

超声波-气相色谱法测定鱼肉样品中硝基苯类化合物

张莉, 周卫华, 王兆群

(淮安市环境监测中心站, 江苏 淮安 223001)

摘要: 以鱼肉样品为研究对象, 采用超声波法提取鱼肉中的硝基苯类化合物, 并通过凝胶色谱进行净化、浓缩, 最后用气相色谱定量分析, 得到生物样品中硝基苯类化合物的检出限, 同时与传统的索氏提取法进行加标回收试验比较。结果表明: 用超声波提取鱼肉样品中的硝基苯类化合物方法可行, 回收率稳定, 并且得到检出限为 0.13 ~ 2.72 ng/g, 加标回收率在 60% ~ 78%, RSD 在 0.04% ~ 3.2%。

关键词: 硝基苯类化合物; 鱼肉; 超声波; 凝胶色谱

中图分类号: X830.2

文献标识码: B

文章编号: 1674-6732(2013)-04-0027-03

Ultrasonic-Gas Chromatographic Method for the Determination of Nitrobenzene Compounds in Fish Samples

ZHANG Li, ZHOU Wei-hua, WANG Zhao-qun

(Huai'an Environmental Monitoring Central Station, Huai'an, Jiangsu 223001, China)

ABSTRACT: Fish as samples for the study, used ultrasonic method to extract the Nitrobenzene compounds in fish, purified and concentrated by gel chromatography, and then finally analyzed by gas chromatography. The detection limits of Nitrobenzene compounds in biological samples were got and compared with the traditional Soxhlet extraction method in recovery experiment. Results indicate that the method of ultrasonic extraction to get the Nitrobenzene compounds in fish samples was feasible and the recovery rate was stable. The detection limits were between 0.13 ng/g ~ 2.72 ng/g. the standard recovery was between 60% ~ 78% and RSD was between 0.04% ~ 3.2%.

KEY WORDS: nitrobenzene compounds; fish; ultrasonic; gel chromatography

目前,对硝基苯类化合物的研究主要是在水和废水方面,对于生物样品(如鱼肉)中的硝基苯类化合物研究还比较少。从鱼肉样品中高效稳定地将硝基苯类化合物提取出来是实验的关键。前人用的前处理方法主要有索氏提取法和蒸汽蒸馏提取法,超声波用于提取鱼体中的硝基苯类化合物的方法尚未见报道^[1]。索氏提取法比较准确可靠,但操作费时,溶剂使用量大,不适用于大量样品的常规分析。蒸汽蒸馏法的处理过程复杂,中间环节多,不能稳定控制提取效率。

笔者使用超声波法进行鱼肉样品中的硝基苯类化合物的提取,再通过凝胶色谱仪(GPC)净化浓缩,回收率稳定,重现性好,操作简单,耗时短,是理想的分析生物样品中硝基苯类化合物的方法。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

仪器: Agilent 7890 气相色谱仪,配以化学工作

站及 63 Ni 型电子捕获检测器(μ ECD), J2 scientific 凝胶色谱净化及在线浓缩系统(澳大利亚), FS-2 型可调高速匀浆机(金坛科析仪器有限公司), 超声波处理器(上海生析超声仪器有限公司)。

标准样品: 正己烷中 10 种硝基苯类化合物(其中硝基苯的浓度为 1 000 mg/L, o-, p-, m-二硝基苯, 2,4-二硝基甲苯, 2,4,6-三硝基甲苯, o-, p-, m-硝基氯苯, 2,4-二硝基氯苯的浓度为 100 mg/L, 美国 AccuStandard 公司)。

无水硫酸钠(AR, 400℃灼烧), 乙酸乙酯, 环己烷, 正己烷均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 采样

鱼样采自洪泽湖临淮水域。采样时间是 2011

收稿日期: 2012-04-05; 修订日期: 2012-04-23

基金项目: 江苏省环境监测科研基金项目(1111)。

作者简介: 张莉(1981—)女, 工程师, 硕士, 从事有机污染物仪器分析工作。

年10月。鱼类采集后直接存放于冷冻冰盒内,运往实验室分析。

1.2.2 样品预处理

超声法:称取5 g左右鱼样肌肉部分,加入5 g无水硫酸钠研磨至没有结块,加入20 mL正己烷,用匀浆机匀浆后,超声(功率450 W,频率20 kHz),选择1 s脉冲模式,提取10 min,4 000 rpm离心5 min,收集有机相,重复加入20 mL正己烷,匀浆离心,合并有机相,氮吹浓缩至10 mL,浓缩液通过GPC凝胶色谱净化,浓缩到2 mL,直接进气相色谱分析。

索氏提取法:同样称取5 g左右鱼样肌肉部分,加入5 g无水硫酸钠研磨至没有结块。保持水浴锅温度为65℃,分别按正己烷:丙酮=5:1进行浸提,回流18 h后将溶液进行旋转蒸发,并氮吹定容到10 mL,再进GPC浓缩。

1.2.3 气相色谱的测定和分析

GC-ECD分析:DB-5毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),柱流量为1.2 mL/min,进样口温度为250℃,恒流模式,分流比为10:1,检测器温度为260℃。程序升温:120℃保持3 min,以20℃/

min升温到160℃,保持2 min,再以20℃/min升温到200℃保持1 min。进样量为1 μL。

1.2.4 GPC的净化条件

选用C 0785型玻璃柱,环己烷:乙酸乙酯=1:1,流量为4.7 mL/min。

净化方法:使用C 0785玻璃柱,前10 min不收集,后8 min收集。

浓缩方法:选用液位传感模式下的溶液置换方法,2.5 mL正己烷做预加液,自下而上3个工作区的温度及真空度分别为40℃、250 torr,48℃、180 torr,50℃、180 torr,最后定容到2 mL。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线和方法评价

2.1.1 标准曲线

在6个2 mL容量瓶中,分别加入0,1,5,20,50,100 μL混合标准溶液,得到硝基苯的标准系列浓度为0,0.5,2.5,10,25,50 mg/L,其他9种化合物的标准系列浓度为0,0.05,0.25,1.0,2.5,5.0 mg/L。标准曲线回归方程和相关系数见表1。色谱图见图1。

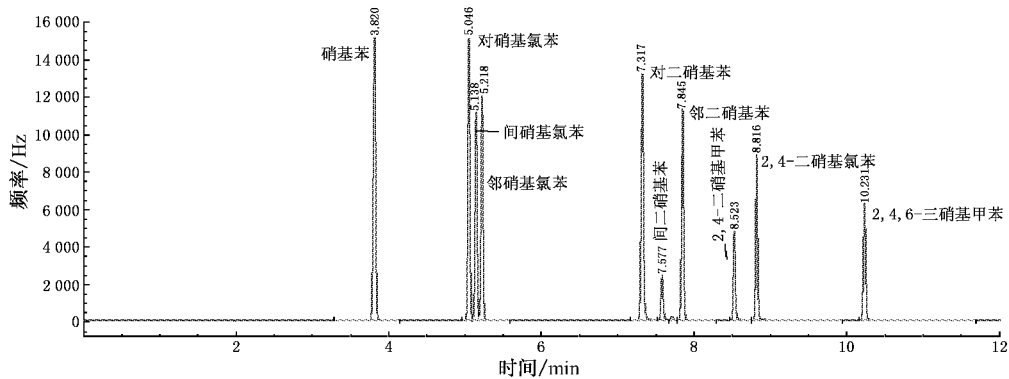


图1 10种硝基苯类化合物的气相色谱

连续分析7个接近于检出限浓度的实验室空白加标样品,计算其标准偏差 S 。 $MDL = St_{(n-1,0.99)}$,式中: $t_{(n-1,0.99)}$ ——置信度为99%、自由度为 $(n-1)$ 时的 t 值^[2]; n ——重复分析的样品数。要求加标样品测定平均值与 MDL 比值在3~5之间的化合物数目要大于50%,小于1和大于10的化合物数目要小于10%,这说明用于测定 MDL 的初次加标样品浓度比较合适。对于初次加标样品测定平均值与 MDL 比值不在3~5之间的化合物,要增加或减少浓度,重新进行平行分析,直至比值在3~5之间。选择比值在3~5之间的

MDL 作为该化合物的 MDL 。该实验的鱼肉样品取样量均为5 g,添加量及各化合物的方法检出限见表1。

表1 标准曲线回归方程和相关系数及检出限

化合物	回归方程	相关系数	样品量/g	添加量/ng	检出限/(ng·g ⁻¹)
硝基苯	$y = 667x - 526$	0.998 9	5.0	20	2.65
间硝基氯苯	$y = 5\,563x - 502$	0.998 5	5.0	6	0.41
对硝基氯苯	$y = 4\,216x - 615$	0.999 4	5.0	1	0.13

续表 1

化合物	回归方程	相关系数	样品量/g	添加量/ng	检出限/(ng·g ⁻¹)
邻硝基氯苯	$y = 4\,507x - 912$	0.998 6	5.0	2	0.27
对二硝基苯	$y = 5\,562x - 558$	0.997 6	5.0	2	0.46
间二硝基苯	$y = 1\,024x - 90$	0.999 3	5.0	20	2.72
邻二硝基苯	$y = 4\,177x - 404$	0.997 3	5.0	1	0.14
2,4-二硝基甲苯	$y = 1\,782x - 183$	0.999 2	5.0	2	0.69
2,4-二硝基氯苯	$y = 3\,057x - 465$	0.998 6	5.0	2	0.35
2,4,6-三硝基甲苯	$y = 2\,650x - 86$	0.999 7	5.0	2	0.52

2.1.2 鱼肉样品的回收率

按照上述实验方法,分别对样品进行超声预处理和索氏提取,再进行富集、浓缩,在相同色谱条件下用 GC/ECD 分析,进行鱼肉中的硝基苯类化合物的回收率实验(表 2)。从表中可以看出,超声提取法的加标回收率在 60% ~ 78%,而索氏提取法的加标回收率只有 42% ~ 78%。这是由于本实验对索氏提取的方法尚未作优化,而且使用大量溶剂(200 mL 正己烷,40 mL 丙酮),必须通过旋转蒸发的方法去除溶剂,中间过程的增加,造成了部分化合物的回收率有所降低。

表 2 鱼肉样品的加标回收率 (n = 3)

化合物	样品质量/g	加标量/μg	超声法回收率/%	RSD/%	索氏提取回收率/%
硝基苯	5.0	5.0	73	3.2	42
间硝基氯苯	5.0	0.5	78	0.04	69
对硝基氯苯	5.0	0.5	77	0.04	56
邻硝基氯苯	5.0	0.5	77	0.10	69
对二硝基苯	5.0	0.5	74	0.15	73
间二硝基苯	5.0	0.5	65	0.20	54
邻二硝基苯	5.0	0.5	75	0.24	78
2,4-二硝基甲苯	5.0	0.5	70	0.45	72

续表 2

化合物	样品质量/g	加标量/μg	超声法回收率/%	RSD/%	索氏提取回收率/%
2,4-二硝基氯苯	5.0	0.5	61	0.83	48
2,4,6-三硝基甲苯	5.0	0.5	60	2.2	64

2.1.3 鱼肉样品中硝基苯类化合物的含量

采集了洪泽湖中具有代表性的白鱼、花滑两种鱼进行硝基苯类化合物含量的测定。实验数据用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm S$) 表示。数据采用 SPSS 19.0 分析软件进行分析,结果见表 3。白鱼肉中硝基苯类化合物的总含量比较高,为 112.83 ng/g,而花滑为 32.85 ng/g。

表 3 鱼肉样品中硝基苯类化合物的含量 (n = 3)

化合物	白鱼样品中各硝基苯类化合物含量/(ng·g ⁻¹)	花滑样品中各硝基苯类化合物含量/(ng·g ⁻¹)
硝基苯	37.4 ± 3.00	ND
间硝基氯苯	4.76 ± 0.32	5.84 ± 0.32
对硝基氯苯	5.54 ± 0.37	1.94 ± 0.01
邻硝基氯苯	4.45 ± 0.30	5.26 ± 0.95
对二硝基苯	8.34 ± 0.77	1.04 ± 0.07
间二硝基苯	16.6 ± 3.32	10.8 ± 2.39
邻二硝基苯	8.44 ± 0.79	2.32 ± 0.24
2,4-二硝基甲苯	10.8 ± 2.19	2.30 ± 0.20
2,4-二硝基氯苯	13.2 ± 4.61	2.34 ± 0.05
2,4,6-三硝基甲苯	12.3 ± 4.31	1.01 ± 0.88

3 结论

(1) 利用超声波法进行鱼肉样品中的硝基苯类化合物的提取,凝胶色谱净化浓缩,气相色谱定量分析。得到白鱼肉的硝基苯类化合物的总含量为 113 ng/g,花滑样品的硝基苯类化合物的总含量为 32.9 ng/g。

(2) 鱼肉样品的加标回收率在 60% ~ 78%, RSD 为 0.04% ~ 3.2%,鱼肉样品的检出限为 0.13 ~ 2.72 ng/g。

[参考文献]

[1] 郎佩珍,王敏健,龙凤山,等. 鱼和蚌体中多钟有机污染物的提取和净化方法[J]. 中国环境监测,1986,2(3):6-10.
[2] HJ168—2010 环境监测 分析方法标准制订修订技术导则[S].