

朱 方,徐 超,孙国茂,等. 中空纤维支载离子液体液相微萃取法检测环境水样中 DEHP 及其降解产物[J]. 江苏农业科学,2017,45(18):255-258.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.18.066

中空纤维支载离子液体液相微萃取法检测 环境水样中 DEHP 及其降解产物

朱 方,徐 超,孙国茂,杜道林

(江苏大学环境与安全工程学院,江苏镇江 212013)

摘要:邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯(diethylhexyl phthalate,简称 DEHP)是目前使用量最多的一种邻苯二甲酸酯类塑化剂,它进入环境后,先打开一条侧链,降解为邻苯二甲酸单(2-乙基己)酯[mono(2-ethylhexyl) phthalate,简称 MEHP]。DEHP、MEHP 具有潜在的健康风险,因此开发一种分析方法检测水环境中这类化合物是极其必要的。采用中空纤维支载 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸离子液体为液膜,构建供体相-液膜-接受相三相液液微萃取富集,采用高效液相色谱法/紫外检测法(high performance liquid chromatography/ultra-violet,简称 HPLC/UV)检测环境水体中痕量 DEHP、MEHP 的方法。通过对各参数(萃取剂、供体相离子强度、供体相体积、供体相和接受相 pH 值、萃取时间)的优化,在最佳条件(供体相为 40 mL, pH 值为 3,不加盐,接受相 pH 值为 13,振荡萃取 1.5 h)下,该方法的线性范围在 0.200~200 $\mu\text{g/L}$,相对标准差分别为 8.9%、5.3%($n=3$),检出限分别为 0.028、0.047 $\mu\text{g/L}$,富集倍数分别为 357、213,2 种环境水样的加标回收率在 $(84.2 \pm 4.3)\% \sim (101.0 \pm 9.8)\%$ 。结果表明,本方法简便、快速、环境友好,可用于环境水体中痕量 DEHP 及其降解产物 MEHP 的测定。

关键词:邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯;邻苯二甲酸单(2-乙基己)酯;离子液体;三相中空纤维支撑液膜微萃取

中图分类号: X131.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)18-0255-03

邻苯二甲酸酯(phthalate esters,简称 PAEs)是一类工业上广泛使用的高分子材料助剂,在塑料加工中添加这种物质,可以使其柔韧性增强,容易加工。但由于此类化合物仅通过氢键或范德华力与塑料基质联接,没有聚合到塑料的高分子碳链上,随着时间的推移,很容易从塑料制品中迁移到环境中。邻苯二甲酸酯已经成为全球传播最广的污染物之一,在大气、水体、土壤等环境介质中均可检测到 PAEs 的存在^[1-2],被称为“第二个全球性多氯联苯污染(polychlorinated biphenyls pollution,简称 PCB)物”。

PAEs 进入水体后,经生物降解、光解、水解等反应后,先打开一条侧链,降解为邻苯二甲酸单酯(monoalkyl phthalate esters,简称 MPEs)。研究发现,邻苯二甲酸酯及其降解产物有类雌激素的作用,干扰内分泌系统,对人和动物均有致癌、致畸、致突变作用,可造成生殖功能异常,具有潜在的健康风险^[3]。尤其是邻苯二甲酸单酯更易通过细胞膜的磷脂双分子层表现出比邻苯二甲酸酯更强的毒性。

由于实际样品中基质复杂、PAEs 浓度较低,检测分析过程中最关键的步骤是对目标物的分离和富集。现有的检测邻苯二甲酸酯类物质前处理方法包括:液液萃取(liquid liquid extraction,简称 LLE)、固相萃取(solid phase extraction,简称

SPE),需要使用大量有毒的有机溶剂,损害分析人员的健康,且易造成对环境的二次污染;固相微萃取(solid phase microextraction,简称 SPME),由于萃取纤维使用寿命有限、易折断且在分析过程中可能会有残留,在实际应用过程中受到许多限制;液相微萃取(liquid phase microextraction,简称 LPME)技术,使用溶剂量小、易于与分析仪器联用,是一种环境友好的样品前处理技术;中空纤维支载液膜液相微萃取技术(hollow fiber-liquid phase microextraction,简称 HF-LPME),将萃取剂附着在中空纤维上形成液膜,采样、萃取、富集于一体,纤维一次性使用,无交叉污染问题,有效改善了萃取的稳定性和可靠性^[4]。

本研究选择检测对象为目前使用量最大的一种塑化剂邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯(diethylhexyl phthalate,简称 DEHP)及其代谢产物邻苯二甲酸单(2-乙基己)酯[mono(2-ethylhexyl) phthalate,简称 MEHP]。将支载了离子液体的中空纤维置于样品中,形成样品-有机溶剂-水三相体系,通过优化影响萃取效果的主要参数,结合 HPLC/UV 测定环境水样中痕量 DEHP、MEHP 浓度,对了解其环境行为和归趋,准确、有效地评估其对环境健康的影响具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

液相色谱仪为美国 Waters 公司 Breeze2 液相色谱系统(1525 二元泵、2707 自动进样器、2489 紫外/可见光检测器),色谱柱为 Eclipse XDB-C18 液相色谱分离柱(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm)。

邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯(DEHP)、邻苯二甲酸单

收稿日期:2016-04-11

基金项目:国家自然科学基金(编号:31570414);江苏大学第 14 批大学生科研立项资助项目(编号:14A250)。

作者简介:朱 方(1983—),男,江苏镇江人,博士研究生,讲师,主要从事环境痕量污染物的检测及安全风险评估工作。E-mail:bjmit@163.com。

(2-乙基己)酯(MEHP)标准品均购自 Sigma-Aldrich(德国);离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸($[C_4MIM][PF_6]$)、1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸($[C_8MIM][PF_6]$),纯度均为 99.0%,均购自 Meisibei 公司(上海,中国);色谱纯甲醇购自 J. T. Baker(美国),其他试剂均购自国药集团化学试剂有限公司,如无特殊说明皆为分析纯。试验用水均为超纯水。

50/280 聚丙烯中空纤维(规格:壁厚为 50 μm ,内径为 280 μm ,孔径为 0.1 μm ,孔率为 60%)购自于 Membrane GmbH 公司(Wuppertal,德国)、微量注射器(针头外径为 0.3 mm,长为 12 mm,针筒体积为 1 mL)购自 BD Consumer Healthcare 公司(美国)、液相进样瓶玻璃内插管(150 μL ,中国)。

试验中为避免背景值干扰,尽量使用玻璃器具,所有玻璃器皿在铬酸洗液浸泡后,用超纯水清洗,再用甲醇清洗后置于烘箱烘干待用。

1.2 色谱条件

流动相由甲醇和超纯水(用乙酸调节到 pH 值为 3.0)组成,流速为 1.0 mL/min,检测波长为 280 nm,柱温为 30 $^{\circ}C$,进样量为 20 μL 。梯度洗脱程序:0~15 min,70% 甲醇线性增加到 100%;保持 3 min;18~20 min,线性降低到 70%。

1.3 标准曲线的绘制

用精度为 0.000 1 g 天平称取 DEHP、MEHP 标准品各 50 mg,甲醇溶解,定容至 50 mL,配制成 1 g/L 标准储备液,4 $^{\circ}C$ 下避光保存。取上述标准储备液各 1 mL,用甲醇定容至 100 mL,配制成 10 mg/L 混合标准溶液,再用甲醇分别稀释成浓度为 0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00 mg/L 的系列混合标准溶液。按上述色谱条件进行测定,每个浓度重复测定 3 次。以质量浓度 x 对峰面积 y 绘制标准曲线。

1.4 中空纤维支载液膜液相微萃取试验方法

试验用中空纤维支载液膜液相微萃取技术对样品前处理,其原理为:将室温离子液体通过毛细力吸附到中空纤维膜壁的微孔内形成液膜,中空纤维的内腔注入接受相,制成萃取装置。将该萃取装置置于样品中,即形成样品-有机溶剂-接受相三相体系。通过供体相、接受相的 pH 值,使样品中的目标分析物以分子形态被萃取进入液膜有机溶剂,再以离子形态反萃取到接受相,达到富集的目的。

具体步骤:截取 10 cm 长的中空纤维,置丙酮中超声清洗 20 min,晾干备用。纤维段浸入 1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐离子液体中超声 1 min,取出后浸入水中漂洗,去除表面多余离子液体。用微量注射器向纤维段内腔注入 pH 值为碱性的超纯水作为接受相,然后用镊子将纤维两端热封。将中空纤维段浸入 pH 值为酸性的样品溶液,在室温 25 $^{\circ}C$ 下以 200 r/min 的转速振荡萃取 10 min。萃取结束后,将纤维取出,剪开两端封口;一端置于玻璃内插管中,用 50 μL 甲醇将接受相吹出,直接取 20 μL 注入高效液相色谱分析。中空纤维均一次性使用。

所有试验结果均为 3 次或以上平行试验测定结果的平均值。萃取效率以富集倍数(enrichment factor,简称 EF)评价: $EF = C_{after}/C_{before}$,其中 C_{before} 、 C_{after} 分别表示萃取前样品中目标物的浓度与萃取后接受相的浓度(稀释倍数已考虑在内)。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件优化

在样品前处理过程中,须要对有机液膜的种类、供体相离子强度、供体相体积、供体相、接受相 pH 值、萃取时间等萃取条件进行选择,优化富集倍数,实现高效萃取。以 20 $\mu g/L$ 标准溶液作为优化过程中的工作溶液。

2.1.1 有机液膜种类的确定 对液相微萃取来说,萃取剂是影响萃取效果至关重要的因素。邻苯二甲酸酯的化学结构是由 1 个刚性平面芳烃和 2 个可塑的非线性脂肪侧链组成,常温下呈无色油状黏稠液体,该类化合物的液态温度范围相当宽,因而具有非常大的流动性和较小的挥发性、水溶性,易溶于有机溶剂,属中等极性物质。室温离子液体烷基咪唑六氟磷酸盐挥发性小、黏度适宜、与水不混溶,易于附着在中空纤维上形成液膜,对邻苯二甲酸酯类物质有较好的溶解度。

选择 20 $\mu g/L$ 标准溶液 40 mL,在 200 r/min、25 $^{\circ}C$ 条件下振荡萃取 0.5 h,供体相、接受相的 pH 值不作调整、不加盐,比较 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐离子液体($[C_4MIM][PF_6]$)、1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐离子液体($[C_8MIM][PF_6]$)对 DEHP、MEHP 的萃取效果。结果表明, $[C_4MIM][PF_6]$ 对 DEHP、MEHP 的富集倍数分别为 89、61,对 $[C_8MIM][PF_6]$ 的富集倍数分别为 71、42。这可能是由于 $[C_4MIM][PF_6]$ 的黏性低于 $[C_8MIM][PF_6]$,流动性好,易于在纤维表面形成液膜。因此,选用 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐离子液体作为本检测方法的前处理萃取剂。

2.1.2 盐析效应的影响 盐析效应是影响萃取效率的重要因素,其原理是向供体相中加入一定量盐会降低分析物在供体相中的溶解度,有利于分析物向萃取剂中迁移。选用离子液体 $[C_4MIM][PF_6]$ 作为支载相,20 $\mu g/L$ 标准溶液 40 mL 在 200 r/min、25 $^{\circ}C$ 条件下振荡萃取 0.5 h,供体相、受体相的 pH 值不作调整,向供体相加入一定量的 NaCl 溶液,使 NaCl 的体积分数达到 2%、4%、6%、8%、10%。试验结果表明,富集倍数随盐的加入没有提高反而下降。出现这种现象可能的原因是随着盐的加入,提高了离子液体 $[C_4MIM][PF_6]$ 在供体相中的溶解度,降低了富集效果;另外,盐析效应产生的离子静电作用对反萃取过程有一定的抑制作用。因此,在后续试验中供体相均不加入盐^[5]。

2.1.3 供体相体积的确定 试验中样品体积也会对分析物的富集倍数产生明显的影响。采用离子液体 $[C_4MIM][PF_6]$ 在 200 r/min、25 $^{\circ}C$ 条件下振荡萃取 20 $\mu g/L$ 标准溶液 0.5 h,考察样品体积 20、40、60、80、100 mL 对萃取效果的影响。由图 1 可看出,DEHP、MEHP 的富集倍数随样品体积增大而先增高后降低,在体积 40 mL 时,富集倍数达到最大。这可能是因为液膜尽管是疏水性强的有机化合物,但当样品溶液体积较大时,也会影响液膜的稳定性,造成液膜的泄漏。同时,考虑到样品体积越大,萃取平衡的时间也会相应增长。因此,在后续优化中选择供体相体积为 40 mL。

2.1.4 供体相和接受相 pH 值的确定 在三相 HF-LPME 过程中,目标分析物首先从供体相中被萃取到支载液膜离子液体中,然后再被反萃取到中空纤维空腔里的接受相。供体相和接受相的酸碱度是影响萃取过程的主要因素,通过调节

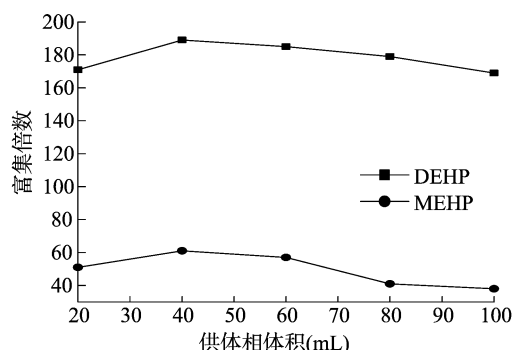


图1 供体相体积对萃取效率的影响

分析物的存在状态,使其以非电离的状态从供体相被萃取到支载相离子液体液膜。MEHP的酸度系数为3.37,具有中等酸性;正辛烷-水分配系数 $\lg P$ 随着pH值的增大,亲水性增强。DEHP的 $\lg P$ 为8.52,几乎不受酸碱度影响。

采用离子液体 $[C_4MIM][PF_6]$ 作萃取剂,在样品体积为40 mL,200 r/min,25 °C条件下振荡萃取20 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液0.5 h,将供体相的pH值从2增加到7,结果如图2所示。由图2可看出,DEHP在pH值2~7范围内萃取效率无明显变化;而MEHP在供体相pH值=3时萃取效率最高,随着pH值进一步变大,萃取效率有所降低。这是由于一定的酸度可以抑制MEHP电离为离子状态,保证萃取的有效进行,但达

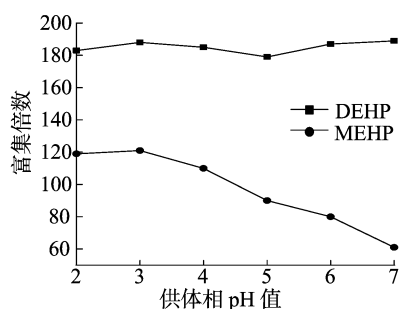


图2 供体相 pH 值对萃取效率的影响

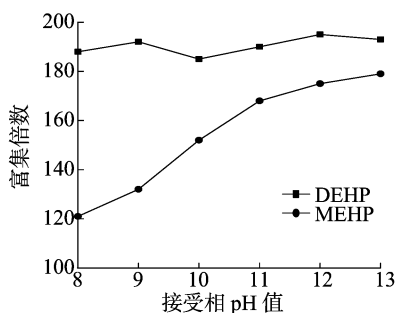


图3 接受相 pH 值对萃取效率的影响

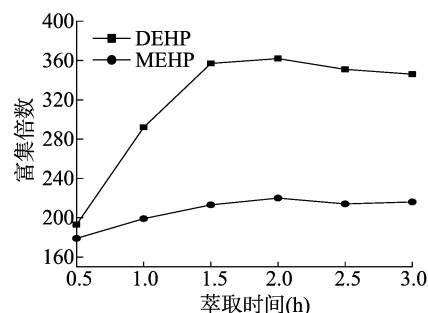


图4 萃取时间对富集倍数的影响

2.2 方法评价

为验证本方法用于定量分析的可行性,在最优的条件下,从线性范围、相对标准差、相关系数、富集倍数与检出限等方面对方法的性能进行评估。由表1可知,HPLC/UV检测的线

表1 DEHP、MEHP的HPLC/UV检测线性范围、富集倍数、检出限

分析物	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	线性方程	相对标准差 (%, $n=3$)	相关系数	富集倍数	检出限 ($\mu\text{g/L}$)
DEHP	0.200~50	$y=200.36x-439.17$	8.9	0.998 9	357	0.028
MEHP	0.200~200	$y=174.26x-481.23$	5.3	0.997 3	213	0.047

2.3 实际水样的检测

应用所建立方法对实验室自来水、京杭大运河镇江段河水2种环境水样进行DEHP、MEHP的富集与检测。所有环境水样均用玻璃瓶采集,0.45 μm 的微孔滤膜过滤后棕色玻璃瓶4 °C下保存。由表2可看出,在实验室自来水、京杭大运河镇江段河水中都检测出了DEHP,而均未检出MEHP,水样中加标20 $\mu\text{g/L}$,测得回收率为84.2~101.0%。

3 结论

选用室温离子液体1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐

到一定的酸度时,MEHP几乎都以分子态存在,继续增大酸度,抑制作用也将不明显。因此,pH值为3被选为最佳供体相的pH值。

同样,在其他处理条件一致的情况下,将接受相的pH值由8增加到13,结果如图3所示。DEHP的萃取效率无明显变化;而MEHP在pH值为13时,萃取效率达到最大。这是因为当MEHP处于碱性环境中,呈离子态存在,使其从样品溶液到接受相单向流动;当接受相中被离子化的分析物浓度越来越大,进一步增大接受相的pH值也不会使萃取效率有较明显的增加。因此,采用pH值为13的水溶液作为接收相。

2.1.5 萃取时间的确定 中空纤维支载离子液体液液微萃取的过程是目标分析物在供体相、支载相、接受相三者之间达到分配平衡的过程。萃取时间是影响分配平衡的重要因素。在达到分配平衡之前,增加萃取时间能提高萃取效果;达到平衡之后,再增加时间,即会因为时间过长降低检测效率,又会因为支载相的损失导致富集倍数的降低。试验分别比较萃取时间为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h下的富集倍数。由图4可知,萃取在1.5 h前,富集倍数随萃取时间的延长而增加;在1.5 h后,富集倍数随萃取时间的延长而增加趋缓;萃取时间达到2 h后,随着萃取时间的延长萃取效率不但没有增加,而出现下降趋势。因此,确定1.5 h为最佳萃取时间。

性范围在0.200~200 $\mu\text{g/L}$,线性相关系数 R^2 大于0.99,3个平行样品的相对标准差分别为8.9%、5.3%,检出限分别为0.028、0.047 $\mu\text{g/L}$,富集倍数分别为357、213,满足水环境中痕量DEHP及其降解产物MEHP的检测要求。

表2 实际水样中DEHP、MEHP的检测结果

水样	污染物名称	测定值 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)
实验室自来水	DEHP	7.619	94.5 \pm 6.5
	MEHP	ND	84.2 \pm 4.3
京杭大运河镇江段河水	DEHP	10.623	100.9 \pm 8.1
	MEHP	ND	101.0 \pm 9.8

注:ND表示未检出。

作为三相HF-LPME的支载液膜,结合HPLC/UV建立一种同步检测环境水样中痕量DEHP及其降解产物MEHP的方

魏卫东,李希来,张 英. 三江源退化小嵩草草甸植物种间关系分析[J]. 江苏农业科学,2017,45(18):258-261.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.18.067

三江源退化小嵩草草甸植物种间关系分析

魏卫东,李希来,张 英

(青海大学农牧学院,青海西宁 810016)

摘要:为了探讨退化小嵩草草甸植物群落中物种组成和种间关系,应用方差检验和 2×2 列联表方法,对三江源区轻度退化、中度退化和重度退化小嵩草草甸植物群落中物种种间的联结性进行定量分析。结果表明,小嵩草草甸退化程度显著影响植物群落物种间的联结性($P < 0.05$),随着草地退化程度的加剧,群落中主要优势物种的总体种间联结性由显著负相关过渡到无关联。

关键词:三江源;小嵩草草甸;退化草地;植物群落;种间联结性

中图分类号: Q948.15;S181 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)18-0258-04

植物群落是生活在一定地域内,由植物个体通过互利、竞争等关系形成的植物集合,是植物适应生境的结果^[1]。组成植物群落的物种种间关系决定了群落的结构、功能及其动态特征。植物种间关系也是群落形成和演替的基础及重要的数量和结构指标。分析植物种间的关系对于正确认识植物群落的结构、功能,研究群落水平格局的形成、种群进化、群落演替动态以及植被经营、植被恢复和生物多样性保护等方面有着重要的指导意义^[2-3]。植物种间关系表现为联结性和相关性 2 个方面。种间联结性是以二元数据为基础,检验 2 个物种是否存在关联^[4-5]。植物群落生境的差异影响植物物种分布从而引起植物种间联结性的变化,在相同生境下,正的联结关系可以在一定程度上指示相互作用的物种间对一方或双方是有利的,负的联结关系可能表明不利于一方或对双方均不利。

三江源位于青藏高原腹地,素有“中华水塔”之称。该地区自然条件严酷、生态系统结构简单、系统内部物质和能量流动缓慢、抗干扰能力和自我恢复能力低下,是全球生态环境最

敏感和脆弱的地区^[6-7]。近 50 年来,由于气候变化、人为干扰等因素的共同作用,三江源高寒草地退化,单位面积产草量及优质牧草比例下降,有毒类杂草增加,草地覆盖度降低^[8],对三江源乃至青藏高原的生态、经济产生了巨大的威胁。由于高寒草地发生退化演替,其群落物种组成、结构、生态功能均发生了变化,植物种间关系也发生了相应的变化。因此,本研究以三江源退化小嵩草草甸植物群落为研究对象,对退化小嵩草草甸植物群落的种间关系进行研究,分析退化小嵩草草甸植物主要物种种间的联结性,揭示该区域群落中植物种间关系对退化演替的响应规律,为保护和利用三江源高寒草地植被资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于青海省果洛州甘德县青珍乡(34°09'N, 100°12'E),平均海拔 4 082 m,为典型的高原大陆性半湿润气候,无四季,只有冷季、暖季之分,冷季约 9 个月。年平均温度 -2.00℃,极端最低气温 -35.03℃;年均降水量 536 mm,年均蒸发量 1 465 mm,太阳辐射强,年日照时数 2 313 ~ 2 607 h,牧草生长期 150 d,无绝对无霜期;土壤为高山草甸土,土层薄、质地差、易侵蚀。

收稿日期:2016-04-21

基金项目:国家自然科学基金(编号:41161084,31560167);青海省科学技术厅项目(编号:2015-ZJ-715)。

作者简介:魏卫东(1970—),男,河南漯河人,博士,教授,主要从事高寒草地生态研究。E-mail:qhweidong@163.com。

法。试验结果表明,本方法具有操作简便、快速、富集倍数高、环境友好等优点。特别是中空纤维表面孔隙小,能有效去除环境水体基质对检测过程的干扰,一次丢弃,避免了重复污染。为监测环境中 PAEs 和 MPEs 的含量,分析其环境行为,评估其环境健康风险,建立基于生态安全的 PAEs 环境容许限值提供了一种可行的技术手段。

参考文献:

- [1] Ma T T, Christie P, Luo Y M, et al. Phthalate esters contamination in soil and plants on agricultural land near an electronic waste recycling site[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2013, 35(4): 465-476.
- [2] Sun J, Huang J, Zhang A, et al. Occurrence of phthalate esters in

sediments in Qiantang River, China and inference with urbanization and river flow regime[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013(248/249): 142-149.

- [3] Gries W, Ellrich D, Küpper K, et al. Analytical method for the sensitive determination of major di-(2-propylheptyl)-phthalate metabolites in human urine[J]. *Journal of Chromatography B*, 2012, 908(22): 128-136.
- [4] Ghambarian M, Yamini Y, Esrafil A. Developments in hollow fiber based liquid-phase microextraction: principles and applications[J]. *Microchimica Acta*, 2012, 177(3/4): 271-294.
- [5] Baghdadi M, Shemirani F. *In situ* solvent formation microextraction based on ionic liquids: a novel sample preparation technique for determination of inorganic species in saline solutions[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 634(2): 186-191.