

文章编号:0253-9721(2010)03-0072-06

加速溶剂萃取-高效液相色谱测定羽绒羽毛中的烷基苯酚与聚氧乙烯醚

吴刚^{1,2}, 赵珊红¹, 王华雄¹, 吴俭俭¹, 郭方龙¹, 王力君¹,
谢维斌¹, 宋保国¹, 叶庆富²

(1. 浙江省检验检疫科学技术研究院, 浙江 杭州 310012; 2. 浙江大学 原子核农业科学研究所, 浙江 杭州 310029)

摘要 建立了一种同时测定羽绒羽毛中烷基苯酚类与聚氧乙烯醚类化合物含量的方法。样品以甲醇为提取溶剂,采用加速溶剂萃取,以甲醇-乙腈-水(81:6:13, V:V)为流动相,配备 Sinochrom ODS-BP 色谱柱,荧光检测器测定,激发波长为230 nm,发射波长为296 nm,外标法定量。结果表明,加速溶剂萃取-高效液相色谱测定羽绒羽毛中的烷基苯酚与聚氧乙烯醚的方法具有快速、可靠、重复性好的特点。

关键词 加速溶剂萃取; 高效液相色谱; 羽绒羽毛; 烷基苯酚; 烷基苯酚聚氧乙烯醚

中图分类号:TS 190.2 文献标志码:A

Determination of multi-residues of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates in down and feather by accelerated solvent extracting and high performance liquid chromatography

WU Gang^{1,2}, ZHAO Shanhong¹, WANG Huaxiong¹, WU Jianjian¹, GUO Fanglong¹, WANG Lijun¹,
XIE Weibin¹, SONG Baoguo¹, YE Qingfu²

(1. Zhejiang Academy of Science and Technology for Inspection & Quarantine, Hangzhou, Zhejiang 310012, China;

2. Institute of Nuclear Agricultural Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029, China)

Abstract A rapid method was developed to determine the multi-residues of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates in the down and feather by high performance liquid chromatography. The samples could be extracted with methanol by accelerated solvent extractor (ASE). Then, the collected solution was analyzed by HPLC with fluorescence detector (FLD) and quantified by external standard method. The Sinochrom ODS-BP column was selected, and the mixture of methanol-acetonitrile-water (81:6:13, V:V) was used as the HPLC mobile phase. The excitation wavelength and the emission wavelength were set at 230 nm and 296 nm, respectively. The result shows that the alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates in the down and feather were separated efficiently from impurity in high sensitivity and reproducibility by HPLC-FLD.

Key words accelerated solvent extractor (ASE); high performance liquid chromatography; down and feather; alkylphenols; alkylphenol polyethoxylates

我国是羽绒资源极其丰富的国家,主要有鹅、鸭毛绒等,产地主要为长江流域、珠江流域等水网密布、气候温暖的地方。随着羽绒羽毛及其制品进入

国内外市场规模的不断扩大,我国已成为当今世界上最大的羽绒羽毛及其制品的生产、出口和消费国^[1-3]。羽绒制品以其轻、软、暖的优良特性得到广

收稿日期:2009-06-16 修回日期:2009-09-22

基金项目:浙江省重点科技攻关资助项目(2005C23068)

作者简介:吴刚(1976—),男,工程师,博士生。主要从事生态纺织品检测与环境毒理学研究。E-mail: wug_hz@163.com。

大消费者的青睐。为了保证羽绒羽毛及其制品和服装的质量,羽绒羽毛必须经过洗涤,去除样品中的杂质和脏秽物质。非离子表面活性剂烷基苯酚聚氧乙烯醚(alkylphenol ethoxylates, APEO)具有良好的润湿、渗透、乳化、分散、增溶和洗涤作用,广泛应用于多种行业,在洗涤剂行业应用最为广泛。其中:壬基苯酚聚氧乙烯醚(NPEO)为最多,占80%以上;其次是辛基苯酚聚氧乙烯醚(OPEO),占15%以上;十二烷基聚氧乙烯醚(DPEO)和二壬基苯酚聚氧乙烯醚(DNPEO)各占1%左右。烷基苯酚类化合物(alkylphenols, AP)是APEO在环境中经生物降解的主要中间代谢物,AP主要为辛基苯酚(OP)、壬基苯酚(NP)等。虽然APEO的最终降解产物为CO₂和水,但因苯环的存在,这一过程非常缓慢,因此,造成AP在环境中的大量富集^[4-6]。研究表明,AP与一些水生生物和哺乳类动物的种群退化及灭绝、生育力下降与丧失、雄性雌性化等生物效应有关。APEO本身的毒性虽不强,其影响也未完全确定,但它是城市污水的主要污染物之一,其降解产物NPE1、NPE2,特别是NP的毒性和雌激素活性已经明确,他们不易降解而且有显著的亲脂性,因此可在污泥和生物体内积累,并可能通过食物链以慢性作用危及所有物种的生存^[7-9]。

2004年欧盟通过限制壬基苯酚及其聚氧乙烯醚出售的法令,规定除已采用特殊预处理循环利用或通过焚化除去有机物质的操作以外,不允许出售或应用含壬基苯酚及其聚氧乙烯醚等于或高于0.1%的产品,包括在洗涤剂、纺织和皮革等助剂中作为组分应用的壬基苯酚及其聚氧乙烯醚^[10]。我国亦早在1997年公布的GB/T 13171—1997《洗衣粉》中就提出禁用NPEO,自2004年9月1日起实施的GB/T 13171—2004《洗衣粉》进一步明确了各类型洗衣粉应使用生物降解度不低于90%的表面活性剂,不得使用四聚丙烯烷基苯磺酸盐和烷基苯酚聚氧乙烯醚^[11]。因此,开展羽绒羽毛中烷基苯酚类与聚氧乙烯醚类化合物的检测具有十分重要的现实意义。

本文采用的加速溶剂萃取法^[12]基本实现了羽绒羽毛中烷基酯类及烷基苯酚聚氧乙烯醚类化合物前处理的自动化,利用配备荧光检测器的液相色谱(HPLC-FLD)能够同时测定羽绒羽毛中的辛基苯酚(OP)、辛基苯酚聚氧乙烯醚(OPEO)、壬基苯酚(NP)以及壬基苯酚聚氧乙烯醚(NPEO)的多组

分残留。该方法具有简便、快速、可靠等优点,目前国内外尚未见相关报道^[13-20]。

1 实验部分

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂

甲醇、乙腈(均为HPLC级)、无水硫酸钠(分析纯,650℃灼烧3h,冷却待用);辛基苯酚(OP)标准品(纯度>97%,购自Fluka公司)、辛基苯酚聚氧乙烯醚(OPEO)标准品(纯度>97%,购自ALDICH公司)、壬基苯酚(NP)标准品(纯度>97%,购自Fluka公司)、壬基苯酚聚氧乙烯醚(NPEO)标准品(纯度>97%,购自Fluka公司)、Extrelut 20型硅藻土(德国Merck公司)。

1.1.2 仪器设备

Agilent 1200 Series液相色谱仪,带FLD检测器和自动进样器,美国Agilent公司;Sinochrom ODS-BP色谱柱,5 μm,4.6 cm × 25 cm,大连依利特公司;ASE350加速溶剂萃取仪,带22 mL萃取池,美国Dionex公司;R210型旋转蒸发仪,瑞士BUCHI公司;氮吹仪、平底烧瓶、0.45 μm过滤膜、容量瓶等玻璃仪器。

1.2 方法

1.2.1 试样制备

取一定量的羽绒羽毛样品混匀,四分法取样,所取试样均等分为2份,1份供测定,另1份常温保存备用。

1.2.2 提取

准确称取0.50 g试样于加速溶剂萃取池中,加入适量硅藻土填充,以甲醇作为提取溶剂^[16],置于加速溶剂萃取仪的样品管卡口处,按照设定的提取程序运行:温度为100℃,压强为10.3 MPa,加热时间为5 min,静态萃取5 min,30%溶剂快速冲洗样品,60 s氮气吹,40℃水浴中减压浓缩近干,然后用氮气吹干。准确加入10 mL甲醇溶解残留物,用0.45 μm过滤膜过滤,待HPLC进样分析。

1.2.3 分析方法

色谱柱: Sinochrom ODS-BP, 5 μm, 4.6 cm × 25 cm;流动相为V(甲醇):V(乙腈):V(水) = 81:6:13;柱温为40℃;流速为1.0 mL/min;激发波长为230 nm,发射波长为296 nm。

2 结果与讨论

2.1 检测限与色谱分离

按 1.2.3 的色谱条件,OP、OPEO、NP、NPEO 均能较好地分离,其标准液相色谱图见图 1,方法学检测参数见表 1。以 3 倍信噪比确定最低检出浓

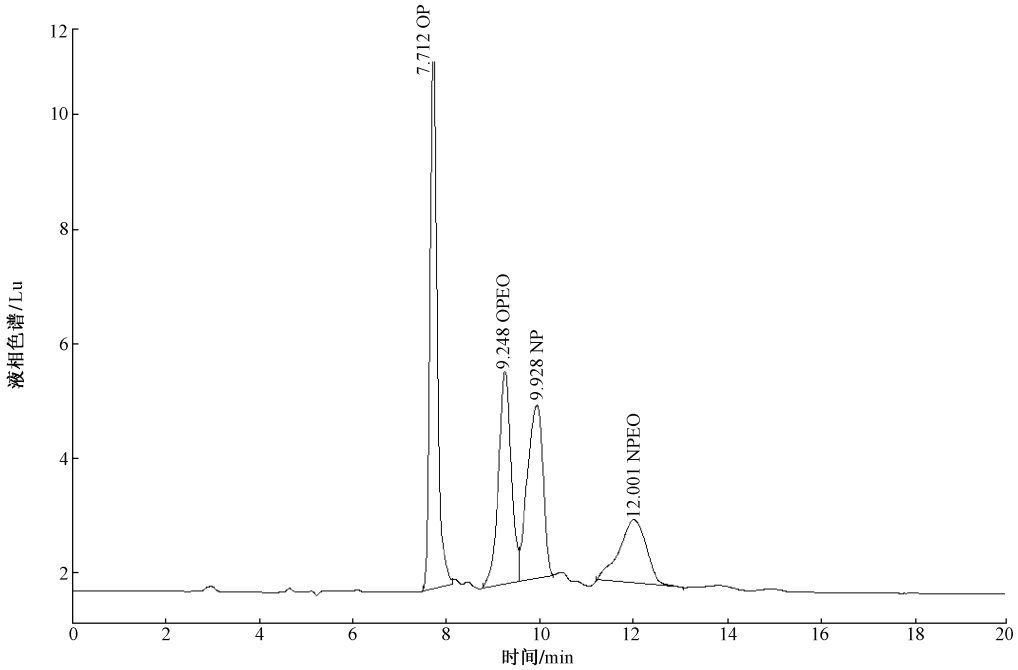


图 1 烷基苯酚类及烷基苯酚聚氧乙烯醚标准液相色谱图

Fig. 1 Standard HPLC chromatogram (FLD) of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates

2.2 检测线性关系

试验采用外标定量检测方法,将 OP、OPEO、NP、NPEO 混合标准溶液的母液稀释成不同浓度的标准溶液(1、3、5、7、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$),在 1.2.3 的色谱条件下,OP、OPEO、NP 及 NPEO 的进样浓度与 HPLC-FLD 的响应呈线性相关,结果见表 1。

2.3 添加回收率与精密度

分别在鸭绒的空白试样中加入 OP、OPEO、NP、NPEO 的混合标准溶液,设置 10、30 和 50 mg/kg 浓度梯度,每个浓度设定 6 个重复,按上述前处理和分析方法,测定试样中的添加回收率,结果见表 2。可

度(LOD),其中 OP 的为 0.05 mg/kg ,OPEO 的为 0.068 mg/kg ,NP 的为 0.082 mg/kg ,NPEO 的为 0.19 mg/kg ;以 10 倍信噪比确定最低定量浓度(LOQ),其中 OP 的为 0.16 mg/kg ,OPEO 的为 0.22 mg/kg ,NP 的为 0.27 mg/kg ,NPEO 的为 0.63 mg/kg ,均满足羽绒羽毛中烷基苯酚类及烷基苯酚聚氧乙烯醚类化合物的残留分析要求^[10]。

见,OP 的添加回收率为 $(93.67 \pm 2.12)\% \sim (105.44 \pm 5.98)\%$,OPEO 的添加回收率为 $(89.46 \pm 4.29)\% \sim (100.70 \pm 9.29)\%$,NP 的添加回收率为 $(84.63 \pm 2.77)\% \sim (104.39 \pm 8.45)\%$,NPEO 的添加回收率为 $(85.09 \pm 6.52)\% \sim (93.61 \pm 8.08)\%$,6 次平行测定结果的相对标准偏差最小为 2.26%,最大仅为 11.69%,不同添加水平的相对标准偏差有一定的差异,低浓度的相对标准偏差较高,但随着添加浓度水平的提高,相对标准偏差有下降的趋势。总体而言,该方法同一试样的重现性较好。

表 1 烷基苯酚类及烷基苯酚聚氧乙烯醚类分析方法学检测参数

Tab. 1 Methodology parameters for analysis of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates

化合物名称	保留时间/min	最低检出浓度 LOD/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	最低定量浓度 LOQ/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	线性回归方程	相关系数 r
辛基苯酚(OP)	7.712	0.050	0.160	$y = 43.46x + 37.14$	0.999 05
辛基苯酚聚氧乙烯醚(OPEO)	9.248	0.220	0.068	$y = 33.85x + 3.99$	0.999 98
壬基苯酚(NP)	9.928	0.082	0.270	$y = 35.81x + 4.46$	0.999 98
壬基苯酚聚氧乙烯醚(NPEO)	12.001	0.190	0.630	$y = 18.63x + 4.23$	0.999 99

表2 方法添加回收率试验结果($n=6$)Tab.2 Recovery ratio for alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates spiked into down and feather samples ($n=6$)

化合物名称	添加 10 mg/kg		添加 30 mg/kg		添加 50 mg/kg	
	回收率($\bar{x} \pm s$)/%	RSD/%	回收率($\bar{x} \pm s$)/%	RSD/%	回收率($\bar{x} \pm s$)/%	RSD/%
辛基苯酚(OP)	101.87 ± 4.78	4.69	105.44 ± 5.98	5.67	93.67 ± 2.12	2.26
辛基苯酚聚氧乙烯醚(OPEO)	95.13 ± 9.24	9.71	100.70 ± 9.29	9.22	89.46 ± 4.29	4.79
壬基苯酚(NP)	98.17 ± 7.37	7.51	104.39 ± 8.45	8.09	84.63 ± 2.77	3.27
壬基苯酚聚氧乙烯醚(NPEO)	91.22 ± 10.66	11.69	93.61 ± 8.08	8.63	85.09 ± 6.52	7.66

2.4 讨论

2.4.1 适用性

样品中的 OPEO、NPEO 是由不同聚合度、不同烷基结构组成的混合组分,各组分的疏水性差异表现在聚合度和烷基链分支的不同,主要由烷基疏水基结构差异决定。反相液相色谱法是根据物质的疏水性差异实现混合组分的分离与测定,尽管不同聚合度的 OPEO、NPEO 因 EO 链的长短不同而具有不同的极性,但在反相液相色谱条件下,由于他们具有相同的烷基疏水基而保留行为相同,因此彼此间以同一个保留时间出峰^[20],但是由于 EO 链聚合度的差异,OPEO 或 OPEO 的液相色谱峰较宽,这并不影响液相色谱对样品的定量测定。图 1 也很好地证明了这一点。另外,欧盟法令对样品中的烷基苯酚聚氧乙烯醚的限量是以其总量计算的,并非考虑各个单体的含量。基于这 2 点,本文将不同聚合度的 OPEO、NPEO 看作整体,在反相液相色谱条件下建立了对其整体定量的检测方法。

2.4.2 流动相的选择与配比

流动相的组成直接影响组分的分离度。选择流动相组成要考虑的因素有^[20]:保持色谱柱的稳定性;与检测器兼容性好;对样品有一定的溶解能力,清洗、更换方便,毒性小,沸点、黏度等物理性质合适。一般反相高效液相色谱法流动相多选用甲醇/水或乙腈/水体系。不同的溶剂比对组分的洗脱能力不同,从而影响组分的分离效果。这种方法参照了 SN 标准^[16-17],经过分析对比,采用甲醇/乙腈/水体系作为流动相,其比例为 $V(\text{甲醇}):V(\text{乙腈}):V(\text{水})=81:6:13$ 。

2.4.3 激发波长和发射波长的选择

由于 OP、OPEO、NP 和 NPEO 的紫外线吸收值较低,采用荧光检测器可以大大提高检测的灵敏度。分别对 OP、OPEO、NP 和 NPEO 的标准溶液在线扫描其激发光谱和发射光谱。试验结果表明,选择激发波长为 230 nm,发射波长为 296 nm 时,基线稳定

性好,灵敏度最高,背景干扰较小。

2.4.4 实际样品检测

测定了 200 多份国际羽绒羽毛实验室 & 研究所(IDFL)送检的羽绒羽毛样品,其中阳性样品的检出率较高,为 80% 以上。表 3 示出随机选取的 11 份样品的检测结果。由表可见,主要检出项目为 NPEO,其次为 NP。这是因为非离子表面活性剂烷基苯酚聚氧乙烯醚中壬基苯酚聚氧乙烯醚(NPEO)为主要成分,占 80% 以上;其次是辛基苯酚聚氧乙烯醚(OPEO),占 15% 以上,检测结果与此相符合。

表3 样品测定结果

Tab.3 Determination results of down and feather samples

样品 编号	mg/kg			
	辛基苯酚 (OP)	辛基苯酚聚氧 乙烯醚(OPEO)	壬基苯酚 (NP)	壬基苯酚聚氧 乙烯醚(NPEO)
样品 1	N. D	N. D	N. D	404.3
样品 2	N. D	N. D	13.1	666.9
样品 3	N. D	N. D	ND	1 217.5
样品 4	N. D	N. D	N. D	2 094.4
样品 5	N. D	N. D	N. D	4 790.9
样品 6	N. D	N. D	N. D	3 040.8
样品 7	N. D	N. D	N. D	410.9
样品 8	N. D	N. D	N. D	1 734.4
样品 9	N. D	N. D	46.9	3 356.3
样品 10	N. D	N. D	N. D	1 615.4
样品 11	N. D	N. D	N. D	1 697.0

注:N. D 表示未检出。

3 结论

本文采用全自动加速溶剂萃取仪提取羽绒羽毛样品中烷基苯酚类及其聚氧乙烯醚类化合物,在国内外尚属首次。该方法简化了试验步骤,基本实现了样品前处理的自动化,相对传统的索氏提取方法而言,不但大大提高了工作效率,简化了操作流程,而且具有测定结果准确可靠,重复性好,灵敏度高等优点,适合高通量样品的快速检测。同时此方法还极大地减少了有机溶剂的使用量,减轻了试验废弃

物对环境的污染。

FZXB

参考文献:

- [1] 王华雄,宋保国,万旺军,等. 羽绒羽毛微生物问题浅析[J]. 检验检疫科学,2006,16(2):58-60.
WANG Huaxiong, SONG Baoguo, WAN Wangjun, et al. Study on the microbiological problems of the down and feather [J]. Inspection and Quarantine Science, 2006,16(2):58-60.
- [2] 曹爱玲,童兰英,夏积龙,等. 中国羽绒之都出口羽绒及其制品的现状分析[J]. 检验检疫科学,2007,17(6):71-73.
CAO Ailing, TONG Lanying, XIA Jilong, et al. Analysis of the status of the down and feather and the products for export in the China feather & down capital[J]. Inspection and Quarantine Science, 2007,17(6):71-73.
- [3] 柳汉梅. 对羽绒羽毛及羽绒服装标准的分析[J]. 中国纤检,2005(2):28-29.
LIU Hanmei. Analysis of the garment standard for the the down and feather [J]. China Fiber Inspection, 2005(2):28-29.
- [4] 刘征涛,张颖,徐镜波,等. 烷基苯酚类的生殖干扰毒性与结构相关研究[J]. 环境科学研究,2002,15(6):39-48.
LIU Zhengtao, ZHANG Ying, XU Jingbo, et al. Study on relationship between quantitative structure and reproductive disturbance of alkyl phenolic compounds [J]. Research of Environmental Sciences, 2002,15(6):39-48.
- [5] 陈小泉,古国榜. 烷基苯酚聚氧乙烯醚的环境行为和评价[J]. 日用化学工业,2001(6):30-33.
CHEN Xiaoquan, GU Guobang. Environmental behavior and risk potential of alkylphenol ethoxylates[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2001(6):30-33.
- [6] 吴伟,瞿建宏,陈家长,等. 壬基酚聚氧乙烯醚及其降解产物对水生生物的毒理效应[J]. 湛江海洋大学学报,2003,23(4):39-44.
WU Wei, QU Jianhong, CHEN Jiachang, et al. Toxic effects of nonylphenol ethoxylates and its degradation product on aquatic organisms [J]. Journal of Zhanjiang Ocean University, 2003,23(4):39-44.
- [7] 李临生,兰云军,罗卫平,等. 建议皮革工业禁用烷基苯酚聚氧乙烯醚[J]. 皮革科学与工程,2007,17(1):31-36.
LI Linsheng, LAN Yunjun, LUO Weiping, et al. Propose restrict the use of nonylphenol ethoxylate in leather industry [J]. Leather Science and Engineering, 2007,17(1):31-36.
- [8] 袁理,曾光明,张长,等. 痕量壬基酚及相关化合物的样品预处理和测定[J]. 环境污染与防治,2004,26(6):475-478.
YUAN Li, ZENG Guangming, ZHANG Chang, et al. The pretreatment and determination of the trace nonylphenol and related compounds [J]. Environmental Pollution & Control, 2004,26(6):475-478.
- [9] 周文苑,王军. 烷基苯酚聚氧乙烯醚的毒性和法规现状[J]. 日用化学品科学,1998(8):20-23.
ZHOU Wenyuan, WANG Jun. The toxicity and legal restrictions of alkylphenol ethoxylate [J]. Detergent & Cosmetics, 1998(8):20-23.
- [10] Directive 2003/53/EC of the European Parliament and of the Council of 18 June 2003 Amending for the 26th time Council Directive 76/769/EEC. Relating to restrictions on the marketing and use of certain dangerous substances and Preparations (nonylphenol, nonylphenol ethoxylate and cement) [S].
- [11] GB/T 13171—2004. 洗衣粉[S].
GB/T 13171—2004. Detergent[S].
- [12] EPA SW-846. Method 3545: test methods for evaluating solid waste[S].
- [13] 郭霖,童天中,陈孔常,等. 反相离子对高效液相色谱法分离和测定烷基苯酚聚氧乙烯醚羧酸[J]. 分析化学,2000,28(4):407-410.
GUO Lin, TONG Tianzhong, CHEN Kongchang, et al. Separation and determination of alkylphenol ethoxy carboxylate acids by reversed-phase ion pair high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2000,28(4):407-410.
- [14] 邵兵,胡建英,杨敏. 高效液相色谱法测定水环境中壬基酚聚氧乙烯醚及其生物降解产物[J]. 环境化学,2001,20(6):600-605.
SHAO Bing, HU Jianying, YANG Min. Determination of nonylphenol ethoxylates and their metabolites in aquatic environmental by high performance liquid chromatography [J]. Environmental Chemistry, 2001,20(6):600-605.
- [15] 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):150-153.
JIN Fen, HU Jianying, SHAO Bing, et al. Determination of nonylphenol ethoxylate and nonylphenol in wild Carassius auratus from Tianjin [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2004,24(1):150-153.
- [16] SN/T 1850.1—2006. 纺织品中烷基苯酚类及烷基苯酚聚氧乙烯醚类的测定 第 1 部分: 高效液相色谱法[S].
SN/T 1850.1—2006. Determination of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates in textiles, part 1: high

- performance liquid chromatography method[S].
- [17] SN/T 1850.2—2006. 纺织品中烷基苯酚类及烷基苯酚聚氧乙烯醚类的测定 第2部分:高效液相色谱-质谱法[S].
SN/T 1850.2—2006. Determination of alkyphenols and alkyphenol polyethoxylates in textiles, part 2: high performance liquid chromatography-mass chromatography method[S].
- [18] NIELS Jonkersa, REMI W P M Laaneb, CHRIS de Graafa, et al. Fate modeling of nonylphenol ethoxylates and their metabolites in the Dutch Scheldt and Rhine estuaries; validation with new field data [J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2005(62): 141 – 160.
- [19] VICENTE Andreu, EMILIA Ferrer, JOSÉ Luís Rubio, et al. Quantitative determination of octylphenol, nonylphenol, alkylphenol ethoxylates and alcohol ethoxylates by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-mass spectrometry in soils treated with sewage sludge [J]. *Science of the Total Environment*, 2007 (378): 124 – 129.
- [20] 陈曦,郝瑞霞,姚宁,等. 反相高效液相色谱法测定污水中壬基酚聚氧乙烯醚总量[J]. *环境工程学报*, 2008,2(4):455 – 460.
CHEN Xi, HAO Ruixia, YAO Ning, et al. Determination of nonylphenol polyethoxylates in sewage by reversed phase high performance liquid chromatography [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2008,2(4):455 – 460.