

· 监测技术 ·

# 酚类物质的3种衍生方法比较研究

王荟<sup>1,2</sup> 李娟<sup>1,2</sup>

(1. 江苏省环境监测中心, 江苏 南京 210036; 2. 国家环境保护地表水环境有机污染物监测分析重点实验室, 江苏 南京 210036)

**摘要:**对3类适用于酚类物质的衍生方法进行比较。结果显示,3种衍生方法均具有改善峰形、提高检测灵敏度、降低检出限等优势。其中七氟丁酸酐衍生法具有较大的腐蚀性;TMS衍生体系对水分非常敏感,需确保衍生体系脱水充分;五氟苯基溴衍生相对更成熟和完善。

**关键词:**酚类;酰化衍生;硅烷基化衍生;烷基化衍生

中图分类号:O657.7<sup>-1</sup>;O657.63

文献标志码:B

文章编号:1674-6732(2016)06-0022-04

## Comparative Study of Three Derivatization Methods of Phenolic Compounds

WANG Hui<sup>1,2</sup>, LI Juan<sup>1,2</sup>

(1. Jiangsu Environmental Monitoring Center, Nanjing, Jiangsu 210036, China; 2. State Environmental Protection Key Laboratory of Monitoring and Analysis for Organic Pollutants in Surface water, Nanjing, Jiangsu 210036, China)

**Abstract:** Three appropriate category derivatization methods were selected and compared for phenolic compounds. The results showed that the three derivatization methods all had many advantages, such as improving the peak shape, improving the detection sensitivity, and lower the detection limits, etc. Wherein heptafluoro-butyric anhydride derivatization method was relatively more corrosive; TMS-derivatization system was very sensitive to water, and adequate dewatering was necessary; pentafluoro-benzyl bromide derivatization method was relatively more mature and perfect.

**Key words:** Phenolic compounds; Acylation derivatives; Silicon alkylated derivatives; Alkylated derivatives

酚类化合物是一类重要的工业污染物,主要来自炼油、煤气洗涤、炼焦、造纸、合成氨、木材防腐和化工等废水。其主要分析方法有气相色谱法、气相色谱质谱法、液相色谱法和液相色谱质谱法<sup>[1-9]</sup>。由于酚类化合物缺少强电离的官能团,尤其在复杂生物基质或是环境样本中,微量的酚类物质在液相色谱质谱检测中离子化效率低,检测灵敏度不理想,基质抑制和无机盐及内源性杂质的干扰严重<sup>[3,5]</sup>;在气相色谱中,未经衍生的酚类稳定性较差,存在杂质干扰时灵敏度可能会受到严重影响,部分酚类化合物不易挥发且色谱峰拖尾,需要将其衍生化而改善峰形<sup>[2]</sup>。虽然衍生方法步骤相对复杂,但衍生化后得到的酚类衍生化合物较稳定,分析时抗干扰能力较强,且能做较长时间保存以进行样品复测。

对酚类化合物,目前使用的衍生方法主要有酰

化衍生、硅烷基化衍生和烷基化衍生3种方法。其中烷基化衍生是EPA604、EPA8041和《水质 酚类化合物的测定气相色谱-质谱法》(HJ 744—2015)推荐的方法。现对3种不同衍生方法进行研究,分析和比较各自的性能特点。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 仪器与试剂

Trace气相色谱-质谱仪(Thermo Fisher公司);Laborota 4003旋转蒸发仪(Heidolph公司)。

酚类标准储备液:组分为苯酚、2-氯苯酚、4-氯苯酚、五氯酚、2,4-二氯苯酚、2,6-二氯苯酚、

收稿日期:2016-04-26;修订日期:2016-05-25

基金项目:江苏省环境监测科研基金项目资助(1415)

作者简介:王荟(1976—),女,高级工程师,硕士,主要从事有机污染物分与研究。

2,4,6-三氯苯酚、2,4,5-三氯苯酚、2,3,4,6-四氯苯酚、4-硝基酚、2-甲基酚、3-甲基酚、4-甲基酚、2,4-二甲基酚, 各组分质量浓度均为 1 000 mg/L, 溶剂为异丙醇, 购自 Supelco 公司; 内标标准储备液: 2,5-二溴甲苯、2,2',5,5'-四溴联苯, 分别为 1 000 mg/L, 溶剂为异丙醇; 五氟苄基溴(分析纯, Thermo Fisher 公司); 三甲基硅烷化衍生试剂(分析纯, 上海创赛科技有限公司); 七氟丁酸酐(分析纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 正己烷、甲醇、乙酸乙酯均为色谱纯, 购自 Tedia 公司。

1.2 衍生方法

**烷基化衍生:** 在 8 mL 酚类标准溶液中加入 100  $\mu$ L 五氟苄基溴溶液和 100  $\mu$ L  $K_2CO_3$  溶液。盖好瓶盖, 轻轻振荡, 水浴 60  $^{\circ}C$  加热 1 h。冷却至室温后, 浓缩至 0.5 mL, 定量加入内标物, 待 GC-MS 分析。

**硅烷化衍生:** 在 1 mL 酚类标准溶液中加入 30  $\mu$ L 三甲基硅烷化衍生试剂, 涡旋混溶后拧上盖子密闭, 室温(15  $^{\circ}C$  以上即可)静置衍生 10 min, 定量加入内标物, 待 GC-MS 分析。

**酰化衍生:** 在 1 mL 酚类标准溶液中加入 30  $\mu$ L 七氟丁酸酐和 70  $\mu$ L 丙酮, 盖紧塞子, 漩涡混合 30 s, 于 40  $^{\circ}C$  衍生 30 min, 正己烷定容至 0.5 mL, 漩涡混合 10 s, 定量加入内标物, 待 GC-MS 分析。

1.3 仪器条件

1.3.1 气相色谱条件

进样口温度 270  $^{\circ}C$ ; 柱温: 100  $^{\circ}C$  保持 1 min, 以 20  $^{\circ}C/min$  升温至 260  $^{\circ}C$ , 并保持 2 min; 载气为高纯氦气; 柱内流量采用恒流控制, 为 1.0 mL/min; 无分流进样, 0.8 min 后开启分流阀, 分流比 20:1, 溶剂延迟时间 4.0 min; 进样体积 1.0  $\mu$ L。

1.3.2 质谱条件

传输线 280  $^{\circ}C$ ; 四极杆温度 150  $^{\circ}C$ ; 离子源(EI) 70 eV, 温度 230  $^{\circ}C$ 。扫描方式为选择离子扫描, 衍生物的特征离子见表 1。

表 1 3 种衍生方法中衍生物的特征离子

化合物	烷基化衍生	硅烷化衍生	酰化衍生
苯酚	274, 275, 181	151, 166, 152	77, 93, 290
3-甲基酚	288, 289, 181	165, 180, 135	107, 304, 169
2-甲基酚	288, 289, 181	165, 180, 135	107, 304, 169
4-甲基酚	288, 289, 181	165, 180, 135	107, 304, 169
2-氯苯酚	308, 310, 181	185, 187, 200	99, 127, 324
2,4-二甲基酚	302, 121, 181	179, 194, 105	121, 105, 318
4-氯苯酚	308, 310, 181	185, 187, 200	99, 127, 324

续表

化合物	烷基化衍生	硅烷化衍生	酰化衍生
2,6-二氯苯酚	342, 133, 181	219, 221, 234	161, 133, 358
2,4-二氯苯酚	342, 133, 181	219, 221, 234	161, 133, 358
2,4,6-三氯苯酚	376, 378, 181	253, 255, 270	195, 392, 394
2,4,5-三氯苯酚	376, 378, 181	253, 255, 270	195, 392, 394
4-硝基苯酚	319, 182, 181	196, 197, 151	169, 122, 335
2,3,4,6-四氯苯酚	412, 203, 181	289, 287, 304	181, 265, 426
五氯酚	446, 444, 181	323, 325, 338	161, 264, 462

2 结果与讨论

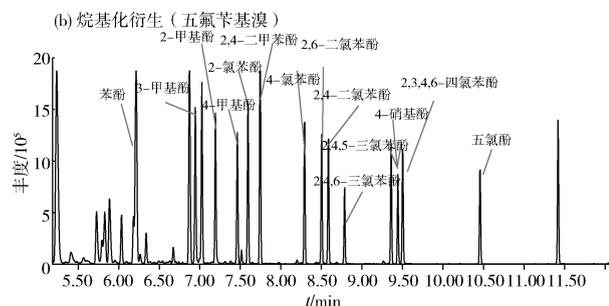
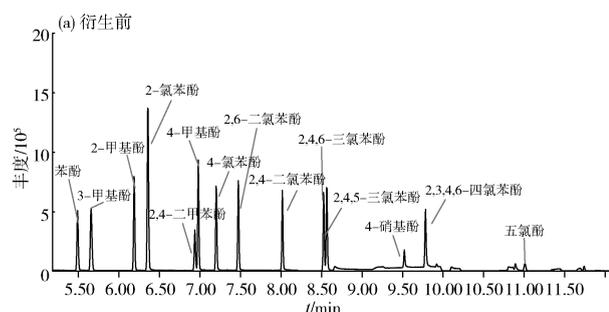
2.1 仪器分析参数

为更客观的考察和比较 3 种衍生方法, 通过多次试验摸索, 最终确定了适用于 3 种衍生方法的仪器分析方法, 具体见 1.3。

2.2 衍生效果

未经衍生的酚类在气相色谱分离中, 稳定性较差, 对样品和仪器的要求高。当样品基质复杂或者存在杂质干扰时, 会严重影响分析的灵敏度。仪器连续多次分析基质复杂的样品后, 即使分析配制的标准溶液, 仍会出现部分酚类化合物色谱峰明显拖尾、峰面积明显减少等现象。酚类化合物衍生前后质谱总离子流图见图 1(a)(b)(c)(d)。

由图 1 可见, 衍生不仅可以解决上述问题, 而且衍生后硝基酚和五氯酚等酚类物质的仪器响应显著增强。经过对温度和时间等衍生条件的优化, 3 种衍生方法的衍生效率均能达到 75% 以上。



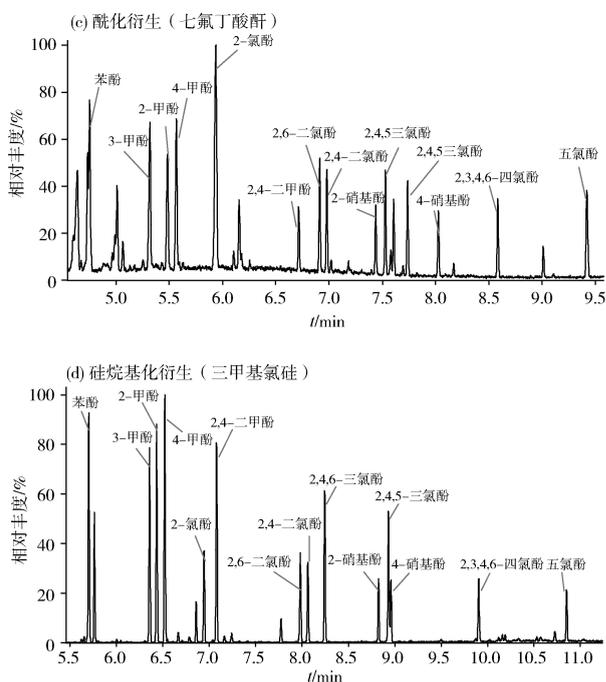


图1 酚类化合物衍生前后质谱总离子流图

### 2.3 方法性能分析与比较

#### 2.3.1 酰化衍生

酰化衍生多采用七氟丁酸酐或者乙酸酐作为衍生试剂。现采用七氟丁酸酐作为衍生试剂,对2,4-二氯酚进行酰化衍生,得到离子碎片见图2。结果显示,色谱峰明显改善,灵敏度大幅提高。但七氟丁酸酐具有挥发性和腐蚀性,其残留对进样瓶的密封垫和色谱系统有较大损伤,大大降低了衍生后样品的保存时间和色谱柱的使用寿命。

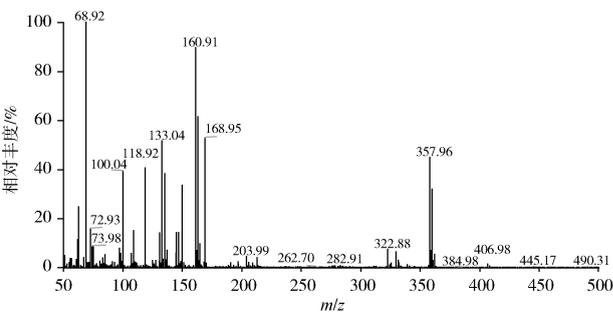


图2 2,4-二氯酚的七氟丁酸酐衍生产物离子碎片图

#### 2.3.2 硅烷化衍生

硅烷化试剂是应用比较广泛的衍生化试剂,常用的三甲基硅烷化试剂有:双(三甲基甲硅烷

基)三氟乙酰胺(BSTFA)和N-甲基三甲基甲硅烷基三氟乙酰胺(MSTFA)。在BSTFA中按比例添加少量三甲基氯硅烷(TMCS)(TMCS:BSTFA=1:99),简称为TMS,衍生效果更好。2,4-二氯酚经TMS衍生后的离子碎片见图3。

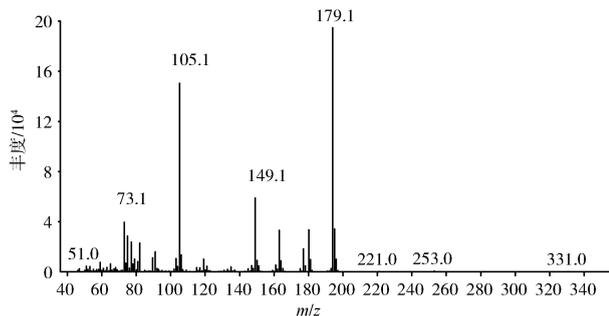


图3 2,4-二氯酚的TMS衍生产物离子碎片图

研究证明,酚类TMS试剂衍生产物具有热稳定好、挥发性强、易于制备、离子碎片丰富、色谱性能好以及灵敏度高、检出限低等优点。衍生体系中若残留水分,则会大大减低衍生效果,因此需要确保衍生体系脱水充分。

#### 2.3.3 烷基化衍生

烷基化衍生试剂主要为重氮甲烷、五氟苄基溴。重氮甲烷因其具有高毒性、爆炸性,近年来使用较少。五氟苄基溴衍生法是EPA604、EPA8041和《水质 酚类化合物的测定气相色谱-质谱法》(HJ 744—2015)推荐方法,是比较成熟的衍生方法,可以购买到其对应酚类衍生物的标样,在NIST谱库中也有相应的标准谱图,可降低酚类物质定性的难度。2,4-二氯酚经五氟苄基溴衍生后的离子碎片见图4。

研究证实,五氟苄基溴衍生物结构稳定,该衍生方法具有改善峰形、提高检测灵敏度、降低检出限等优点,但对2,4-二硝基酚的衍生效果不佳。五氟苄基溴所有衍生产物的质谱碎片离子有别于另2种方法的衍生物。五氟苄基溴所产生的衍生物的基峰均为离子181(m/z),其响应值显著高于其他离子(见图4),该离子基团即为衍生到酚类物质上的五氟苄基,分子式为C<sub>7</sub>H<sub>2</sub>F<sub>5</sub>,具有衍生物独有、响应最高、便于定性的优点。但是,由于几乎所有酚类的五氟苄基溴衍生物都有该离子碎片,当衍生物之间不能有效分离时,又会给准确性带来一定难度。

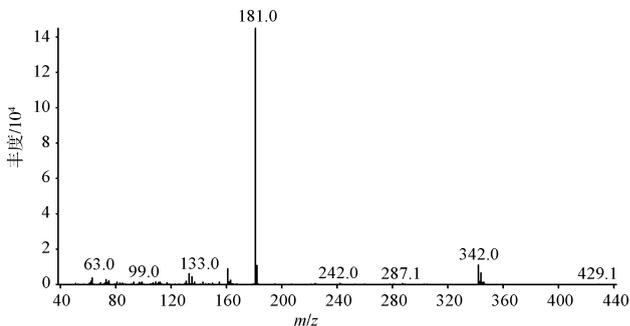


图4 2,4-二氯酚的五氟苄基溴衍生产物离子碎片图

### 3 结语

衍生方法可以大大提高酚类物质的色谱行为,文中所述3种衍生方法均具有改善峰形、提高检测灵敏度、降低检出限等优势。其中,酰化衍生法衍生试剂具有腐蚀性,会对密封垫和色谱系统有较大的损伤,降低进样垫和色谱柱的使用寿命;硅烷基化衍生产物结构稳定,碎片离子最丰富,但在衍生过程中,对衍生体系的水分非常敏感,水分的存在会大大减低衍生效果,需要确保衍生体系脱水充分;五氟苄基溴衍生产物结构稳定,虽然碎片离子没有硅烷基化衍生产物丰富,但相比其他2种方法更成熟和完善。

(上接第21页)

[6] 杨学明,郭亚芬,陈福艳,等. 罗氏沼虾3个群体线粒体CO I基因的序列差异和遗传标记研究[J]. 遗传, 2006, 28(5): 540-544.

[7] 关飞,牛安欧,李友松. 中国不同种拟钉螺CO I基因序列差异分析及其系统学初探[J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(1): 45-47.

[8] 黄晓燕,王丽珍. 5种螺蛳属动物和中国圆田螺CO I基因序列分析[J]. 水生态学杂志, 2008, 1(5): 106-108.

[9] 焦明超. 环棱螺属部分种类DNA条形码研究及其系统发育分析[D]. 南昌:南昌大学, 2012.

[10] 欧阳解秀,苏金荟,欧阳珊,等. 蚌科DNA条形码识别与系统发育分析[J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(6): 779-787.

[11] TRUETT G E, HEEGER P, MYNATT R L, et al. Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT) [J]. Biotechniques, 2000, 29(1): 52-53.

[12] GOLMAN K. Neutralizing buffer; US, US 4650671 A[P]. 1987.

### [参考文献]

[1] 周艳玲. 酚类化合物监测方法研究进展[J]. 环境监测管理与技术, 2011, 23(S1): 70-77.

[2] 李娟,王荟. 水中多种酚类化合物衍生化方法研究[J]. 环境监测与预警, 2014, 6(5): 23-28.

[3] 胡正良,陈梅兰,申屠超,等. 液液萃取-高效液相色谱测定水中酚类化合物[J]. 分析化学, 2008, 36(9): 6-10.

[4] 杨丽莉,王美飞,胡恩宇等. 超声波提取-气相色谱法测定土壤中21种酚类化合物[J]. 色谱, 2013, 22(11): 412-419.

[5] 张丽,李楠,万延延. 固相萃取-高效液相色谱法测定饮用水中酚类化合物[J]. 环境监测管理与技术, 2010, 15(1): 125-128.

[6] 李娟,王荟. 水中多种酚类化合物同步提取方法研究[J]. 中国环境监测, 2013, 6(4): 31-35.

[7] NURIA F, MARINA G, ROSA M M, et al. Solid-phase extraction of polar compounds with a hydrophilic copolymeric sorbent [J]. Journal of Chromatography, 2004, 1030(1-2): 63-68.

[8] CAI Y Q, JIANG G B, LIU J F, et al. Multi-walled carbon nanotubes packed cartridge for the solid-phase extraction of several phthalate esters from water samples and their determination by high performance liquid chromatography [J]. Analytica Chimica Acta, 2003, 494: 149-156.

[9] RIKARD W, LARS T, SAIIOA Z, et al. Development of a solid-phase extraction method for the determination of polychlorinated biphenyls in water. Journal of Chromatography, 2004, 1033(1): 1-8.

[13] LERAY M, YANG J Y, MEYER C P, et al. A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial CO I region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. Front Zool 10; 34 [J]. Frontiers in Zoology, 2013, 10(1): 34.

[14] 魏开建. 中国蚌科的遗传多样性与系统发育的研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2004.

[15] 浙江动物志编辑委员会. 浙江动物志 软体动物[M]. 杭州:浙江科学技术出版社, 1991.

[16] YAN C C, WANG X H. Microchironomus Kieffer from China (Diptera: Chironomidae) [J]. Zootaxa, 2006, 1108: 53-68.

[17] JOHN C M, YANG L F, TIAN L X. Aquatic insects of China useful for monitoring water quality [M]. Nanjing: Hohai University Press, 1994.

[18] EBACH M C, HOLDREGE C. DNA barcoding is no substitute for taxonomy [J]. Nature, 2005, 434(7034): 697.

栏目编辑 周立平