厂),800 型离心沉淀器(上海手术器械十厂),pHS-3C 型酸度计(上海理达仪器厂),KQ3200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。

二氯甲烷、氯仿、四氯化碳、1,2-二氯乙烷、甲醇(天津市康科德科技有限公司),四硼酸钠、氯化钠、盐酸、氢氧化钠、邻、间、对-硝基酚、无水乙醇(天津市华东试剂厂),除甲醇为优级纯外,其它物质均为分析纯,实验室用水均为二次蒸馏水。

背景电解质(BGE):20mmol/L 硼砂溶液含 5%(v/v)的甲醇。

2.2 电泳条件

毛细管柱在第一次使用前用 0.1 mol/L 氢氧化钠冲洗 10 min,再用水冲洗 10 min,最后用缓冲液冲洗 5min,两次进样间用缓冲液冲洗毛细管柱 5min,每天实验结束后,用 0.1mol/L 氢氧化钠冲洗 10min,水冲洗 20min。检测波长设为 230nm,温度 25℃,分离电

压 25kV,进样压力 0.5psi 5s。

2.3 富集方法

样品为 5.0×10^{-5} mol/L 的邻、间、对-硝基酚溶液。取 8mL 样品溶液于 10ml 带盖的离心试管中,加入 1.8mL 甲醇(助溶剂)和 220μL 二氯甲烷(萃取剂),振荡混匀,加入 100μL HCl (3 mol/L),振荡混匀,再加入 22% (w/v) 的 NaCl 固体,漩涡混合 3min,在 4000rpm 下离心 5min。用微量注射器将离心管底部的沉淀相吸出,置于 200μL 的毛细管电泳专用进样小管中,用氮气将有机溶剂挥干,最后,加入 50μL NaOH 溶液 (0.1 mol/L),直接进样。

3 结果与讨论

3.1 pH 对富集因子的影响

鉴于酚类物质的特性,pH 值在邻、间、对-硝基酚从水相转移到有机相中起到了非常重要的作用。因此,本实验中把 pH 值作为首要考察的因素。水样,助溶剂和萃取剂三者形成均一相后,向溶液中加入 HCl,邻、间、对-硝基酚就会从亲水的离子形式变为疏水的分子形式,加盐打破平衡后萃取剂沉降在离心管底部,此时待测物质就已经被富集。

图 1 为不同 pH 值对邻、间、对-硝基酚富集因子的影响。由图可以看出,当 pH 值在 1 到 3.27 之间变化时,待测物质富集因子的总体趋势均为随着 pH 值的增加富集因子降低。由图可以看出,虽然对-硝基酚在 pH=1 时的富集因子比 pH=1.5 时高,但对于邻-硝基酚和间-硝基酚,pH=1 时的富集因子比 pH=1.5 时的富集因子低,而且间-硝基酚在这两点的富集因子比较接近。另外,要达到 pH=1 的条件,需向均相溶液

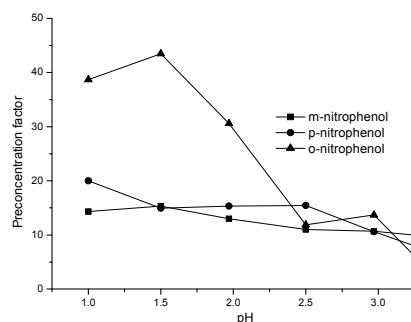


Figure1. Effect of homogeneous solution pH on the preconcentration factor o, m and p-nitrophenol

图 1. 均相溶液的 pH 值对邻、间、对-硝基酚富集因子的影响

添加浓度较大的 HCl 溶液, 而浓度较大的 HCl 溶液容易挥发, 这样就会造成较大的误差。所以, 本实验选 pH=1.5 为最佳 pH 值进行后续试验。

3.2 助溶剂的影响

助溶剂的作用就是使水相和有机相能形成均一相, 所以, 既溶于样品溶液, 又溶于萃取剂的物质才能作为助溶剂。一般选择甲醇、乙醇等有机试剂作为助溶剂, 它们的差别不大。本实验中选甲醇为助溶剂。在 0.5mL-2.5mL 范围内, 考察了不同助溶剂用量对邻、间、对-硝基酚富集因子的影响, 见图 2。从图 2 可以很明显地看出, 当助溶剂的用量为 1.8mL 时, 三者的富集因子有最大值。所以, 选 1.8ml 甲醇为最佳萃取剂量。

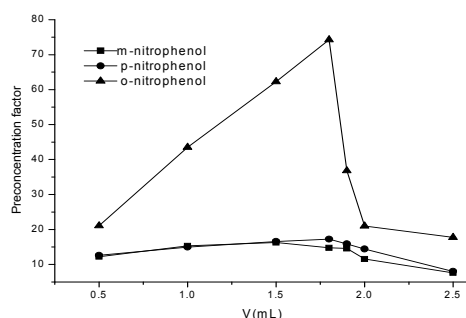


Figure2. Effect of consolute solvent (methanol) volume on the preconcentration factor of o, m and p-nitrophenol

图 2 不同助溶剂 (甲醇) 用量对邻、间、对-硝基酚富集因子的影响

3.3 不同萃取剂种类以及萃取剂用量的影响

作为萃取剂需要符合以下要求: 密度比水大, 在水中的溶解度很小, 并且对邻、间、对-硝基酚有一定的萃取效率。本文在 8ml 水样, pH 1.5, 1.8ml 甲醇, 180 μ L 萃取剂, 20% (w/v) NaCl 固体的条件下, 考察了氯仿、四氯化碳和 1, 2-二氯乙烷作为萃取剂时的萃取情况。实验发现, 以上三者均不能形成均不能形成均一相, 只有之前使用的二氯甲烷可以, 所以, 选二氯甲烷作为萃取剂。萃取剂的用量直接影响到萃取效率的高低以及富集因子的大小。在 140 μ L-220 μ L 范围内, 对三种待测物质的富集因子进行了考察。从图 3 可以看出, 随着二氯甲烷用量的增加, 三种物质的富集因子均增加。虽然, 对-硝基酚在 200 μ L 时的

富集因子比 220 μ L 时高, 但是两者相差不大。同时发现, 当二氯甲烷的用量增加到 240 μ L 时, 有少量二氯甲烷沉在离心管底部, 不能完全形成均一相。所以, 选二氯甲烷的用量为 220 μ L 进行后续试验。

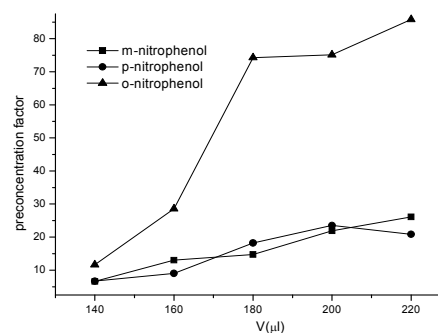


Figure3. Effect of extraction solvent (dichloromethane) volume on the preconcentration factor of o, m and p-nitrophenol

图 3. 不同萃取剂 (二氯甲烷) 用量对邻、间、对-硝基酚富集因子的影响

3.4 相分离试剂的影响

向均相溶液中加入 NaCl, NaCl 溶于水, 此时均一相平衡被打破, 萃取剂从均相溶液中沉降在离心管底部。在 5%-22% (w/v) 范围内, 对相分离试剂对三种待测物质的富集因子影响进行了考察, 结果见图 4。三种待测物质的富集因子随着 NaCl 含量的增加而变大。当 NaCl 含量为 25% 时, NaCl 固体不能完全溶解。所以, 选择 NaCl 含量为 22%。

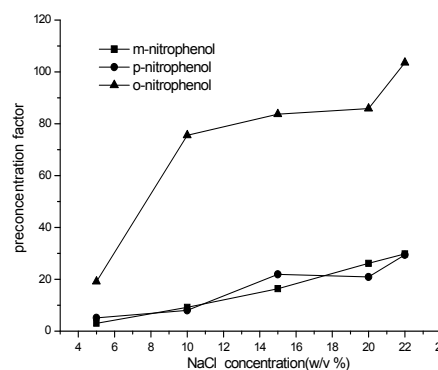


Figure4. Effect of phase separator reagent concentration (NaCl) on the preconcentration factor of o, m and p-nitrophenol.

图 4. 不同相分离试剂 (NaCl) 用量对邻、间、对-硝基酚富集因子的影响

Table 1. Analytical performances of the homogeneous liquid-liquid extraction for o, m and p-nitrophenol

表 1 均相液液萃取测定邻、间、对-硝基酚相关数据

	邻-硝基酚	间-硝基酚	对-硝基酚
曲线方程	$A=1.49 \times 10^{10}C-7108.38$	$A=4.21 \times 10^9C+2433.566$	$A=2.21 \times 10^9C+976.426$
相关系数 (R)	0.9998	0.9998	0.9994
线性范围 (mol /L)	$5 \times 10^{-7}-5 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-7}-5 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-6}-5 \times 10^{-5}$
检测限 (mol /L)	4×10^{-8}	1×10^{-7}	3×10^{-6}
富集因子	103.6	29.8	29.4
萃取效率 (%)	64.7	18.6	18.4
天内峰面积精确度 (RSD, n=3, %)	4.18	6.36	1.94
天间峰面积精确度 (RSD, n=3, %)	7.13	7.15	5.00
样品 1 回收率 (%)	79.0	75.5	128.0
样品 2 回收率 (%)	99.5	83.5	116.0

3.5 方法可行性评价

表 1 列出了用均相液液萃取测定邻、间、对-硝基酚的相关数据。工作曲线相关系数在 0.9994-0.9998 之间。线性范围在 5×10^{-7} - 5×10^{-5} mol /L 之间。检测限最低可达 4×10^{-8} mol /L, 比文献报道值低。邻、间、对-硝基酚的萃取效率分别为 64.7、18.6 和 18.4, 富集因子分别为 103.6、29.8 和 29.4。峰面积和迁移时间的天间、天内重现性均比较小, 结果令人满意。

3.6 实际应用

按照本文优化的均相液液萃取的最佳条件, 对两个池塘的池塘水进行测定, 平行测定三次, 均不含邻、间、对-硝基酚。通过向水样中加标, 计算回收率, 结果见表 1。

4 结论

本文用均相液液萃取对水样中的邻、间、对-硝基酚, 并用毛细管电泳进行了测定。可以看出, 该方法具有简单、快速、试剂用量少和环境友好等特点。邻、间、对-硝基酚的富集因子分别为 103.6、29.8 和 29.4, 虽然间-硝基酚和对-硝基酚的富集因子较低, 但是间硝基酚的富集因子比文献报道值要高。该方法的不足之处在于, 萃取效率不高。但这并不影响将该方法用

于其它水样中邻、间、对-硝基酚的测定。

致 谢

本论文是在国家自然科学基金项目 (项目号: No. 20875020) 资助下完成的。

References (参考文献)

- [1] PRC State Environmental Protection Administration Supervise and analysis methods for water &wastewater. Beijing: China Environmental Science Press, 1989: 407.
国家环保局. 水和废水监测分析方法. 北京: 中国环境出版社, 1989 :407.
- [2] Bao Zhicheng, Dong Jinshi. Gas Chromatographic Determination Of Phenols In Water By Capillary GC/ECD. Environmental Chemistry, 1990, 9 (2) :26.
包志成, 董金狮. 毛细管 GC/ECD 法测定水中微量酚类. 环境化学, 1990, 9 (2) :26.
- [3] Jiang Shumin, Fu Chengguang. Determination of Trace Nitrophenols by Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography With Electrochemical Detection. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 1997, 25 (3):286.
蒋淑敏, 傅承光. 痕量硝基酚的反相高效液相色谱电化学检测[J]. 分析化学, 1997, 25 (3):286.
- [4] Liu Xueliang, Wang Jinfang, WANG Junde. Sensitive and Rapid Analysis of Nitrophenols and Herbicides by Capillary Zone Electrophoresis. Chinese Journal of Chromatography, 2001, 19 (2): 173.
刘学良, 王进防, 王俊德等. 毛细管区带电泳法快速分离硝基酚和除草剂. 色谱, 2001, 19 (2): 173.
- [5] Akita S, Takeuchi H. Cloud-Point Extraction of Organic Compounds from Aqueous Solutions with Nonionic Surfactant Sep. Sci. Technol. 1995, 30 (5): 833.