

气相色谱-质谱法测定沉积物中的烷基酚和双酚 A

汪素芳, 曹莹, 董淮晋, 冯学良, 高存富

(中国环境科学研究院环境检测与实验中心, 北京 100012)

摘要: 本文以内分泌干扰物烷基酚和双酚A为研究对象, 建立了同时测定沉积物中8种痕量APs和BPA的检测方法。沉积物样品经冷冻干燥后, 使用丙酮-二氯甲烷 ($v/v=1/2$) 作为萃取溶剂, 在100°C下进行加速溶剂萃取。萃取液浓缩后使用硅胶柱净化, 经气相色谱分离、质谱检测, 根据保留时间、质谱碎片及其丰度定性, 内标法定量。结果显示, 待测物在10~2000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 相关系数大于0.9994, 检出限在0.6~1.9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间。该方法被应用于天津某河流的沉积物样品检测, 4-丁基苯酚、4-叔辛基苯酚、4-壬基酚、双酚A被检出, 实际样品中APs和BPA的加标回收率为84.5%~97.4%。实验表明, 使用该方法检测沉积物中的APs和BPA, 操作简便, 灵敏度高, 准确性和重现性良好, 可满足沉积物样品中痕量APs和BPA的检测需要。

关键词: 气相色谱-质谱法; 烷基酚类化合物; 双酚 A; 沉积物

Determination of Alkylphenols and Bisphenol A in sediment by Gas chromatography-mass spectrometry

WANG Sufang, CAO Ying, DONG Huaijin, FENG Xueliang, GAO Cunfu

(The Environment Analysis and Testing Laboratory, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing, 100012, China)

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of 8 trace APs and BPA in sediments by accelerated solvent extraction, silica gel column purification and gas chromatography-mass spectrometry. After freeze-drying, the samples were extracted with acetone-dichloromethane ($v/v=1/2$) as the extraction solvent under 100°C. The extracts were purified by silica gel column, separated by gas chromatography and detected by mass spectrometry, qualitatively determined according to retention time, mass spectrum and abundance of fragments, and quantified by internal standard methods. The results showed that the target compounds showed a good linear relationship in the range of 10-2000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, and the correlation coefficients were greater than 0.9994, and the limits of detections (LODs) were between 0.6 and 1.9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. The relative standard deviations (RSDs, $n=7$) of the compounds in 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ standard solutions were in the range of 1.9%~5.4%, and the spiked recoveries were in the range of 85.7%~99.5%. And the method was applied to the detection of sediment samples from a river in Tianjin. And 4-butylphenol, 4-tert-octylphenol, 4-nonylphenol and bisphenol A were detected. In addition, the spiked recoveries of APs and BPA in the actual samples were in the range of 84.5%~97.4%. The results show that this method was simple, high in sensitivity and recoveries, good in accuracy and reproducible, and could meet the requirements of

trace APs and BPA detection in sediment samples.

Keywords: Gas chromatography-mass spectrometry, alkylphenols, Bisphenol A, Sediment.

烷基酚类化合物 (Alkylphenols, APs) 是典型的内分泌干扰物, 具有环境雌激素活性。壬基酚、辛基酚等可通过食物链进入人体, 具有致癌和破坏生殖系统等严重毒性, 已被联合国环境规划署列入持久性有毒污染物清单^[1]。而作为环氧树脂等工业原料起始物的双酚A (BPA) 也可与细胞内雌激素受体结合, 干扰生物体内分泌系统, 诱发动植物性别紊乱或生殖系统障碍^[2-3]。

由于工业上的普遍应用, 烷基酚和双酚A等已在环境中广泛分布, 且不同环境介质中污染物含量存在较大差异, 因此检测方法很难统一^[4]。目前常用的前处理方法包括加速溶剂萃取、QuEChERS、液液萃取等^[5-7]。常用的检测方法有液相色谱法、液相色谱串联质谱法、气相色谱质谱法^[8-14]等。但这些方法主要针对水质、饮料、鱼类、谷物、尿液等介质中APs、BPA的测定。此外, D7065^[15]、D7574^[16]、HJ1192-2021^[17]等环境标准仅针对水样中壬基酚、双酚A、对叔辛基苯酚等目标物进行测定, 研究对象相对单一。

1 实验部分 (Experimental section)

1.1 仪器、试剂与材料

气相色谱仪质谱联用仪 (安捷伦公司, 7890B-5977B); 色谱柱 (安捷伦公司, HP-5MS UI); 加速溶剂萃取 (布琦公司, E-916); 旋转蒸发仪 (布琦公司, Rotavapor R-300 EL); 氮吹仪 (上海安谱公司, EFAA-DC24-RT); 冷冻干燥机 (CHRIST 公司, Alpha1-4 LDplus); 电子天平 (普利赛斯公司, LS120Ascs); 硅胶柱 (上海安谱公司)。

酚类标准贮备液; 内标标准贮备液; 石英砂 (25-40 目); 硅藻土; 丙酮、正己烷、二氯甲烷 (均为色谱纯, 赛默飞世尔公司)。

1.2 实验条件

1.2.1 标准溶液配制

酚类标准中间液: 使用微量注射器准确吸取适量的酚类标准贮备液, 用二氯甲烷稀释并定容, 摇匀, 制成 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的酚类标准中间液。

内标标准中间液: 使用微量注射器准确吸取适量的内标标准贮备液, 用二氯甲烷稀释并定容, 摇匀, 制成 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的酚类标准中间液。

混合标准工作溶液系列: 使用微量注射器准确吸取适量的酚类和内标标准中间液, 用二氯甲烷稀释并定容 1 mL , 摇匀, 制成 10 、 50 、 100 、 200 、 500 、 1000 、 $2000 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合酚类标准系列溶液, 内标质量浓度均为 $1000 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2.2 样品处理

将沉积物样品进行冷冻干燥、研磨、过 0.25 mm 孔径的金属筛，均化处理成 250 μm（60 目）左右的颗粒。称取 10.00 g 沉积物样品使用加速溶剂萃取进行前处理，使用丙酮-二氯甲烷（v/v = 1/2）进行目标物提取，设置萃取温度为 100℃，萃取压力为 1000 psi，提取次数为 2 次。

上述提取液浓缩至 2 mL，转移至硅胶柱进行净化。使用甲醇（5 mL）对硅胶柱进行活化；将浓缩后的提取液转移至硅胶柱后，依次使用丙酮（2 mL）和二氯甲烷（8mL）对其进行洗脱；洗脱液浓缩至 1 mL，加入与标准工作溶液相同浓度的内标，待测。

1.2.3 仪器工作条件

色谱条件：进样口温度：250℃；进样口方式：不分流；流速：1.0 mL·min⁻¹；进样量：1 μL；程序升温：35℃，以 40℃·min⁻¹ 升至 170℃（保持 10min），以 10℃·min⁻¹ 升至 310℃。

质谱条件：传输线温度：270℃，离子源 230℃，四级杆 150℃。

表 1 烷基酚和双酚 A 的色谱条件

Table 1 Gas chromatography conditions for alkylphenols and bisphenol A					
序	目标物	CAS 号	保留时间(min)	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)
号	Analyte	CAS Number	Retention time	Quantitative ion	Qualitative ion
1	4-叔丁基苯酚	98-54-4	4.78	135	107, 150
2	2,5-二溴甲苯(内标)	615-59-8	4.98	250	169
3	4-丁基苯酚	1638-22-8	5.23	107	150, 77
4	4-戊基苯酚	14938-35-3	6.06	107	164, 77
5	4-己基苯酚	2446-69-7	7.06	107	178, 108
6	4-叔辛基苯酚	140-66-9	7.75	135	107, 136
7	4-庚基苯酚	1987-50-4	8.13	107	192, 108
8	4-正辛基苯酚	1806-26-4	9.26	107	206, 108
9	4-壬基酚	104-40-5	10.37	107	220, 108
10	双酚 A	80-05-7	13.34	213	228, 214
11	2,2',5,5'-四溴甲苯 (内标)	59080-37-4	14.42	150	470

2 结果与讨论（Results and discussion）

2.1 萃取方法选择

对比了索氏提取、超声振荡萃取及加速溶剂萃取对沉积物样品中 APs 和 BPA 的提取效率。索氏提取的提取时间长，不适合批量样品提取；超声振荡萃取回收率相对较低；而加速溶剂萃取通过高温高压下将目标物溶解并迅速萃取，提取效率高、操作时间短，且有机溶剂用量少。因此本方法选用加速溶剂萃取进行样品提取。

2.2 萃取溶剂选择

由于 APs 和 BPA 均含酚羟基，需要极性较强的溶剂进行提取。本方法以加标 APs 和 BPA 质量分数为 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的石英砂为待测对象，萃取温度 100°C 条件下，按照 1.2.2 对样品进行提取。分别考察丙酮-正己烷 ($v/v=1/1$)、正己烷-二氯甲烷 ($v/v=1/1$)、丙酮-二氯甲烷 ($v/v=1/1$)、丙酮-二氯甲烷 ($v/v=1/2$) 条件下不同提取溶剂对回收率的影响。图 1 显示 APs 在不同溶剂比例下均获得了良好回收率($82.7\%\sim97.4\%$)，且当溶剂中含有二氯甲烷时，BPA 的提取效率明显提高，因此，本文选择丙酮-二氯甲烷 ($v/v=1/2$) 作为萃取溶剂进行后续测试。

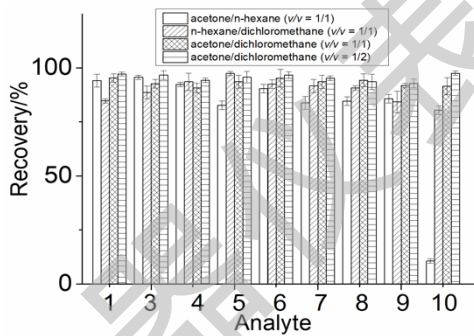


图 1 不同萃取溶剂下的提取效率（化合物序号同表 1）

Fig.1 Recoveries of different extraction solvents

2.3 萃取温度优化

萃取温度直接影响提取效率。本文采用丙酮-二氯甲烷 ($v/v=1/2$) 为萃取溶剂，选取 60°C 、 80°C 、 100°C 、 120°C 四个温度梯度进行对比。结果显示双酚 A 的回收率在这 4 个温度梯度下没有显著变化，而烷基酚的回收率随温度升高而逐渐升高。综合上述数据选择 100°C 作为萃取温度。

2.4 净化步骤优化

对比了 HLB 柱、C18、氟罗里硅土净化柱、硅胶柱的净化效率。配制加标 APs 和 BPA 质量分数为 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的石英砂样品，按照 1.2.2 的前处理条件，分别选择 HLB 柱、C18、氟罗里硅土净化柱、硅胶柱进行净化。结果表明，使用硅胶柱时目标物回收率介于 $89.8\%\sim107\%$ 之间，回收率良好。因此本文选择硅胶柱作为净化柱对目标物进行测定。

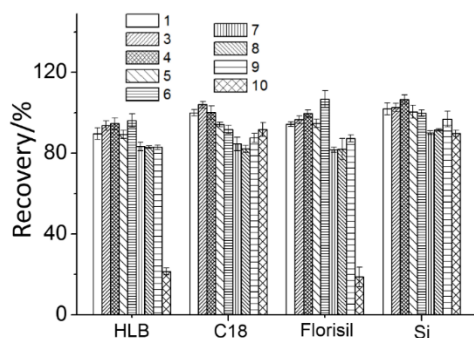


图2 不同固相萃取柱的净化效果（化合物序号同表1）

Fig.2 Recovery comparisons of various SPE cartridges

2.5 色谱柱选择

对比了 HP-5（30 m×250 μm×0.25 μm，Agilent 公司）和 HP-5MS UI（30 m×250 μm×0.25 μm，Agilent 公司）两个色谱柱的分离效果。结果显示二者均可达到基线分离，但使用 HP-5 色谱柱时目标物色谱峰存在明显拖尾，因此选择 HP-5MS UI 作为本方法的色谱柱。

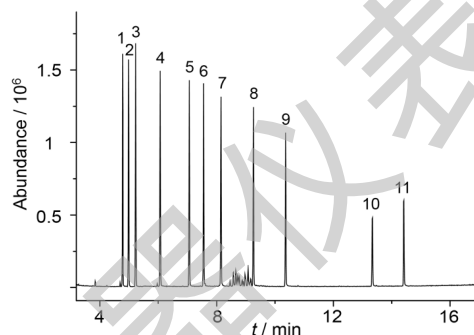


图3 APs 和 BPA 的总离子流图（峰序号对应的化合物同表1）

Fig.3 Total ion current chromatogram of APs and BPA

2.6 线性范围和检出限

按照 1.2.3 的仪器条件，对烷基酚和双酚 A 标准溶液系列进行测定。以目标物浓度为横坐标，以目标物与内标物定量离子响应值的比值和内标化合物质量浓度的乘积为纵坐标，绘制标准曲线。结果表明各目标物在质量浓度为 10~2000 μg·L⁻¹ 范围内，线性关系良好，相关系数均大于 0.9994。石英砂中加入 20 μL 质量浓度为 10 mg·L⁻¹ 的 APs 和 BPA 混合标准溶液，以 3.143 倍标准偏差（s）计算检出限（3.143s）。

2.7 精密度和回收试验

按照 1.2.3 的仪器工作条件，对 200 μg·L⁻¹，500 μg·L⁻¹ 的烷基酚和双酚 A 混合标准溶液分别进行精密度试验，计算各目标物测定值的 RSD，试验平行重复测定 7 次。

向石英砂中分别加入 100 μL、200 μL 质量浓度为 10 mg·L⁻¹ 的 APs 和 BPA 混标溶液，制备石英砂加标样品。对石英砂加标样品（加标量为 1.0 μg、2.0 μg 的 APs 和 BPA），按照 1.2.2 试验方法分别

重复测定 7 次, 计算回收率。各目标物测定值的 RSD 为 0.8%~1.9%, 回收率为 87.9%~97.7%, 该方法的精密度和准确度较好。

2.8 实际样品分析

按照 1.2 的实验条件对天津某河流沉积物样品进行测定, 并进行了加标回收试验, 所有样品均平行测定 3 次, 取平均值进行回收率分析。样品中检出了 4-丁基苯酚、4-叔辛基苯酚、4-壬基酚、双酚 A, 检出量分别为 4.8、10.9、7.4、6.9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。目标物回收率在 84.5%~97.4%之间, 准确性好。

3 结论 (Conclusion)

本文建立了加速溶剂萃取-硅胶柱净化-GCMS 测定沉积物中的烷基酚和双酚 A 的检测方法。分别对提取溶剂、萃取温度、净化色谱柱、气相色谱质谱参数进行优化, 结果显示该方法重现性好、准确度高。采用该方法对天津某河流沉积物样品进行分析, 检出了 4-丁基苯酚、4-叔辛基苯酚、4-壬基酚和双酚 A, 实际样品中 APs 和 BPA 的加标回收率为 84.5%~97.4%。结果表明, 使用该方法检测沉积物中的 BPA 和 APs, 操作简单, 灵敏度高, 准确性和重现性良好, 可满足沉积物样品中痕量 APs 和 BPA 的检测需要。

参考文献:

- [1] TOMASZ G B C, AGNIESZKA Z G. Current approaches in sample preparation for trace analysis of selected endocrine-disrupting compounds: Focus on polychlorinated biphenyls, alkylphenols, and parabens [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2016, 75, 209-226.
- [2] PAN ZW, TANG CY, CAO YJ, et al. Distribution and source apportionment of phenolic EDCs in rivers in the Pearl River Delta, South China [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, 30(16): 48248-48259.
- [3] 洪亚军, 冯承莲, 徐大勇, 等. 壬基酚的环境生物地球化学研究进展及对新污染物管理的建议[J]. *环境科学*, 2023, 44(8): 4717-4727.
HONG YJ, FENG CL, XU DY, et al. Comprehensive review on Environmental Biogeochemistry of Nonylphenol and Suggestions for the Management of Emerging Contaminants [J]. *Environmental Science*, 2023, 44(8): 4717-4727. (in Chinese).
- [4] SALGUEIRO-GONZALEZ N, CASTIGLIONI S, ZUCCATO E, et al. Recent advances in analytical methods for the determination of 4-alkylphenols and bisphenol A in solid environmental matrices: A critical review [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1024: 39-51.

- [5] LEE KM, HAN SM, LEE HJ, et al, Influence of mobile phase composition on the analytical sensitivity of LC-ESI-MS/MS for the concurrent analysis of bisphenols, parabens, chlorophenols, benzophenones, and alkylphenols [J]. *Environmental Research*, 2023, 221, 115305.
- [6] BOZYIGIT GD, AYYILDIZ MF, CHORMEY DS, et al, Removal of selected pesticides, alkylphenols, hormones and bisphenol A from domestic wastewater by electrooxidation process [J]. *Water Science & Technology*, 2022, 85(1): 220-228.
- [7] SALGUEIRO-GONZALEZ N, MUNIATEGUI-LORENZO S, LOPEZ-MAHIA P, et al, Trends in analytical methodologies for the determination of alkylphenols and bisphenol A in water samples [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 962, 1-14.
- [8] 郭文建, 王超, 吕怡兵, 等. 固相萃取-液相色谱/荧光检测法同时测定水中 8 种烷基酚和烷基酚聚氧乙烯醚[J]. *环境化学*, 2018, 37(3): 497-504.
- GUO WJ, WANG C, LYU YB, et al. Simultaneous determination of eight alkylphenols and alkylphenol ethoxylates in water by solid phase extraction and high performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Environmental Chemistry*, 2018, 37(3): 497-504. (in Chinese).
- [9] 朱佩玉, 陈海秀, 高晨. 超声辅助提取-固相萃取净化-高效液相色谱法测定灰渣和污泥中 11 种双酚类及烷基酚类化合物 [J]. *化学分析计量*, 2022, 31(3): 41-47.
- ZHU PY, CHEN HX, GAO C, Determination of 11 bisphenols and alkylphenols in ash and sludge by high performance liquid chromatography with ultrasonic assisted extraction and solid phase extraction purification [J]. *Chemical Analysis and Meterage*, 2022, 31(3): 41-47. (in Chinese).
- [10] 杨丽萍, 王强, 祝凌燕. 高效液相色谱串联质谱法测定鱼体内双酚 A 及其替代品 [J]. *环境化学*, 2018, 37(8), 1842-1850.
- YANG LP, WANG Q, ZHU LY. Simultaneous determination of Bisphenol A and its alternatives in fish samples by ultra-performance liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Environmental Chemistry*, 2018, 37(8):1842-1850. (in Chinese).
- [11] 罗洲飞, 徐梦薇, 陆静, 等. 高效液相色谱-三重四极杆串联质谱测定环境水样中 20 种环境内分泌干扰物 [J]. *环境化学*, 2020, 39(7): 1923-1933.
- LUO ZF, XU MW, LU J, et al. Determination of 20 endocrine-disrupting compounds in environmental water samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Environmental Chemistry*, 2020, 39(7): 1923-1933. (in Chinese).
- [12] 李杨, 张书芬, 邢家漂, 等. 固相萃取-气相色谱-串联质谱法检测水中 18 种酚类化合物 [J]. *色*

谱, 2020, 38(8): 953-960.

LI Y, ZHANG JF, XING JL, et al. Determination of 18 Phenolic compounds in water by Gas Chromatography-tandem mass spectrometry coupled with solid phase extraction [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2020, 38(8): 953-960. (in Chinese).

- [13] AZZOUZ A, COLON LP, HEJJI L, et al. Determination of alkylphenols, phenylphenols, bisphenol A, parabens, organophosphorus pesticides and triclosan in different cereal-based foodstuffs by gas chromatography-mass spectrometry. [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412, 2621-2631.
- [14] LI X N, FRANKE A A. Improvement of bisphenol A quantitation from urine by LCMS [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(13): 3869-3874.
- [15] D7065-2017 A. Standard Test Method for Determination of Nonylphenol, Bisphenol A, p-tertOctylphenol, Nonylphenol Monoethoxylate and Nonylphenol Diethoxylate in Environmental Waters by Gas Chromatography Mass Spectrometry: [S]. 2017
- [16] D7574-2023 A. Standard Test Method for Determination of Bisphenol A in Environmental Waters by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry: [S]. 2023.
- [17] HJ1192-2021. 水质 9 种烷基酚类化合物和双酚 A 的测定固相萃取/高效液相色谱法: 生态环境部: [S]. 2021:
- Water quality-Determination of 9 alkylphenols and Bisphenol A-Solid phase extraction/high performance liquid chromatography [S]. the Ministry of Ecology and Environment. 2021.