

Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography for the Determination of Nonylphenol in Environmental Water Samples

Yingchun Yang, Li Mo, Jinmei Wang, Mingwei Wang, Shiyu Zhou

(Department of Resources and Environment, Chengdu University of Information Technology, Chengdu, China 610225)

Email: yangyingchun@cuit.edu.cn; jlmoli@126.com

Abstract: A simple, rapid and effective method, the dispersive liquid-liquid microextraction with high-performance liquid chromatography (DLLME-HPLC), has been developed for the extraction and determination of nonylphenol in environmental water samples. The factors relevant to the microextraction efficiency, such as the type and volume of dispersion agent and extraction solvents, the extraction time and so on were investigated and optimized. Under the optimized extraction conditions, the linear response of this method was in the range of $5 \sim 1000 \mu\text{g/L}$ ($r = 0.9995$), the relative standard deviation (RSD) for $80 \mu\text{g/L}$ of nonylphenol was 6.8% ($n = 6$). The detection limit was $0.20 \mu\text{g/L}$. The developed method was successfully applied to the determination of trace amount of nonylphenol in three kinds of real environmental water samples with spiked recoveries in the range of 74.3%~106.7% ($n = 5$). The results showed that this method is suitable for the determination of trace amount of nonylphenol in environmental water samples.

Key words: Dispersive liquid-liquid microextraction(DLLME); High-performance liquid chromatography(HPLC); Nonylphenol; Environmental water samples

分散液液微萃取-高效液相色谱法测定环境水样中壬基酚

杨迎春, 莫利, 王金梅, 王明伟, 周时宇

(成都信息工程学院资源环境系, 成都, 中国, 610225)

Email: yangyingchun@cuit.edu.cn; jlmoli@126.com

摘要: 建立了简便、快速、有效的分散液液微萃取-高效液相色谱法测定环境水样中壬基酚的分析方法。对萃取剂、分散剂的种类和体积、萃取时间、离心时间、盐浓度等影响萃取效率的因素进行了优化。在优化的萃取条件下, 方法的线性范围为 $5 \mu\text{g/L} \sim 1000 \mu\text{g/L}$ ($r = 0.9995$), 相对标准偏差 (RSD) 分别为 6.8% ($c=80 \mu\text{g/L}$, $n=6$), 检出限为 $0.20 \mu\text{g/L}$ 。对3种实际水样中的壬基酚进行了测定, 加标回收率在 74.3%~106.7% 之间。本方法适用于环境水样中的痕量壬基酚的检测。

关键词: 分散液液微萃取; 高效液相色谱; 壬基酚; 环境水样

1 引言

壬基酚(Nonyl Phenol, NP)是环境内分泌干扰物的一种, 具有雌激素效应, 能够干扰野生动物和人类的内分泌系统, 导致生殖系统异常^[1-2]。有英国学者发现, 当水

中的NP质量浓度达 $10 \mu\text{g/L}$ 时, 虹鳟会发生生殖异常^[3]。另有研究表明, NP易引起乳腺癌细胞的异常繁殖^[4]。

因此, 对环境中壬基酚的分析和监测引起了广大环境化学工作者的极大兴趣。鉴于壬基酚在环境中的含量很低, 传统的监测方法难于得到可靠的结果, 一般需要将其进行富集, 然后进行测定。目前, 富集壬基酚的方法主要有固相微萃取^[5]、流动注射在线预富集^[6]、固相

基金项目: 四川省教育厅重点课题资助(No.09ZA016)

萃取^[7-9]、液液萃取^[10]。

新型的样品萃取富集技术——分散液液微萃取(DLLME)是2006年由 Rezaee和 Assadi^[11]等率先提出的一种集采样、富集、分离于一体的样品前处理技术。此方法的突出优点是微量萃取剂在分散溶剂的作用下,在样品溶液中形成无数微小液滴,萃取剂用量少且与水相接触面积很大,可快速达到传质平衡,萃取几乎不受萃取时间的影响,可以达到很高的富集倍数和萃取效率。同时,它还具有操作简单、快速、费用低、对环境友好等优点^[12]。DLLME方法结合各种分离检测技术已成功应用于环境中多环芳烃^[11]、酞酸酯^[13]、多溴联苯醚^[14]、痕量钒^[15]等的萃取和分析。

本文将DLLME方法与高效液相色谱结合应用于环境水样中壬基酚的萃取,优化了影响萃取效率的实验参数,建立了分散液液微萃取-高效液相色谱测定水环境中壬基酚的方法,并用于实际水样的测定,结果令人满意。

2 验部分

2.1 器与试剂

1200型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Anke TDL-5-A 飞鸽牌低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

壬基酚($\geq 99.0\%$, 成都市科龙化工试剂厂); 甲醇($\geq 99.9\%$, 山东禹王实业有限公司化工分公司); 其余试剂均为分析纯; 实验用水为 Millipore 超纯水(电阻率为 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

壬基酚标准溶液: 用甲醇做溶剂, 配制 0.1 g/L 的壬基酚标准储备溶液, 4°C 保存, 使用前逐级稀释至所需浓度。所采集的水样均经 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤, 于 4°C 保存。

2.2 验方法

移取 5 mL 水样于 10 mL 锥形玻璃离心管内, 用注射器将 $30 \mu\text{L}$ 萃取剂三氯甲烷和 1.2 mL 分散剂乙腈的混合液快速注入样品中, 溶液形成乳浊体系且较长时间不消失, 静置5分钟。以 3000 r/min 的转速离心 5 min , 分散的三氯甲烷颗粒将沉积到离心管底部, 形成有机相。用 $50 \mu\text{L}$ 微量进样器抽取下层有机相用高效液相色谱仪进行分析, 进样量为 $20 \mu\text{L}$ 。

2.3 谱条件

流动相体积比: 甲醇: 水 = $90:10$; 流速: 0.5 mL/min ; 柱温: 30°C ; 检测器波长: 277 nm ; 进样体积 $20 \mu\text{L}$ 。

3 结果与讨论

3.1 分散液液微萃取条件的优化

为了得到最优萃取条件, 选择富集倍数(EF)作为评价指标考察萃取效率的高低。EF按下式计算: $EF = C_{\text{sed}}/C_0$, C_{sed} 和 C_0 分别表示离心后有机相中壬基酚的浓度和原样品溶液中壬基酚的浓度。

3.1.1 萃取剂和分散剂的种类

萃取剂的种类显著影响萃取率、富集因子和对目标化合物的选择性。在萃取剂一定的情况下, 分散剂的种类直接决定富集倍数的高低。本文考察了四氯化碳、氯苯、二氯甲烷、三氯甲烷四种萃取剂及甲醇、乙腈、丙酮和乙醇四种分散剂对萃取效率的影响。结果表明: 在相同的条件下以三氯甲烷作为萃取剂、乙腈作为分散剂时富集倍数最高为34.6倍, 所以本实验选择萃取剂为三氯甲烷、分散剂为乙腈。

3.1.2 萃取剂的体积

为了评价萃取剂体积对萃取效率的影响, 按“2.2”节所述分散液液微萃取实验方法, 在分散剂(乙腈)体积不变的条件下(均为 1.0 mL), 依次分别加入 $20 \mu\text{L}$ 、 $25 \mu\text{L}$ 、 $30 \mu\text{L}$ 、 $40 \mu\text{L}$ 、 $50 \mu\text{L}$ 三氯甲烷。结果表明: 当三氯甲烷体积增加时, 由于沉积相体积也相应增加, 萃取率有所增加, 但是增大不是很显著。当三氯甲烷体积为 $30 \mu\text{L}$ 时, 富集倍数最高, 可以达到40.9倍(如图1)。

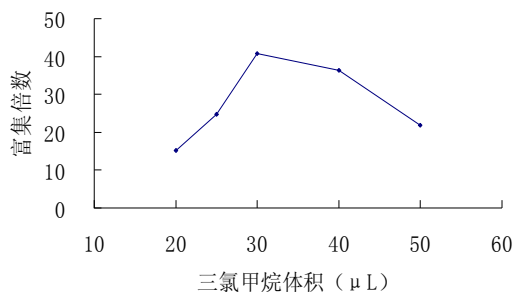


Figure 1. Effect of the volume of trichloromethane on the enrichment factor

图1 三氯甲烷体积对富集倍数的影响

这说明在实验条件下, 细微的三氯甲烷液滴和水样中壬基酚有非常大的接触表面, 可以实现壬基酚的定量萃取。三氯甲烷体积进一步增大, 会增加其液滴之间碰撞的机会而形成较大的液滴, 降低与水相的接触表面, 使萃取效率降低。另外, 三氯甲烷体积增加导致壬基酚在沉积相中的浓度降低, 富集因子也随之降低。同时考虑到准确和方便地移取沉积相, 本实验选择 30 μL 的三氯甲烷以获取高的回收率和低的方法检出限。

3.1.3 分散剂的体积

实验考察了其他条件不变时乙腈体积分别为0.5 mL、0.8 mL、1.0 mL、1.2 mL 和1.5 mL 对萃取富集效率的影响, 结果如图2所示。由图可见, 随着乙腈体积的增加, 富集倍数先增加继而减少, 乙腈体积为1.2 mL 时富集倍数最高。这可能是因为如果分散剂用量过少, 它就不能很好地将萃取剂分散, 传质效果差, 也不能完全形成微乳液, 所以萃取效果不好。用量过多, 则目标物壬基酚在水中的溶解度会增加从而使萃取效率降低。

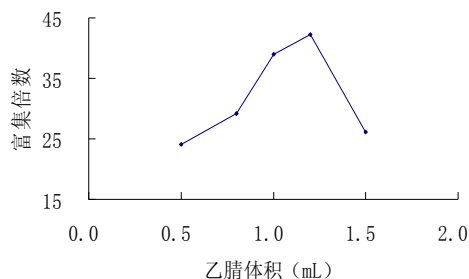


Figure 2. Effect of the volume of acetonitrile on the extraction recovery

图2 乙腈体积对萃取率的影响

3.1.4 萃取时间和离心时间

在DLLME 中, 萃取时间定义为注入分散剂和萃取剂的混合液到开始离心之前的时间间隔。本文在保持实验条件一致的前提下, 将萃取时间分别设置为0 min、2 min、5 min、10 min、20 min 进行试验, 结果表明萃取时间为5 min 时萃取效率即达到最大, 超过5 min 则萃取效率下降。这也证实了在分散剂的辅助作

用下, 萃取剂以极细微的液滴形态分散于水溶液中, 液滴和水相的接触表面积非常大, 分析物可以快速从水相被萃取到有机液滴中, 萃取平衡状态在较短时间即可达到, 这是DLLME 技术的最大优点。当萃取时间过长, 可能因为有机溶剂挥发损失从而使萃取效率降低。所以本文选择萃取时间为5 min。

实验选取转速为3000 rpm 时离心时间分别为2 min、5min、8 min、10 min、12 min进行测试, 通过比较, 离心5 min 时萃取效率即达到最高。

3.1.5 盐浓度的影响

加入不同浓度(0~10 %)的NaCl, 在其他实验条件保持不变的情况下考察增加离子强度对壬基酚萃取效率的影响。结果表明, 当样品溶液中不加NaCl 时富集倍数为39.7倍, 加入2 % NaCl 时富集倍数达到49.6倍, 随着NaCl 浓度进一步增大, 富集倍数下降。这可能是因为适量的NaCl 能增加溶液中离子强度, 加大目标物壬基酚从水相到萃取剂相的传质效率, 而当NaCl 浓度过大时由于沉积相体积增大导致富集倍数降低。故实验选择加入2% NaCl 。

3.2 方法分析特性

为了验证方法用于定量分析的可行性, 在优化的萃取条件下, 考察了所建立方法的线性范围、检出限和精密度。结果表明, 壬基酚的质量浓度 $c(\mu\text{g/L})$ 在5~1000 $\mu\text{g/L}$ 范围内与峰面积 A 均具有良好的线性关系, 标准曲线的线性回归方程为 $A = 1.0612c - 11.613$, 相关系数 $r = 0.9995$ 。方法的检出限为0.20 $\mu\text{g/L}$ ($S/N = 3$)。以质量浓度为80 $\mu\text{g/L}$ 和1000 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液连续测定6次的相对标准偏差(RSD)分别为6.8%和3.3 %, 说明本方法具有较高精密度。

3.3 实际样品的测定

应用所建立的方法测定了本地区的湖水、饮用纯净水和某排污沟的污水样品。分别取5 mL 样品溶液于离心试管中按“2.2”和“2.3”节进行萃取测定。在湖水水样中有检出壬基酚。同时, 对所测定的水样进行加标回收实验, 计算加标回收率和标准偏差, 结果见表1。各样品的加标回收率在74.3 %~106.7 %之间, 说明本方法的具有较好的重现性。

Table 1. Determination of nonylphenol in water samples.(n = 5)
表 1 水样中壬基酚的测定(n = 5)

样品	实际值 /($\mu\text{g/l}$)	加入量 /($\mu\text{g/l}$)	测得值 /($\mu\text{g/l} \pm \text{S.D.}$)	回收率 /(%)
湖水	12.07 $\pm$ 0.33	5.00	17.41 $\pm$ 0.88	106.7
		10.00	22.44 $\pm$ 1.40	103.7
		20.00	31.67 $\pm$ 1.49	98.0
污水	n. d.	5.00	4.34 $\pm$ 0.52	86.7
		10.00	8.30 $\pm$ 1.93	82.9
		20.00	14.85 $\pm$ 2.04	74.3
饮用 纯净水	n. d.	5.00	5.28 $\pm$ 0.52	105.5
		10.00	9.33 $\pm$ 0.70	93.3
		20.00	19.98 $\pm$ 1.03	99.9

n. d : 未检出

4 结语

本文建立了分析壬基酚的分散液液微萃取-高效液相色谱法。考察了萃取剂、分散剂的种类和体积、萃取时间、离心时间、盐浓度等对萃取效率的影响,优化了萃取条件。结果表明,该方法测定水中痕量壬基酚,具有简便快速,线性范围广,检测限低等优点,精密度与准确度均符合要求,适用于饮用水、地表水及污水中痕量壬基酚的测定。

References (参考文献)

- [1] Routledge E J, Sumpter J P. Structural features of alkylphenolic chemicals associated with estrogenic activity[J], *Biol Chem*, 1997, 272 (6), P3280 - 3288.
- [2] Sung H H, Ye Y Z. Effect of nonylphenol on giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) via oral treatment: Toxicity and messenger RNA expression of hemocyte genes[J], *Aquatic Toxicology*, 2009, 91 (3), P270 - 277.
- [3] Harries J, Sheahan D, Jobling S, et al. A survey of estrogenic activity in UK inland waters[J], *Environ. Toxicol. Chem.*, 1997, 16(3), P534.
- [4] Jobling S, Sumpter J. Detergent components in sewage effluent are weakly estrogenic to fish : an in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes[J], *Aquatic Toxicology*, 1993, 27(1), P361.
- [5] Zhao Chengcheng, Wang Xinze, Lu Jiaming, et al. Determination of Nonylphenols in Domestic Sewerage by Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography[J], *The Administration and Technique of Environmental Monitoring*, 2009, 21(5), P39-41 (Ch).
赵铨铨, 王欣泽, 鲁佳铭等. 固相微萃取-气相色谱法测定生活污水中壬基酚. 环境监测管理和技术[J], 2009, 21(5), P39-41.
- [6] Chen Suqing, Liang Huading, Huang Weiya, et al. Determination of 4-Nonylphenol and Bisphenol A in Water Samples by High Performance Liquid Chromatography Coupled with On-line Flow Injection Preconcentration[J], *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2008, 36(7), P959-963 (Ch).
陈素清, 梁华定, 黄微雅等. 流动注射在线预富集-高效液相色谱法测定水中的4-壬基酚和双酚A[J], 分析化学研究简报, 2008, 36(7), P959-963.
- [7] Jin Fen, Hu Jianying, Shao Bing, et al. Determination of nonylphenol ethoxylate and onylphenol in wild *Carassius auratus* from Tianjin[J], *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2004, 24(1), P150-153 (Ch).
金芬, 胡建英, 邵兵等. 天津野生鲫鱼体内壬基酚聚氧乙烯醚和壬基酚监测[J], 环境科学学报, 2004, 24(1), P150-153.
- [8] Shen Gang, Zhang Zulin, Yu Gang, et al. The pollution state of nonylphenol and octylphenol in Haihe River and Bohai Bay in summer[J], *China Environmental Science*, 2005, 25(6), P733-736 (Ch).
沈钢, 张祖麟, 余刚等. 夏季海河与渤海湾中壬基酚和辛基酚污染的状况[J], 中国环境科学, 2005, 25(6), P733-736.
- [9] Han Hao, Shao Bing, MaYalu, et al. Determination of Estrogen-Like Compounds in Beverages by High Performance Liquid Chromatography[J], *Chinese Journal of Chromatograph*, 2005, 23(2), P176-179 (Ch).
韩灏, 邵兵, 马亚鲁等. 高效液相色谱法测定饮料类食品中的类雌激素[J], 色谱, 2005, 23(2), P176-179.
- [10] Zhang kuiwen, Ye Sai, Na Guangshui, et al. Determination of bisphenolA, nonylphenol, octylphenol in water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J], *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2008, 27(8), P62-66 (Ch).
张奎文, 叶赛, 那广水等. 高效液相色谱-串联质谱法测定环境水体中双酚A、辛基酚、壬基酚[J], 分析实验室, 2008, 27(8), P62-66.
- [11] Mohammad R, Yaghoub A, Mohammad R M H, et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction[J], *Journal of Chromatography A*, 2006, 1116, P1-9.
- [12] Daneshfar A, Khezeli T, Lotfi H J. Determination of cholesterol in food samples using dispersive liquid-liquid microextraction followed by HPLC-UV[J], *Journal of Chromatography B*, 2009, 877, P456-460.
- [13] Liang P, Xu J, Li Q. Application of dispersive liquid-liquid microextraction and high-performance liquid chromatography for the determination of three phthalate esters in water samples[J], *Analytica Chimica Acta*, 2008, 609, P53-58.
- [14] Li Y, Wei G, Hu J, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction followed by reversed phase-high performance liquid chromatography for the determination of polybrominated diphenyl ethers at trace levels in landfill leachate and environmental water samples[J], *Analytica Chimica Acta*, 2008, 615, P96-103.
- [15] Ding Zongqing, Liu Guangdong. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with spectrophotometric determination of trace vanadium[J], *Metallurgical Analysis*, 2009, 29 (4), P54-56 (Ch).
丁宗庆, 刘光东. 分散液液微萃取-分光光度法测定痕量钒[J], 冶金分析, 2009, 29(4), P54-56.