

GC 和 HPLC 测定水中苦味酸的比较

翟有朋, 顾云, 张宗祥, 杨文武, 张永兵
(泰州市环境监测中心站, 江苏 泰州 225300)

摘要:建立了气相色谱法(GC)和高效液相色谱法(HPLC)测定水中苦味酸的分析方法,并对2种方法进行比较。GC法检出限为0.000 4 mg/L,线性范围为0.0~0.050 mg/L,加标回收率为92.3%~94.1%,相对标准偏差为4.6%~8.9%。HPLC法检出限为0.02 mg/L,线性范围为0.10~5.00 mg/L,加标回收率为93.7%~96.5%,相对标准偏差为1.3%~2.0%。2种方法相比,GC法灵敏度较高,可用于痕量分析,但操作烦琐,不能有效地将苦味酸与硝基酚类干扰物分离;而HPLC法虽然灵敏度较差些,但简单、快速、稳定性好、准确度高,有效地将苦味酸与硝基酚类干扰物分离。

关键词:苦味酸;气相色谱法;高效液相色谱法;水;比较

中图分类号:X832

文献标志码:B

文章编号:1674-6732(2017)05-0013-03

Comparison of Using GC and HPLC to Determine Picric Acid in Water

ZHAI You-peng, GU Yun, ZHANG Zong-xiang, YANG Wen-wu, ZHANG Yong-bing
(Taizhou Environmental Monitoring Center, Taizhou, Jiangsu 225300, China)

Abstract: Two analysis methods of picric acid in water were established by gas chromatography and high performance liquid chromatography, and the advantages and disadvantages of two methods were compared. The method detection limit of GC was 0.000 4 mg/L, the linear range was 0.0~0.050 mg/L, the recovery of standard addition was 92.3% to 94.1%, the relative standard deviation was 4.6% to 8.9%. The method detection limit of HPLC was 0.02 mg/L, the linear range was 0.10~5.00 mg/L, the recovery of standard addition was 93.7% to 96.5%, the relative standard deviation was 1.3% to 2.0%. GC had higher sensitivity and was suitable for trace analysis, but its operation was complex, and it couldn't separate picric acid and other nitrophenolic distractors effectively. HPLC was simple and rapid, it had good stability and high accuracy, picric acid and other nitrophenolic distractors could be separated effectively by this method.

Key words: Picric acid; Gas chromatography; High performance liquid chromatography; Water; Comparison

苦味酸(Picric acid)又称2,4,6-三硝基苯酚,俗称黄色炸药,是军事上最早使用的一种烈性炸药^[1]。苦味酸广泛应用于工农业生产中,在医药上用作消毒剂,在农业上用作杀菌剂^[2],在环保上用作溶解白色垃圾的良好溶剂。苦味酸会对人的眼睛、皮肤、呼吸道和消化道产生危害,长期接触会引起头晕、头痛、记忆力下降等症状。

苦味酸作为《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)中规定的集中式生活饮用水地表水源地80个特定项目之一,其标准限值为0.5 mg/L^[3]。目前测定水中苦味酸常见的方法有气相色谱法^[4]、高效液相色谱法^[5-6]、气相色谱-质谱联用法^[7]和液相色谱-质谱联用法^[8-9]等。我国推荐的方法为《生活饮用水标准检验方法》(GB/T 5750.8—2006)^[10]中规定的气相色谱法,检出限为1 μg/L,

暂时还没有标准推荐的高效液相色谱法。

现采用气相色谱法-电子捕获检测器(GC-ECD)和高效液相色谱法-紫外检测器(HPLC-UV)分别测定水中的苦味酸,并对2种方法进行比较,为高效、快速测定水中苦味酸提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

6890N型气相色谱仪(美国Agilent公司),配有电子捕获检测器;Waters2695高效液相色谱仪(美国Waters公司),配有紫外检测器。

苦味酸标准溶液(溶剂为乙腈和甲醇)、对硝

收稿日期:2017-05-22;修订日期:2017-08-03

作者简介:翟有朋(1984—),男,工程师,硕士,从事环境监测工作。

基苯酚标准溶液(溶剂为甲醇)、2,4-二硝基苯酚标准溶液(溶剂为甲醇)、4,6-二硝基邻甲酚标准溶液(溶剂为甲醇)、氯化苦标准溶液(溶剂为甲醇)均为 100 mg/L,购自百灵威公司。乙腈、甲酸、甲醇、二氯甲烷、正己烷为农残级,购自上海安谱实验科技股份有限公司。无水硫酸钠、氢氧化钠、浓硫酸、次氯酸钠为分析纯,购自恒泰玻化有限公司。

1.2 样品处理

气相色谱法:量取 20 mL 水样于 100 mL 分液漏斗中,加入 2 mL 饱和次氯酸钠溶液,于 25℃ 恒温水浴反应 60 min,取出后加入 2 mL 正己烷,振荡萃取 5 min 后静置分层,弃去下层水样,保留上层有机相,取 1.0 mL 有机相到进样小瓶中,待测。

高效液相色谱法:待测水样经 0.22 μm 聚四氟乙烯亲水滤头过滤后,直接取 1.0 mL 过滤水样到进样小瓶中,待测。

1.3 色谱分析条件

气相色谱条件:色谱柱为 DB-5 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm,膜厚 0.25 μm);流速为 1.0 mL/min;进样口温度为 200℃;进样方式为分流进样,分流比为 10:1;检测器温度为 300℃;程序升温:初始温度 50℃,保持 4 min,以 10℃/min 升至 150℃,保持 2 min,再以 30℃/min 升至 220℃;进样体积为 1.0 μL。

高效液相色谱条件:色谱柱为 Symmetry C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm,粒径 5 μm);流速为 1.0 mL/min;检测器波长为 357 nm;进样体积为 40 μL。

2 结果与讨论

2.1 条件的选择及优化

2.1.1 气相色谱法

《GB/T 5750.8—2006》中苦味酸的测定以苯作为萃取溶剂,而苯的毒性较大,对分析人员危害大。研究表明:正己烷和苯对地表水、生活污水及工业废水中的苦味酸的萃取效率均较高,加标回收率均达 90.0% 以上,萃取效率无显著差异,但正己烷的毒性要远低于苯,所以本方法选用正己烷作为萃取溶剂。

采用石英毛细管柱取代《GB/T 5750.8—2006》中使用的填充柱,能够更好地分离目标化合物。

2.1.2 高效液相色谱法

选取乙腈和甲醇进行流动相有机溶剂试验。

结果表明:当流动相有机溶剂为乙腈时,苦味酸无法从色谱柱上洗脱下来,目标化合物无响应;当流动相有机溶剂为甲醇时,目标化合物有较好的响应值,故而流动相有机溶剂选定为甲醇。当流动相中甲醇与水的比例选定为 70:30 时,色谱峰形匀称,基线平稳。为了进一步改善峰型,在甲醇与水中均添加 0.1% 甲酸。

选取 30, 35 及 40℃ 进行柱温试验。结果表明:当柱温为 30℃ 时,峰型极不对称,峰宽较宽;当柱温为 35 或 40℃ 时,苦味酸响应值相差不大,但 40℃ 时峰型较为匀称、尖锐,基线较为平缓,故柱温选定为 40℃。

2.2 干扰物的分离

2.2.1 气相色谱法

气相色谱法测定水中苦味酸的原理为:水中苦味酸与次氯酸钠反应生成氯化苦,用正己烷萃取,萃取液经 GC-ECD 检测,以产物氯化苦来定量。由于与苦味酸结构相似的硝基酚类(如对硝基苯酚、2,4-二硝基苯酚、4,6-二硝基邻甲酚等)均能与次氯酸钠反应生成氯化苦,因而采用气相色谱法测定水中的苦味酸时,无法有效地将苦味酸与硝基酚类化合物分离,从而无法准确定量。

2.2.2 高效液相色谱法

按照 1.3 中的液相色谱条件进行分析,发现液相色谱法能将样品中的苦味酸及与其结构相似的 3 种硝基酚类化合物有效地分离(见图 1)。

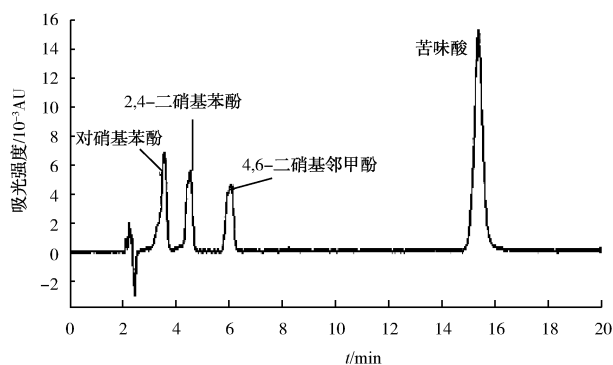


图 1 2 mg/L 苦味酸与 3 种硝基酚类高效液相色谱图

2.3 色谱图与校准曲线

苦味酸的气相色谱图与高效液相色谱图分别见图 2 与图 3。气相色谱法与高效液相色谱法的色谱峰形均对称尖锐、分离效果好,但气相色谱法的出峰时间较高效液相色谱法短。

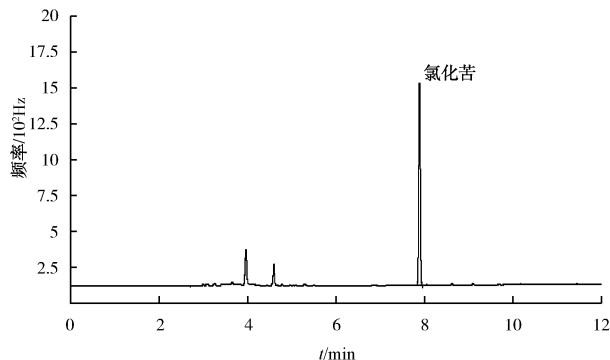


图2 0.02 mg/L 苦味酸氯化产物(氯化苦)气相色谱图

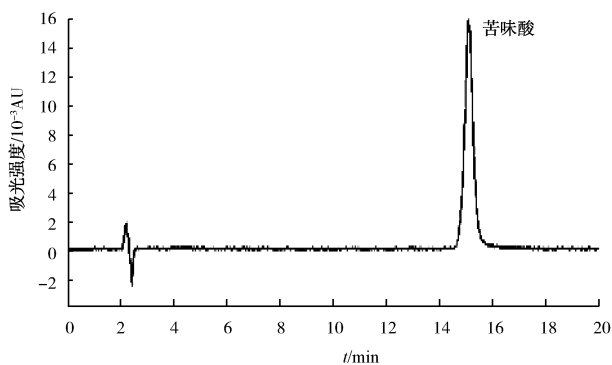


图3 2.0 mg/L 苦味酸标准高效液相色谱图

用超纯水配制苦味酸标准溶液系列,其中气相色谱法为0.0,2.5,5.0,10.0,20.0和50.0 $\mu\text{g/L}$,高效液相色谱法为0.10,0.20,0.50,1.00,2.00和5.00 mg/L,按照1.3条件进行测定。以苦味酸的质量浓度为横坐标,对应的仪器响应值(峰面积)为纵坐标,绘制标准曲线。得气相色谱法和高效液相色谱法测定苦味酸的标准曲线分别为 $y = 194\,570.63x - 1\,814.43$ 和 $y = 47.6x - 189$,2种方法的标准曲线线性范围均较宽,相关性好,相关系数均为0.9999。

2.4 方法检出限、精密度和准确度

选择产生仪器信噪比2~5倍响应值所对应浓度的样品,重复平行测定7次,计算测定结果的标准偏差,按照公式 $\text{MDL} = t_{(n-1,0.99)} \times S$ 计算方法检出限^[11],得气相色谱法和高效液相色谱法测定苦味酸的检出限分别为0.0004和0.02 mg/L。

结合标准曲线线性范围,用超纯水分别配制低、中、高3个浓度水平的苦味酸水溶液,各平行测定6次,计算方法的相对标准偏差,用于考察方法的精密度,结果见表1。

以地表水、生活污水、工业废水为介质,分别配

制低、中、高3个浓度水平的苦味酸水溶液,平行测定6次,计算方法的平均回收率,用于考察方法的准确度,结果见表1。其中,地表水、生活污水及工业废水中均无苦味酸检出。

表1 方法精密度和准确度

分析方法	$\rho(\text{配制})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho(\text{测定})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率/%	RSD/%
GC-ECD	0.0025	0.00231	92.4	8.9
	0.010	0.0941	94.1	5.2
	0.040	0.0369	92.3	4.6
HPLC-UV	0.10	0.0937	93.7	2.0
	1.00	0.952	95.2	1.6
	4.00	3.86	96.5	1.3

由表1可知,气相色谱法的平均加标回收率相对较低,相对标准偏差相对较大,说明气相色谱法适合于水中苦味酸的痕量分析,不过方法稳定性上没有高效液相色谱法好。

3 结语

建立的测定水中苦味酸的气相色谱法和高效液相色谱法均能满足《GB 3838—2002》的监测要求。

气相色谱法测定水中苦味酸的灵敏度较高,适合样品的痕量分析;用正己烷代替毒性较大的苯作为萃取溶剂,减轻了对分析人员身体的伤害;采用石英毛细管柱,能够更好地分离目标化合物。但气相色谱法样品前处理较为烦琐,涉及衍生化、萃取等步骤,耗时长;同时也不能有效地将苦味酸与硝基酚类干扰物分离,无法准确定量。

高效液相色谱法虽然检出限较高,灵敏度较低,但水样无须萃取、浓缩,分析方法简单、快速、稳定性好,准确度高。同时也可有效地将苦味酸与硝基酚类干扰物分离,能够准确定量。

[参考文献]

- [1] ALBRIGHT R. Cleanup of Chemical and Explosive Munitions [M]. New York: Elsevier B. V., 2007.
- [2] 张欢燕,刘鸣,周守毅,等. GC 和 HPLC 测定环境水体中苦味酸的分析方法比较[J]. 环境科学与技术, 2014, 12(120): 357-360.
- [3] 国家环境保护总局,国家质量监督检验检疫总局. 地表水环境质量标准:GB 3838—2002[S]. 北京:中国环境科学出版社, 2002.

(下转第31页)

- [74] 王红艳, 徐建, 张远, 等. 不同基质样品中痕量抗生素前处理方法研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2013 (2): 215-223.
- [75] 杨光, 徐晓秋, 高德玉, 等. 分子印迹固相萃取技术在抗生素检测中的应用进展[J]. 黑龙江科学, 2015 (9): 56-57.
- [76] 张桂香, 刘希涛, 赵焯, 等. 环境样品中抗生素残留分析研究进展[J]. 环境污染与防治, 2009, 31(10): 64-70.
- [77] 赵立军, 郭磊, 陈进富, 等. 抗生素废水的 GC-MS 分析与显色物质的初步确定[J]. 环境工程学报, 2009, 3(10): 1830-1834.
- [78] 洪波, 曾春芳, 高峰, 等. 高效液相色谱-紫外法测定水产品中四环素类、喹诺酮类抗生素残留[J]. 湖南农业科学, 2013 (21): 81-84.
- [79] MCWHINNEY B C, WALLIS S C, HILLISTER T, et al. Analysis of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by HPLC with ultraviolet detection[J]. Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences, 2010, 878(22): 2039-2043.
- [80] 邓樱花, 李林, 张洪权, 等. 高效液相色谱-荧光检测法测定鸡肉中5种磺胺类药物残留[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2014, 48(1): 53-57.
- [81] KÜÇÜKÇAKAN B, STOJANOVSKA-DIMZOSKA B, HAJRULAIMUSLIU Z, et al. Determination of ochratoxin-A in cattle liver by HPLC-FD method[J]. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2016, 22(1): 1-5.
- [82] RIBEIRO A R, MAIA A S, MOREIRA I S, et al. Enantioselective quantification of fluoxetine and norfluoxetine by HPLC in wastewater effluents[J]. Chemosphere, 2014, 95(9): 589-596.
- [83] 李鹏飞, 孙健姿, 马萍, 等. LC-MS/MS 法测定人血浆中克拉霉素的质量浓度[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2012, 48(3): 323-326.
- [84] 吴健, 朱峰, 吉文亮, 等. 高效液相色谱-质谱联用法同时检测水体中14种喹诺酮类药物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2015 (12): 4966-4974.
- [85] 尹燕敏, 顾海东, 秦宏兵. 固相萃取-超高效液相色谱三重四级杆质谱联用法测定水中的氯霉素[J]. 环境监控与预警, 2013, 5(5): 26-28.
- [86] TSAI C W, LIN C S, WANG W H. Multi-Residue determination of sulfonamide and quinolone residues in fish tissues by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)[J]. Journal of Food & Drug Analysis, 2012, 20(3): 674-680.
- [87] HAN R W, ZHENG N, YU Z N, et al. Simultaneous determination of 38 veterinary antibiotic residues in raw milk by UPLC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2015, 181: 119-126.
- [88] 顿文涛, 李勉, 毕庆生, 等. 用于抗生素检测的生物传感器研究进展[J]. 生物技术通报, 2013(6): 70-74.
- [89] GUSTAVSSON E. SPR biosensor analysis of β -lactam antibiotics in milk[J]. Acta Universitatis Agriculturae Sueciae Agraria, 2003, 1-52.
- [90] 陶光灿, 孙震, 杨昌松, 等. ELISA 与 LC-MS/MS 检测喹诺酮类药物残留的比较[J]. 广东畜牧兽医科技, 2012, 37(5): 29-33.
- [91] 魏博娟. 水产品中多种喹诺酮类药物残留量检测方法的研究[D]. 集美大学, 2011.
- [92] SIERRA-RODERO M, FERNÁNDEZ-ROMERO J M, GÓMEZ-HENS A. Determination of fluoroquinolone antibiotics by microchip capillary electrophoresis along with time-resolved sensitized luminescence of their terbium(III) complexes[J]. Microchimica Acta, 2014, 181(15): 1897-1904.
- [93] HU K, LI J, WEBSTER J M. Quantitative analysis of a bacteria-derived antibiotic in nematode-infected insects using HPLC-UV and TLC-UV methods[J]. Journal of Chromatography B Biomedical Sciences & Applications, 1997, 703(1-2): 177-183.

(上接第15页)

- [4] 倪刘建, 杨文武, 李江, 等. 气相色谱法测定水中的苦味酸[J]. 中国环境监测, 2009, 25(5): 47-49.
- [5] 赵红帅, 常森, 刘保献, 等. 高效液相色谱法快速测定水中苦味酸[J]. 中国环境监测, 2013, 8(4): 135-137.
- [6] 江放明, 戴斐, 谭爱喜, 等. 高效液相色谱法测定烟火剂中的苦味酸[J]. 光谱实验室, 2011, 5(3): 1143-1145.
- [7] 张红, 赖永忠, 刘莺, 等. 气相-动态顶空进样-气相色谱/质谱法间接测定饮用水源水中苦味酸[J]. 中国测试, 2013, 1(1): 61-63.
- [8] 施艳峰, 普学伟, 李国文, 等. 直接进样-液相色谱/串联质谱法测定水中苦味酸[J]. 分析试验室, 2014, 8(8): 984-987.
- [9] 钱飞中, 朱丽波, 徐能斌, 等. 超高效亲水作用色谱-串联质谱法检测水中的苦味酸及苦氨酸[J]. 色谱, 2014, 5: 535-538.
- [10] 中华人民共和国卫生部, 中国疾病预防控制中心. 生活饮用水标准检验方法: GB/T 5750.8—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [11] 环境保护部. 环境监测 分析方法标准制修订技术导则: HJ 168—2010[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010.