

华中科技大学硕士学位论文

摘要

复杂环境样品中持久性有机污染物(POPs)的分析方法是当今POPs研究的热点之一,而样品预处理研究又是POPs分析的重点。开发绿色样品预处理技术,是该领域的发展趋势。本文系统的研究了亚临界水萃取和微波辅助萃取技术,应用于环境样品中痕量氯酚的预处理,进行了湖泊沉积物中2-氯酚、2,4-二氯酚、4-氯酚、4-氯-3-甲基酚、2,4,6-三氯酚和五氯酚等痕量氯酚类物质的分离预富集,与气相色谱分析方法联用,成功地应用于实际环境样品中痕量氯酚类物质的分析。

- (1) 研究六种氯酚的气相色谱-电子捕获检测分析条件,测定了各种氯酚的标准曲线、检出限及定量测定限,其检出限介于 $0.05\text{ }\mu\text{g/L}\sim30\text{ }\mu\text{g/L}$ 之间,定量测定限介于 $0.5\text{ }\mu\text{g/L}\sim100\text{ }\mu\text{g/L}$ 之间;
- 2) 研究了亚临界水萃取对氯酚的最佳萃取条件,即pH值为11的碱性水溶液作为萃取溶剂,在 150°C 下萃取80分钟;在此条件下,对氯酚浓度在 $0.01\text{ }\mu\text{g/g}$ 级别的沉积物样品,萃取回收率可达 $80\%\sim115\%$,RSD介于 $1\%\sim15\%$ (n=3)之间;同时,进一步研究SBWE与固相萃取的联用技术,为今后的研究工作提供了一些思路;
- 3) 研究了的微波辅助萃取对沉积物中痕量氯酚的最佳萃取条件,即pH值为9的碱性水溶液作为萃取溶剂,在 0.2 MPa 下萃取6分钟;在此条件下,对氯酚浓度在 $0.01\text{ }\mu\text{g/g}$ 级别的沉积物样品,萃取回收率可达 $75\%\sim120\%$,RSD介于 $1\%\sim15\%$ (n=3)之间;
- 4) 将SBWE-GC和MAE-GC应用于鸭儿湖五个氧化塘沉积物样品中氯酚类物质的分析测定,两种方法的分析结果一致,RSD介于 $1\%\sim13\%$ (n=3)之间,测定结果与传统的索氏提取相比,令人满意。)

关键词: 样品预处理 亚临界水萃取 微波辅助萃取 氯酚 气相色谱

Abstract

Sample preparation techniques play a key role in environmental analysis, especially in the determination of trace or ultra-trace amount of persisted organic pollutants (POPs) in the environmental samples. Recently development of sample preparation methods concerning organic solvent-free or less volume of organic solvent consumption is in the edge-of-state of this field, due to the concern of the hazard of the organic reagent disposal to the environment. In this paper, two new environmental sample preparation techniques, subcritical water extraction and microwave-assisted extraction, have been studied and applied to the determination of some trace chlorophenols, i.e. 2-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol, 4-chlorophenol, 4-chloro-3-methylphenol, 2,4,6-trichlorophenol and pentachlorophenol, in lake sediments. The results of this work are followings:

- 1) The optimization of operation parameters of GC-ECD was studied for six chlorophenols. Under the selected operation condition, a high chromatographic resolution of chlorophenols, a detection limits ($S/N=3$) of $0.05 \mu g/L \sim 30 \mu g/L$ and quantification limits ($S/N=10$) of $0.5 \mu g/L \sim 100 \mu g/L$ were achieved.
- 2) The operation parameters of subcritical water extraction were optimized by a three-factor-three-level orthogonal design. The optimized operation condition is the temperature of $150^{\circ}C$, extraction time of 80 minutes and pH of 11. Under the selected condition, the method could extract chlorophenols quantitatively in spiked samples, which contained chlorophenols of about $0.01 \mu g/g$. The recoveries of chlorophenols were in the range of 80% to 115%, and the RSD were between 1% and 15% ($n=3$). Furthermore, the combination of SBWE and solid phase extraction was studied.
- 3) The organic solvent-free microwave-assisted extraction procedure was optimized by a four-factor-three-level orthogonal design. The optimized parameters of MAE were the pressure of $0.2 MPa$, extraction time of 6 minutes and pH of 9. Under this optimized condition, the method was successfully applied to extract chlorophenols in spiked samples ($0.01 \mu g/g$). The recoveries of chlorophenols were in the range of 75% to 120%, and the RSD were between 1% and 15% ($n=3$).
- 4) The SBWE and MAE were applied to the determination of chlorophenols in the real sediment samples of Ya'er Lake. The RSD is between 1% and 13% ($n=3$). The results of the two sample preparation techniques were in good agreement with those achieved by Soxhlet extraction.

Keywords: Sample preparation, Subcritical water extraction,
Microwave-assisted extraction, Chlorophenols, Gas chromatography

1 绪论

1.1 引言

样品预处理技术在环境分析化学领域中占着十分重要的地位，有时甚至关系到整个分析工作的成败。样品预处理起着浓缩待测组分、提高方法灵敏度、去除对分析系统有害物质的作用。传统的样品预处理方法有液-液萃取、索氏提取(Soxhlet Extraction, SOX)、层析、蒸馏、吸附、离心、过滤等几十种。这些方法一般要使用大量的有机溶剂，而且处理时间长、操作步骤复杂，容易导致样品损失和玷污，产生较大误差。为了检测一个环境样品中的痕量有机污染物，往往要使用几十、甚至上百毫升有毒溶剂，如二氯甲烷、氯仿、四氯化碳和苯等。据统计：在化学分析过程中所使用的化学试剂废弃物，易燃和腐蚀性物质占 55%，有毒物质占 42%，其余 3%^[1]为具有反应活性的物质。对操作人员的身体健康带来危害，而且更加严重的是大量有机废溶剂的不适当处置会对环境造成很大的污染。化学分析本身成了一种污染排放源，这显然违背了保护环境、控制污染的宗旨。因此，探索高准确度、快速、简单、不使用或少使用有机溶剂的环境样品绿色预处理方法，已成为当今环境分析化学领域的前沿课题之一。

在样品预处理领域，近年来发展较快的样品预处理技术有超临界流体萃取(Supercritical Fluid Extraction, SFE)、固相微萃取(Solid Phase Micro-Extraction, SPME)、超声波辅助萃取(Ultrasonic Assisted Extraction, UAE)、加速溶剂萃取(Accelerated Solvent Extraction, ASE)、加压液相萃取(Pressurized Liquid Extraction, PLE)、膜萃取(Membrane Extraction, ME)、微波辅助萃取(Microwave-Assisted Extraction, MAE)、亚临界水萃取(Subcritical Water Extraction, SBWE)等，均是朝着绿色预处理技术这个方向发展。

对固体环境样品中痕量持久性有机污染物(Persisted Organic Pollutants, POPs)的分析是当今环境分析化学领域的研究热点。这主要是由于固体环境样品(如土壤、沉积物)组成复杂，POPs 含量低，基体干扰严重。近年来针对固体样品开发出的样品绿色预处理技术有 SFE、UAE、ASE、MAE、SBWE 等。其中，SBWE 和 MAE 均是

华中科技大学硕士学位论文

90年代左右发展起来的新技术，它们不使用有机溶剂，或使用少量有机溶剂，代表着该领域的发展前沿。

1.2 亚临界水萃取技术及其在环境样品预处理中的应用

1.2.1 亚临界水和 SBWE 的特点

常温常压下，大多数有机物难溶于水，这主要是由于常温下水的极性大。但随着温度的升高，水的极性会降低，对有机物的溶解能力也会增加^[2]。亚临界水也称之为高温水、超加热水、高压热水或热液态水，是指在一定压力下，将水加热到100℃以上临界温度以下的高温，水体仍然保持在液体状态^[3,4]。通过对亚临界水温度和压力的控制可以改变水的极性、表面张力和粘度，温度升高，极性降低，亚临界水对有机物的溶解能力大大增加。Toshio Yamaguchi^[5]研究了亚临界、超临界流体的性质，指出这两种流体物理、化学特性的改变，主要与流体微观结构的氢键、离子水合、离子缔合、簇状结构的变化有关，随着温度的增加，亚临界水的氢键被打开或减弱了。表1.1列出了几种有机溶剂在常温常压下的介电常数和水在不同温度下的介电常数。可见水的介电常数与温度有很大关系，当温度升高到一定程度时，其极性与有机溶剂相当，从而使对有机物的溶解能力大大增强。

从沉积物、土壤、植物、食物等复杂固体样品中萃取有机物时，可以采用亚临界水作为萃取溶剂，萃取所用的水要求是高纯水（HPLC级），萃取前用氮气驱除水中溶解氧^[2]，以避免有机物在亚临界水中被氧化。不同有机物的介电常数不同，当改变亚临界水的温度和压力时，使水的极性接近于样品中的待测组分，使其能溶解于水中，这样，SBWE具有选择性萃取的能力。

表 1.1 水和有机溶剂的介电常数^[6]

溶剂	介电常数 ϵ (常温常压)	温度 (°C)	水的介电常数 ϵ (5MPa)
正己烷	1.89	50	71
苯	2.27	100	56
二氯甲烷	8.93	150	45
丙酮	20.7	200	35
乙醇	24	250	27
甲醇	33	300	22
水	80	400	8

SBWE 是一种新的绿色样品预处理技术，与一些经典和常用的预处理方法相比，如 SOX，对多环芳烃（PAHs）、多氯联苯（PCBs）、酚类等有机物的萃取效率、回收率或水平相当或有所提高，具有较好的选择性，萃取时间短，重现性好，灵敏度高，而且该技术采用纯水作为萃取溶剂，是一种没有污染的绿色萃取技术。

SBWE 有静态和连续（即动态）两种仪器，对设备没有苛刻要求，其加热装置最常见的是气相色谱炉，也可以采用专门的加热炉，如用 Fisher Isotemp 炉^[3]、马弗炉^[4]等。此外，SBWE 与其它分析方法的联用性能较好，其分析速度和操作简便性均可得到保证。

1.2.2 亚临界水萃取的影响因素

1.2.2.1 萃取温度和压力

SBWE 的最主要影响因素是温度。通过对水温的控制，可以选择性的萃取无机或有机物质、极性或非极性有机物质^[7]。据文献报道^[2]，随着温度的增加，其极性会随之改变。当从相同的样品中萃取标准加入的不同极性的有机物质时，对于极性较强的有机物质，100°C 左右时就可基本回收完全，而对于中等极性和非极性物质，必须在更高的温度下才能得到较高回收率，例如酚类物质在 100°C 时的回收率可达到 89%~110%，而 PCBs 要在 250°C 时的回收率才可达到 87%~105%^[2]。

此外，亚临界水萃取的温度还与样品基体的性质有关。Yu Yang^[2]等采用亚临界水，分别从玻璃担体、氧化铝、硅酸镁载体、硅胶键合 C18 和聚合 XAD-4 树脂等材料上洗脱加入的有机物质，发现吸附材料的类型对洗脱效率有很大影响。实验表明，

华中科技大学硕士学位论文

水在较低的温度下就可以破坏吸附质与玻璃担体、氧化铝、硅酸镁载体之间的偶极矩作用，而要求在较高的温度下来打开吸附质与硅胶键合 C18 之间的范德华力，对于吸附质与聚合 XAD-4 之间的 π 电子作用，温度要求则更高，即使在洗脱氯酚类极性较强的物质时，温度仍然要求 200℃。

亚临界水萃取技术对压力的要求较低，只要适当的压力使水保持在液体状态即可^[8]。文献报道一般为 5MPa，因此，SBWE 系统很容易在装置上实现。

1.2.2.2 萃取时间

亚临界水萃取的时间比较短，一般小于 1 小时。S. B. Hawthorne^[8]等人用 SBWE-SPME 联用技术，萃取土壤、沉积物中的 PCBs，在 250℃时萃取 1 小时，所测的浓度与索氏提取 18 个小时所得结果相当。采用亚临界水萃取目标组分时，当这些组分萃取完全后，萃取时间的延长，有时会导致回收率降低。Audrey E.McGowin^[4]等人采用静态亚临界水萃取 PAHs 和一些杀虫剂，110℃条件下萃取 40 分钟所得的回收率(47%~79%)明显低于萃取 20 分钟的回收率(78%~91%)。

1.2.2.3 萃取后处理

在萃取结束后，系统由相对高温高压的状态回复室温常压时，水的极性急剧增强，萃取到水中的中等极性和非极性物质会有一部分重新分配到样品基体中，存在一个样品/水体平衡。因此，采用 SBWE 分析实际样品时，一般需要加入内标进行校正。例如 S. B. Hawthorne^[8]等人通过 SBWE-SPME 萃取土壤、沉积物中的 PCBs，就加入了氘化的 PCB103 和 PCB169 作为内标进行校正。结果表明，亚临界水萃取出来的 PCBs 在亚临界水降温过程中，只有 1%~3% 保留在水中，接下来进行的固相微萃取，也只从冷却后的水体中萃取出了 20%~50% 的 PCBs。

此外还有文献报道，为了避免亚临界水降温过程中待测物重新分配到样品基体中，有人在亚临界水萃取的过程中加入吸附材料，这样待测物在亚临界条件下同时被水萃取和被吸附材料吸附，减少重新分配回样品基体的比例。S.B. Hawthorne^[9]等人在萃取土壤、沉积物、空气颗粒物中的 PAHs 时，将样品、水和苯乙烯—二乙烯基苯 (SDB-XC) 萃取片一起在亚临界条件下进行萃取，冷却系统后，用丙酮和氯甲烷洗脱萃取片上的 PAHs。Audrey E.McGowin^[4]等人也采取类似的方法，在萃取之前将 C18 树脂与样品混匀，萃取之后再用有机溶剂洗脱。另外，SBWE 也存在分析物被稀释的问题。因此，在 SBWE 之后，一般需进行后续处理，如液-液萃取或固相微萃取等，

再进行仪器检测。

1.2.2.4 萃取溶剂的改良

亚临界水萃取溶剂主要是纯水，此外也有关于改良萃取溶剂的研究，根据萃取对象的不同，在纯水里加入一些改良试剂，可以改变分析性能。M.M. Jimenez-Carmonaa^[10]等人在萃取煤中的一些金属元素时，采用硝酸酸化后的亚临界水萃取这些物质，效果很理想，有很好的重现性和选择性。V. Fernández-Pérez^[11]等人在亚临界水萃取土壤中的PAHs时，往水中加入十二烷基硫酸钠，可以增加水体萃取低极性物质的能力。

1.2.2.5 SBWE与其他萃取方法的比较

S. B. Hawthorne^[12]等人研究了SOX、PLE、SFE、SBWE等不同预处理方法萃取环境固体样品中PAHs，结果见表1.2。各种技术对PAHs的回收率都比较接近。SOX和PLE的回收率略微高出一点，但这两种方法的选择性比较差，有机溶剂作为萃取剂时，对样品中的非目标萃取有机质也有较高的萃取能力。因此，当样品中的PAHs浓度比较低时，SOX和PLE就需要事先对萃取产物进行分馏，除去这些干扰有机质，避免干扰浓度太高时影响目标分析物的测定。可见，SBWE是一种较好的适用于环境样品中痕量有机物（如PAHs）分析的预处理方法。

表1.2 SOX、PLE、SFE、SBWE的萃取情况比较^[12]

	SOX ^a	PLE ^b	SFE	SBWE
样品用量(g)	2	2	2	2
萃取溶剂	CH ₂ Cl ₂ -acetone	CH ₂ Cl ₂ -acetone	Pure CO ₂	Water
收集溶剂	-	-	CH ₂ Cl ₂	Toluene
压力(MPa)	常压	7	40	5
温度(℃)	溶剂沸点	100	150	300,250
流速	15min/cycle	1ml/min	1ml/min	1ml/min
时间	18h	50min	60min	30,60min
溶剂体积(mL)	150	15	15(60)	10,20(30,60) ^c

^a条件接近于EPA方法3540C。

^b条件接近于EPA方法3545。

^cSBWE使用30mL水和10mL甲苯(300℃萃取)或者60mL水和20mL甲苯(250℃萃取)。

华中科技大学硕士学位论文

Mark S. Krieger^[13]等人研究比较了 SFE、SBWE 和常规的有机溶剂萃取土壤中的除草剂，结果 SBWE 的萃取效率跟有机溶剂萃取效率相当，SFE 的萃取效率明显低于有机溶剂萃取效率，即使往超临界 CO₂ 中加入极性改良剂，也没有明显提高萃取效率。

1.2.3 SBWE 在环境样品预处理中的应用

亚临界水萃取技术自问世以来，受到广大分析科学工作者广泛的重视，目前主要应用于环境样品预处理，此外还用于天然产物提取^[14,15]、工业分析^[16,17]、生化分析^[18]等领域。SBWE 在环境样品预处理的研究，主要集中在土壤、水体沉积物、空气颗粒物以及其他一些固体环境样品中 PAHs、PCBs、酚类、有机氯农药、除草剂、杀虫剂的分析预处理，表 1.3 列出了一些应用实例。

表 1.3 SBWE 在环境样品预处理中的应用实例

样品	分析对象	萃取条件	检测手段	回收率	文献
土壤	除草剂	120min,150℃, 50MPa	HPLC	77%~87%	13
沉积物	PCBs	250℃,60min	GC-ECD	80%~130%	8
空气颗粒物	PAHs	60min,250℃,40MPa	GC-MS	优于 SOX	9
砂子	氯酚	100℃,60min,1.5MPa	HPLC	89%~108%	3
氟罗里硅土	烷烃	200℃,40min,50MPa	GC-FID	83%~104%	2
土壤	PAHs.	150℃,50MPa,15min	HPLC	74%~110%	11
海砂	PCBs	30min,250℃,25MPa	GC-ECD	64%~132%	7
城市垃圾堆肥	杀虫剂	20min,110℃	GC-MS	74%~91%	4

1.3 微波辅助萃取技术及其在环境样品预处理中的研究进展

1.3.1 引言

微波辅助萃取是 20 世纪末问世的一种新型分离技术，与微波消解不同，微波萃取不会将试样分解，而是要保持分析对象的原本化合物状态。其基本原理是^[19]：不同物质的介电常数不同，对微波能的吸收程度也不同。一方面微波能强化溶剂的效率，另一方面，微波与被分离物质直接作用，吸收微波能力的差异使样品基体中某些组分被选择性加热，从样品体系中分离出来。这种微波与被分离物质的直接作用，称为微波的激活作用，Haswell S.J.^[20]等人对固相分离过程中的微波效应进行研究，证明微波

华中科技大学硕士学位论文

辅助萃取过程中确实存在着这种特殊作用。

微波萃取设备的主要部件是微波加热装置和萃取容器，密闭式微波萃取系统必须配有控时和控压附件，有时还配控温和挥发性溶剂监测附件。最早用于微波萃取的装置是普通家用微波炉^[21]，现在已出现专门用于微波辅助萃取的商品化设备，如美国 CEM 公司的 MES1000^[22]、MDS2000^[23]型微波系统，O.I.公司的 7195 或 7165 型微波系统^[24]，还有意大利 Milestone 公司的 1200 微波制样系统，以及国产 MSP-100 型、SH9402 型、WR-2 型和 MK-2 型微波制样装置等^[25]。萃取罐一般由聚四氟乙烯材料制成，它允许微波能自由通过、耐高温、耐高压、不与溶剂反应，并且没有吸附记忆效应。Fish J.R.^[26]等人的研究表明，无论是新萃取容器还是重复使用的容器，对有机氯农药的回收率相当。

微波辅助萃取还是一种相当年轻的样品预处理方法，其主要特点是快速、高效、节省溶剂、污染小、选择性好，有利于萃取热不稳定的物质，避免长时间高温引起的样品分解，可实行多份试样同时处理，特别适合于处理大量样品。同时，仪器设备比较简单、操作简便、适应面较广，在环境分析、农药分析、食品分析、药物分析、生化分析等领域得到广泛应用。

1.3.2 微波辅助萃取技术的影响因素

1.3.2.1 萃取溶剂的影响

溶剂的极性对萃取效率有很大影响，对于固体或半固体样品，一般选用极性溶剂。这是因为极性溶剂能更好的吸收微波能，提高溶剂的活性，使溶剂和样品间的相互作用更有效，有利于从固体或半固体样品中萃取有机物质^[27]。Ganzler K.^[28]等人的研究表明，萃取溶剂的电导率和介电常数较大时，微波萃取的萃取效率明显提高。常见的萃取溶剂有甲醇、丙酮、乙酸、二氯甲烷、苯、甲苯等有机溶剂^[29]和硝酸、磷酸等无机试剂，有时也在非极性溶剂中加入一定比例的极性溶剂来使用，文献报道中以利用丙酮/己烷(1:1)作溶剂最多。除此之外，还要求溶剂对分离成分有较强的溶解能力，对萃取的后续操作干扰较少。

微波辅助萃取溶剂的使用量比索氏提取法少 12~30 倍^[30]，一般为 20~50mL，用量太多不会提高回收率，反而给后续处理带来困难。

1.3.2.2 萃取温度、压力和时间

华中科技大学硕士学位论文

在进行 MAE 时，萃取罐内的溶剂保持在液态，内部压力最高可达 $10\text{ MPa}^{[29]}$ 。在此压力下，溶剂的沸点提高，又不至于分解被萃取物质。萃取回收率随温度的升高而升高，达到 $115^\circ\text{C} \sim 120^\circ\text{C}$ 时，被萃取物质的平均回收率最大^{[24][27][29][31]}，再进一步提高温度回收率反而会降低，可能会导致萃取物质的分解。Lopez-Avila V.^[32]等人的研究表明，进一步提高温度不会获得更好的回收率，萃取温度达 145°C 时，反而会降低碱性化合物的回收率。Fish J.R.^[33]等人用丙酮/环己烷（1: 1）萃取有机氯农药，在 150°C 下微波萃取 15min 后进行色谱测定，发现 DDT 和异狄氏剂有分解产物 DDE、DDD 及乙醛和甲酮异狄氏剂。

微波萃取时间与被测样品量、溶剂体积和加热功率有关，对于不同的物质，最佳萃取时间不同，一般情况下为 10~15min。萃取回收率随萃取时间的延长有所增加，但增长幅度不大，更长的萃取时间并不会明显提高回收率^[24]。在萃取过程中，一般加热 1~2min 即可达到要求的萃取温度。

1.3.2.3 样品基体的影响

样品基体对微波萃取有影响，可能是因为样品中含有对微波吸收较强的物质，或者某种物质的存在导致微波加热过程中发生化学反应。熊国华等人^[34]用丙酮/正己烷（1: 1）萃取四种样品中的 PAHs ($3\text{ }\mu\text{g/g}$)，沙土中有机碳含量约为 1%，粘土中有机碳含量低于 0.05%，膨润土和氟罗里硅土不含有机质。结果沙土样萃取效率明显较低，其余三者比较接近。这说明土壤样品中的有机质对萃取效率有一定影响，而无机质的影响不大。

同时，样品的湿度也会影响萃取回收率。因为水分能有效吸收微波能，产生温度差，因此对于不含水分的样品，要采取加湿的方法，使样品具有适量的水分。熊国华等人的研究表明，以丙酮/正己烷（1: 1）萃取土壤中的 PAHs 时，最佳水分含量是 10%~20%，回收率为 82.2%~94.1%，水分太高会降低萃取效率。Onuska F.I.^[35] 等人以异辛烷萃取沉积物中的杀虫剂，样品水分为 15% 时微波萃取效率最高。Lopez-Avila V.^[32]等人对干燥泥土和未干燥泥土进行了对比实验，发现未干燥泥土中的碱性化合物、苯甲酸和一些酚类物质的回收率比干燥泥土更高。

1.3.2.4 与其他萃取方法的比较

Lopez-Avila V.^[36]等人曾比较微波辅助萃取、索氏提取和超声波萃取方法对农药残留的萃取效率，具体数据列于表 1.4。由表中数据可见，MAE 的测定精密度和对分

华中科技大学硕士学位论文

析物的回收率都高出另外两者。考虑微波辅助萃取技术的众多优点，可以预见这种技术将是一种很有发展前景的样品预处理技术。

表 1.4 微波辅助萃取、索氏提取、超声波萃取法比较^[36]

化合物	超声波萃取		索氏提取		微波辅助萃取	
	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
艾氏剂	66.2	5.2	77.9	3.7	87	2.1
α -六六六	70.2	6.2	69.2	4.7	94.4	4.1
β -六六六	-	-	68.2	1.7	96.6	2.8
4,4'-DDT	108	5.7	128	3.6	116	5.6
狄氏剂	79.3	4.4	96.4	2.7	85.9	3.8
硫丹- I	68.4	3.9	69.1	3.3	86.8	3.1
硫丹- II	63.3	5.3	58.2	8.3	71.9	6.3
异狄氏剂	62.1	6.4	62.9	2.7	97.4	1.9
七氯	68.6	5.2	85.0	6.7	110	1.4
环氧七氯	60.9	4.9	69.7	2.9	95.3	2.7
七氯苯	65.7	5.6	73.6	7.2	80.8	1.6
七氯环戊二烯	44.8	11	21.9	96	107	12

样品浓度为 50ng/g, 测定 3 次

1.3.3 MAE 在环境样品预处理中的应用

近年来，微波辅助萃取已经在环境分析、农药分析、食品分析、药物分析、生化分析等领域得到广泛应用，在环境样品预处理的研究最多，主要集中在土壤、水体沉积物、环境灰尘和水中各种有机污染物的萃取分离上。萃取对象包括 PAHs^{[37][38]}、有机氯农药^{[39][40]}、PCBs^{[41][42]}、除草剂^[43]、邻苯二甲酸酯^[44]、杀虫剂^[45]、酚类化合物^[46]、甲基汞^[47]，也有萃取各种水样中农药、除草剂等物质的报道，表 1.5 列出了一些应用实例。

华中科技大学硕士学位论文

表 1.5 MAE 在环境样品预处理中的应用实例

样品	分析对象	萃取条件	检测手段	回收率	文献
土壤	有机氯农药	己烷/丙酮(3:2), 20min,120℃	GC-ECD	82%~99%	33
沉积物	丁基锡	10mL 50%乙酸, 3min,60W	AEC	97%~102%	48
污泥	PCBs	乙烷/丙酮(3:1), 950W,2450Hz	GC-ECD	优于 SOX	49
土壤	农药残留	丙酮/环己烷(3:2) 120℃,15min	GC-ECD	65%~99%	36
土壤	除草剂	20mL 二氯甲烷/甲醇 (9:1),10min,60℃	HPLC	优于 SOX	43
膨润土	PAHs	30mL 丙酮/己烷(1:1), 0.5MPa,600W,6min	HPLC	86%~98%	34
沙土	PAHs	30mL 丙酮/己烷(1:1), 0.5MPa,600W,6min	HPLC	79%~92%	34

1.4 本文的研究任务

本研究课题来源于湖北省自然科学基金和武汉市科委重点项目。主要研究固体环境样品中痕量有机污染物的绿色样品预处理技术，并与色谱技术联用，建立环境样品中持久性有机污染物的分析方法。通过对武汉市几个典型湖泊的实际样品分析，得出湖泊沉积物中氯酚类物质的污染状况，为研究污染物在水环境中的分布、迁移规律以及其控制提供依据。

本文的主要研究任务有：

气相色谱-电子捕获检测器检测多种氯酚，研究最佳的气相色谱分离条件，确立定量方法；

应用亚临界水萃取技术对沉积物样品中的氯酚类物质进行萃取，通过正交设计实验研究多种影响因素，并利用正交分析，全面地比较各种影响参数，寻找最佳萃取条件，并应用于实际沉积物样品中氯酚类物质的分析检测，同时进一步研究 SBWE 与

华中科技大学硕士学位论文

SPE 的联用技术；

研究微波辅助萃取的各种影响因素，通过正交设计实验寻找最佳萃取条件，同时与 SBWE 技术进行研究对比，并应用于实际沉积物样品中氯酚类物质的分析检测。

2 氯酚类物质的气相色谱分析研究

2.1 引言

国家环保局颁布的酚类物质的标准分析方法是 4-氨基安替比林光度法^[50], 这也是国际标准化组织颁布的酚类分析方法。根据酚类能否与水蒸汽一起蒸出, 分为挥发酚与不挥发酚。挥发酚多指沸点在 230℃以下的酚类, 通常属一元酚。4-氨基安替比林光度法适用于测定水中的挥发酚类化合物, 该方法容易操作, 最低检出浓度可达到 0.1mg/L, 但对于对位取代酚, 以及多取代酚则不能适用。因此, 对环境中的酚类污染物的分析常常采用色谱技术进行分离检测, 其中在研究中最为常用的是气相色谱技术。

气相色谱法一般适用于挥发性半挥发性有机物的分离分析。它的突出特点是高分离效率和高分离速度, 用于 GC 的检测器通常有氢火焰离子化检测器 (FID)、电子捕获检测器 (ECD)、氮磷检测器 (NPD)、热导检测器 (TCD) 等^[51]。此外, 质谱 (MS)、傅立叶变换红外光谱 (FTIR) 等技术也常与气相色谱联用, 直接用于对未知组分的定性分析。

ECD 是目前分析痕量电负性有机化合物的高灵敏度检测器, 适合于测定含卤素、氧、硫、氮和磷的化合物, 它是一种浓度型检测器, 响应信号与进入检测器中分析物的浓度成正比^[52]。GC-ECD 不能对分析组分直接进行定性, 必须用标准物质进行定性分析, 以保留时间作为定性标准。在进行定量分析时, 必须建立待测物标准曲线, 由于 ECD 的线性范围窄, 曲线的形态随组分不同而异, 一般建议确定第二级曲线拟合^[53]。

本课题研究中采用气相色谱-电子捕获检测器, 对 2-氯酚 (2-CP)、2,4-二氯酚 (2,4-DCP)、4-氯酚 (4-CP)、4-氯-3 甲基酚 (4-C-3-MP)、2,4,6-三氯酚 (2,4,6-TCP) 和五氯酚 (PCP) 等六种氯酚类物质进行分析测定。同时, 选用适合于分离氯酚类物质的 HP-1 毛细管色谱柱 (Crosslinked Methyl Siloxane, 30m×0.32mm×0.25 μ m film thickness)。HP-1 柱有较强的非极性键合相, 固定相在高温下流失率很低, 适合于分离痕量酚类物质。

华中科技大学硕士学位论文

2.2 氯酚类物质色谱条件的优化研究

2.2.1 仪器及试剂

HP6890 气相色谱仪，ECD 检测器，HP-1 毛细管柱(Crosslinked Methyl Siloxane, 30m×0.32mm×0.25 μ m film thickness), Hewlett-Packard, USA;

HP3398a 化学工作站，氮气 (N_2) 作为载气；

DF200A 电子分析天平，中国轻工业机械总公司常熟衡器工业公司；

2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP、2,4,6-TCP 和 PCP 六种氯酚为美国 SIGMA 公司出品；

二氯甲烷和丙酮，AR，天津化学试剂有限公司；

超纯水由美国 EASY pure LF 的 Compact ultrapure water system 制备。

2.2.2 实验部分

2.2.2.1 溶液的配制

标准溶液的配制：用丙酮作为溶剂，分别准确配制一定浓度的各种氯酚的标准储备液，50mL 棕色试剂瓶保存，密封保存于 4℃冰箱中。六种氯酚标准储备液的浓度列于表 2.1。

表 2.1 六种氯酚的标准储备液（溶剂：丙酮）

氯酚	2-CP	2,4-DCP	4-CP	4-C-3-MP	2,4,6-TCP	PCP
浓度 mg/mL	20.0	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0

六种氯酚混合溶液的配制：分别从六种氯酚的标准储备液中准确移取一定体积的溶液，加入 10mL 容量瓶中，以二氯甲烷为溶剂定容。

2.2.2.2 气相色谱分析操作

运行 HP3398a 化学工作站，调整 N_2 分压，在仪器设置中设定进样方式、进样量、进样口温度、柱中载气流速、炉温、检测器温度及尾吹气 (N_2) 流速等运行条件。在设定条件下进样分析，在化学工作站中对检测信号进行数据处理。

2.2.2.3 气相色谱条件的确定

华 中 科 技 大 学 硕 士 学 位 论 文

研究中我们选用浓度接近于 0.5mg/L 的氯酚混合标准溶液，来分析确定合适的气相色谱条件。进样口温度设定为 250℃，尾吹气选用仪器操作手册推荐的 60mL/min，HP-1 毛细管柱的载气流速选择推荐的 2.0mL/min。固定这些运行条件，我们对炉温进行研究，对比恒温和程序升温，发现恒温运行时存在峰拖尾现象，因此选择程序升温。通过调整不同的程序升温运行方式，使六种氯酚能有很好的分离效果，较高的柱效能，同时保证测定时间较短。

在 HP6890 的进样口，装有分流/不分流石英衬管，可以选择适当的进样方式。分流进样主要用于高浓度样品分析，同时减轻毛细管柱的负荷。分流出口流量和柱流量之比称为分流比，分流比根据具体分析对象控制。考虑到所研究的分析物浓度比较低，分流比不宜太大，经过大量实验，我们选定分流比为 10。通过实验，我们确定的具体色谱操作条件列于表 2.2，图 2.1 是在此操作条件下得到的六种氯酚的色谱图，其中 2-CP、2,4-DCP、4-CP 和 4-C-3-MP 的浓度均为 200 μ g/L, 2,4,6-TCP 的浓度是 50 μ g/L, PCP 的浓度是 10 μ g/L。

表 2.2 气相色谱操作条件

进样口温度	250℃
进样方式	分流模式，分流比：10
进样量	1 μ L
色谱柱	HP-1 毛细管柱(Crosslinked Methyl Siloxane, 30m×0.32mm ×0.25 μ m film thickness)
载气	N ₂ (99.9995%)
柱流量	2.0mL/min
尾吹气	60mL/min
炉温	40℃ 至 210℃ (10℃/min)，停留 1min
ECD 检测器	250℃
色谱工作站	HP3398a

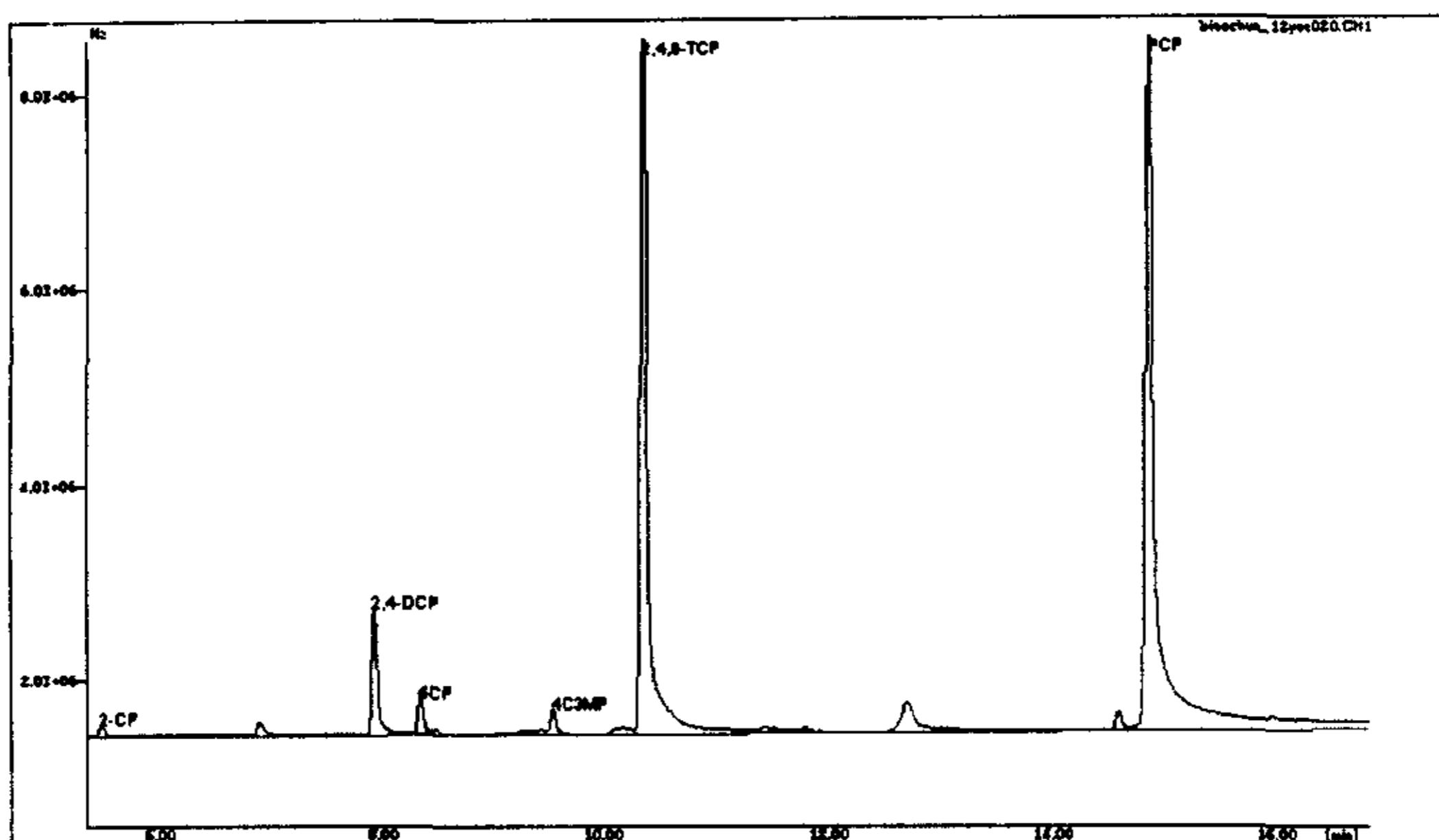


图 2.1 六种氯酚标准溶液的气相色谱图

2.3 标准曲线的建立

以二氯甲烷为溶剂，配制一系列不同浓度的混合标准溶液五份。在优化确定的色谱条件下进行检测分析，得到各种氯酚的标准曲线。因为 ECD 的线性范围窄，所以其标准曲线是二次拟合曲线，得到检出限(LD)(S/N=3)及定量测定限(LQD)(S/N=10)，具体数据列于表 2.3。

表 2.3 六种氯酚的标准曲线和 LD、LQD

氯酚	标准曲线	相关系数	LD ($\mu\text{g/L}$)	LQD ($\mu\text{g/L}$)
2-CP	$y = -0.0798x^2 + 362.48x$	0.9991	8.8	29.3
2,4-DCP	$y = -2.3469x^2 + 3496.3x$	0.9997	6.3	21.4
4-CP	$y = -0.0565x^2 + 668.88x$	0.9999	14.3	47.8
4-C-3-MP	$y = -0.0782x^2 + 919.4x$	0.9979	30.5	101.7
2,4,6-TCP	$y = 8.246x^2 + 54798x$	0.9999	0.2	0.67
PCP	$y = 82.424x^2 + 271866x$	0.9999	0.05	0.16

华中科技大学硕士学位论文

从表中可以看出，PCP 和 2,4,6-TCP 的检出限和定量测定限都比较低，这是由于有机酚的氯取代基越多，其电负性越强，ECD 检测器对电负性有机化合物响应信号敏感，所以在相当低的浓度范围内，仍可以准确定量检测。

2.4 本章小结

通过本章的研究，我们确定了六种氯酚的 GC-ECD 检测分析条件，并建立和得出各种氯酚的标准曲线、检出限及定量测定限，为后面的研究工作确立了有效可行的分析检测方法。

3 湖泊沉积物中痕量氯酚类物质的亚临界水萃取研究

3.1 引言

传统的环境样品预处理方法存在较大的局限性，如需大量的溶剂、处理时间长、操作复杂、易造成二次污染等。随着科学技术的发展，对分析化学中分离技术的要求越来越高。面对日益复杂的样品，要求进行 $\mu\text{g/mL}$ 、 ng/mL 甚至是 pg/mL 数量级的痕量分析。探索快速、高效、简便、低耗、高选择性和重现性的样品预处理方法，已成为目前环境工作者努力研究的目标，而发展不使用或少使用有机溶剂做预处理溶剂，是当今环境样品预处理的一个主要发展方向。

近年来，分析科学工作者先后发展了许多新技术，例如固相微萃取、膜萃取、超临界萃取等，这些分离技术不但操作简便、快速、选择性好、二次污染小，而且自动化程度也越来越高。亚临界水萃取也是一种新型非有机溶剂萃取技术，与目前分析实验室常用的一些预处理方法相比，对酚类、PAHs、PCBs 等不同极性有机物的萃取效率、回收率或水平相当或有所提高^{[2][12]}，具有较好的选择性，萃取时间短，而且它采用纯水作为萃取溶剂，是一种没有二次污染的萃取技术。其有机溶剂的使用量可以降低到较小的体积（如 SBWE-SPE, n mL）或为零（如 SBWE-SPME），并且与其它分析方法的联用性能较好，其分析速度和操作简便性均可得到保证。

亚临界水萃取技术在国内外的研究、应用报道还比较少，在环境样品预处理中的研究，主要集中在土壤、水体沉积物、空气颗粒物以及其他一些固体环境样品中 PAHs、PCBs、酚类、有机氯农药、除草剂、杀虫剂的分析预处理。S. B. Hawthorne^{[2][8][9][12][15]}等人和 M.D. Luque de Castro^{[11][14][16]}等人在这方面做了大量的研究工作，取得了一定的研究、应用成果。此外，为了避免亚临界水降温过程中待测物重新分配到样品基体中，有研究报道在亚临界水萃取的过程中加入吸附材料，这样待测物被萃取出来后就被吸附材料吸附，减少重新分配回样品基体的比例。S.B. Hawthorne^[9]等人在萃取土壤、沉积物、空气颗粒物中的 PAHs 时，萃取之前加入了苯乙烯—二乙烯基苯(SDB-XC)萃取片，将样品、水和 SDB-XC 萃取片一起密封进行萃取，然后用丙酮和氯甲烷洗脱萃取片上的 PAHs 再进行仪器分析。Audrey E.McGowin^[4]等人也采取类似的方法，在

华中科技大学硕士学位论文

萃取之前将 C18 树脂与样品混匀，萃取之后再用有机溶剂洗脱。

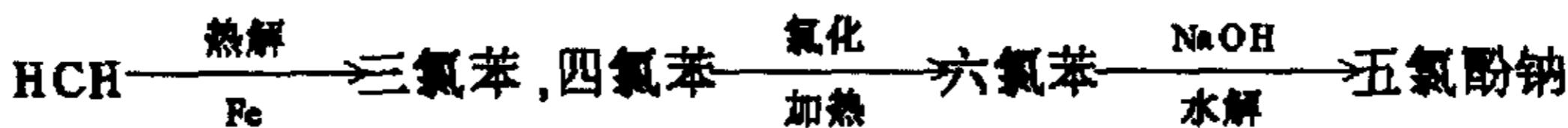
在本章的研究工作中，我们选取标准加入了六种代表性氯酚（2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP、2,4,6-TCP 和 PCP）的湖泊沉积物作为分析样品，使用带有控温附件的烘箱和自行研制的不锈钢亚临界水萃取罐，应用正交设计试验研究了萃取水的 pH 值、萃取温度和时间对萃取效率的影响，并利用正交分析，全面地比较各种影响氯酚回收率的因素，确定了 SBWE 的最佳条件。同时，我们还进一步研究了 SBWE 与活性炭纤维（ACF）固相萃取的联用技术，并用 GC-ECD 进行定量测定。

3.2 沉积物样品的采集与处理

3.2.1 采样点简介

样品采集于曾被有机氯化合物严重污染的鸭儿湖地区。鸭儿湖位于武汉市与鄂州市交界处，属于长江中下游湖群。1978 年到 1991 年间，鸭儿湖湖区中的严家湖一直被作为氧化塘来处理葛店化工厂的废水。葛店化工厂当年曾以生产对硝基苯酚和有机磷农药为主，1983 年以来以生产氯碱、有机氯化工产品为主，如：氯化苯类、氯化石蜡、PVC 等。氯碱工艺工程中，伴随多种持久性有机污染物副产品。因此，在鸭儿湖沉积物中曾发现高含量的持久性有机物，如 PCDD/F、PCBs、HCH(六氯环己烷)、HCB (六氯苯) 等^{[54] [55] [56]}。吴文忠、徐盈的研究表明，葛店化工厂盐泥中的 PCDD/F 浓度高达 $378.85 \mu\text{g/kg}$ ^[57]。这些污染物通过各种途径释放，再通过食物链转移，对周围的环境存在着极大的潜在危害。在过去的几年中，鸭儿湖地区已出现大量的畸形鱼，周围居民肝病发病率高，这很可能与鸭儿湖中的污染物有关^[58]。

调查葛店化工厂生产工艺^[56]，存在 HCH 热解水解生产五氯酚及其钠盐的工艺，具体如下：



由此可推断鸭儿湖沉积物中，可能存在大量的氯酚类污染物。因此，我们将鸭儿湖五个氧化塘的沉积物作为研究对象，分析检测其中氯酚类物质的含量。鸭儿湖的布局和采样点如图 3.1 所示。

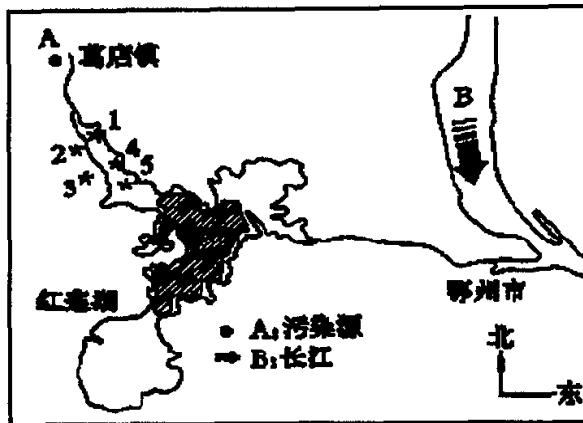


图 3.1 鸭儿湖地区采样点示意图

图中标注的 1、2、3、4、5 分别为五个氧化塘采样点

3.2.2 沉积物样品采集与处理

我们在 2002 年 3 月在鸭儿湖五个塘分别采样，湖心任选三点挖取底泥，选取底层沉积物。沉积物样品运回实验室后，立即将其平铺于托盘中，放于阴凉、干燥、通风处风干，期间不断翻动，并挑出泥中的石块、动植物残体等杂质。待样品风干后，将其放入玻璃研钵中研磨，过 100 目金属筛，混匀后密闭保存于棕色广口瓶中，冰箱中 4℃ 保存。

用于标准加入回收实验的沉积物样品，过筛后在 300℃ 高温下烘 4 小时，高温除去沉积物中的有机质。准确称取适量烘干的沉积物样品，再准确移取适量的 2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP、2,4,6-TCP 和 PCP 标准储备液，混合均匀，放入棕色玻璃试剂瓶，置于通风柜中，待丙酮挥发完全后，放于 4℃ 冰箱中保存，至少陈化一周。

3.3 SBWE 对沉积物中氯酚类物质萃取条件的优化研究

3.3.1 仪器与试剂

HP6890 气相色谱仪，ECD 检测器，HP-1 毛细管柱(Crosslinked Methyl Siloxane, 30m×0.32mm×0.25 μ m film thickness)，Hewlett-Packard, USA；
HP3398a 化学工作站；

华中科技大学硕士学位论文

氮气 (N_2) 作为载气;

LG10-2.4A 离心机, 北京医用离心机厂;

不锈钢亚临界水萃取罐, 容积 15mL, 圆柱型, 内径 1.8cm, 进行样品萃取时, 顶端用聚四氟乙烯垫片和不锈钢螺母密闭;

DF200A 电子分析天平, 中国轻工业机械总公司常熟衡器工业公司;

SX2-4-13 型可控电炉, 武汉电炉实验炉厂;

2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP、2,4,6-TCP 和 PCP 标准品, 美国 SIGMA 公司;

二氯甲烷和丙酮, AR, 天津化学试剂有限公司;

NaOH, AR, 河南焦作市化工三厂;

pH 1-14 广泛试纸, 上海试剂三厂;

超纯水由 EASYpure LF 的 Compact ultrapure water system 制备。

3.3.2 实验部分

我们用亚临界水萃取标准加入氯酚的沉积物样品, 萃取前, 先准确称取一定量的 NaOH 试剂, 用超纯水配制 pH 值为 9、11 的碱性溶液, 然后用氮气驱除水中溶解氧, 以避免有机物在亚临界水中被氧化。考察了对 SBWE 萃取效率影响较大的三个因素, 即萃取水 pH 值、萃取温度、萃取时间。采用正交设计实验, 三因素三水平正交实验表列于表 3.1。

表 3.1 SBWE 的正交设计实验参数

实验序号	萃取时间 (min)	萃取温度 (°C)	萃取溶剂 pH
1	40	125	11
2	60	125	7
3	80	125	9
4	40	150	7
5	60	150	9
6	80	150	11
7	40	175	9
8	60	175	11
9	80	175	7

华中科技大学硕士学位论文

准确称取 1.500 克标准加入了六种氯酚的沉积物样品（2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP 的浓度为 $4 \mu\text{g/g}$, 2,4,6-TCP 的浓度为 $1 \mu\text{g/g}$, PCP 的浓度为 $0.2 \mu\text{g/g}$ ），量取 9mL 萃取溶剂，密闭好萃取罐，置于控温电炉中进行萃取实验。萃取结束后，萃取罐马上置于自来水下冷却至室温，萃取溶剂和沉积物样品经过高速离心处理之后，用 1: 1 盐酸调节萃取水的 pH 值到 7，然后将此水溶液经 $0.45 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤，最后用 2mL 二氯甲烷与过滤后的水样进行液-液萃取，取二氯甲烷溶液 $1 \mu\text{L}$ 进行 GC-ECD 色谱分析。

3.3.3 实验结果与讨论

3.3.3.1 SBWE 的正交实验结果

以湖泊沉积物样品（事先高温除去有机质）中标准加入的六种氯酚为萃取分析对象，通过三因素三水平正交设计实验优选，确定 SBWE 对这类样品的最佳萃取条件。采用“直观分析法”来分析各因素对萃取效率的影响，实验处理数据列于表 3.2 和图 3.2，RSD 介于 1%~20% ($n=3$) 之间。

表 3.2 亚临界水萃取沉积物中各种氯酚的正交实验分析表

2-CP	萃取时间 (min)	萃取温度 (°C)	萃取溶剂 pH	回收率 (%)
1	40 (1)	125 (1)	11 (3)	58.5
2	60 (2)	125 (1)	7 (1)	61.9
3	80 (3)	125 (1)	9 (2)	116.5
4	40 (1)	150 (2)	7 (1)	93.5
5	60 (2)	150 (2)	9 (2)	110.0
6	80 (3)	150 (2)	11 (3)	117.5
7	40 (1)	175 (3)	9 (2)	92.5
8	60 (2)	175 (3)	11 (3)	144.9
9	80 (3)	175 (3)	7 (1)	87.6
ΣX_{1j}	244.4	236.9	242.9	
ΣX_{2j}	316.8	320.9	319.0	$\Sigma = 882.8$
ΣX_{3j}	321.6	325.0	320.9	
平均值 X_{1j}	81.5	79.0	81.0	
平均值 X_{2j}	105.6	107.0	106.3	
平均值 X_{3j}	107.2	108.3	107.0	
极差 T	25.7	29.4	26.0	

华中科技大学硕士学位论文

2,4-DCP	萃取时间(min)	萃取温度(℃)	萃取溶剂pH	回收率(%)
1	40 (1)	125 (1)	11 (3)	52.5
2	60 (2)	125 (1)	7 (1)	35.5
3	80 (3)	125 (1)	9 (2)	62.1
4	40 (1)	150 (2)	7 (1)	39.4
5	60 (2)	150 (2)	9 (2)	99.7
6	80 (3)	150 (2)	11 (3)	90.3
7	40 (1)	175 (3)	9 (2)	38.1
8	60 (2)	175 (3)	11 (3)	58.1
9	80 (3)	175 (3)	7 (1)	65.2
ΣX_{1j}	130.0	150.2	140.2	
ΣX_{2j}	193.3	229.3	199.9	$\Sigma = 541.0$
ΣX_{3j}	217.6	161.5	200.9	
平均值X _{1j}	43.3	50.1	46.7	
平均值X _{2j}	64.4	76.4	66.6	
平均值X _{3j}	72.5	53.8	67.0	
极差T	29.2	26.4	20.3	

4-CP	萃取时间(min)	萃取温度(℃)	萃取溶剂pH	回收率(%)
1	40 (1)	125 (1)	11 (3)	69.1
2	60 (2)	125 (1)	7 (1)	54.0
3	80 (3)	125 (1)	9 (2)	64.2
4	40 (1)	150 (2)	7 (1)	76.5
5	60 (2)	150 (2)	9 (2)	82.9
6	80 (3)	150 (2)	11 (3)	94.0
7	40 (1)	175 (3)	9 (2)	66.5
8	60 (2)	175 (3)	11 (3)	72.9
9	80 (3)	175 (3)	7 (1)	75.7
ΣX_{1j}	212.1	187.4	206.2	
ΣX_{2j}	209.71	253.4	213.6	$\Sigma = 655.8$
ΣX_{3j}	234.0	215.1	236.0	
平均值X _{1j}	70.7	62.5	68.7	
平均值X _{2j}	69.9	84.5	71.2	
平均值X _{3j}	78.0	71.7	78.7	
极差T	8.1	22.0	9.9	

华中科技大学硕士学位论文

4-C-3-MP	萃取时间(min)	萃取温度(℃)	萃取溶剂pH	回收率(%)
1	40 (1)	125 (1)	11 (3)	38.8
2	60 (2)	125 (1)	7 (1)	39.2
3	80 (3)	125 (1)	9 (2)	52.9
4	40 (1)	150 (2)	7 (1)	61.0
5	60 (2)	150 (2)	9 (2)	57.9
6	80 (3)	150 (2)	11 (3)	61.9
7	40 (1)	175 (3)	9 (2)	45.9
8	60 (2)	175 (3)	11 (3)	55.8
9	80 (3)	175 (3)	7 (1)	44.9
ΣX_{1j}	145.7	130.9	145.1	
ΣX_{2j}	152.9	180.7	156.7	$\Sigma = 458.2$
ΣX_{3j}	159.6	146.6	156.4	
平均值X _{1j}	48.6	43.6	48.4	
平均值X _{2j}	51.0	60.3	52.2	
平均值X _{3j}	53.2	48.9	52.2	
极差T	4.6	16.6	3.9	

2,4,6-TCP	萃取时间(min)	萃取温度(℃)	萃取溶剂pH	回收率(%)
1	40 (1)	125 (1)	11 (3)	53.4
2	60 (2)	125 (1)	7 (1)	43.3
3	80 (3)	125 (1)	9 (2)	58.6
4	40 (1)	150 (2)	7 (1)	73.2
5	60 (2)	150 (2)	9 (2)	71.2
6	80 (3)	150 (2)	11 (3)	70.1
7	40 (1)	175 (3)	9 (2)	57.3
8	60 (2)	175 (3)	11 (3)	64.5
9	80 (3)	175 (3)	7 (1)	85.0
ΣX_{1j}	183.8	155.3	201.5	
ΣX_{2j}	179.0	214.5	187.0	$\Sigma = 576.5$
ΣX_{3j}	213.7	206.8	188.1	
平均值X _{1j}	61.3	51.8	67.2	
平均值X _{2j}	59.7	71.5	62.3	
平均值X _{3j}	71.2	68.9	62.7	
极差T	11.6	19.7	4.8	

华中科技大学硕士学位论文

PCP	萃取时间(min)	萃取温度(℃)	萃取溶剂pH	回收率(%)
1	40 (1)	125 (1)	11 (3)	54.8
2	60 (2)	125 (1)	7 (1)	41.0
3	80 (3)	125 (1)	9 (2)	92.3
4	40 (1)	150 (2)	7 (1)	61.9
5	60 (2)	150 (2)	9 (2)	73.5
6	80 (3)	150 (2)	11 (3)	111.4
7	40 (1)	175 (3)	9 (2)	94.6
8	60 (2)	175 (3)	11 (3)	113.3
9	80 (3)	175 (3)	7 (1)	110.9
ΣX_{1j}	211.3	188.1	213.9	
ΣX_{2j}	227.8	246.9	260.4	$\Sigma = 753.7$
ΣX_{3j}	314.7	318.8	279.5	
平均值X _{1j}	70.4	62.7	71.3	
平均值X _{2j}	75.9	82.3	86.8	
平均值X _{3j}	104.9	106.3	93.2	
极差T	34.5	43.6	21.9	

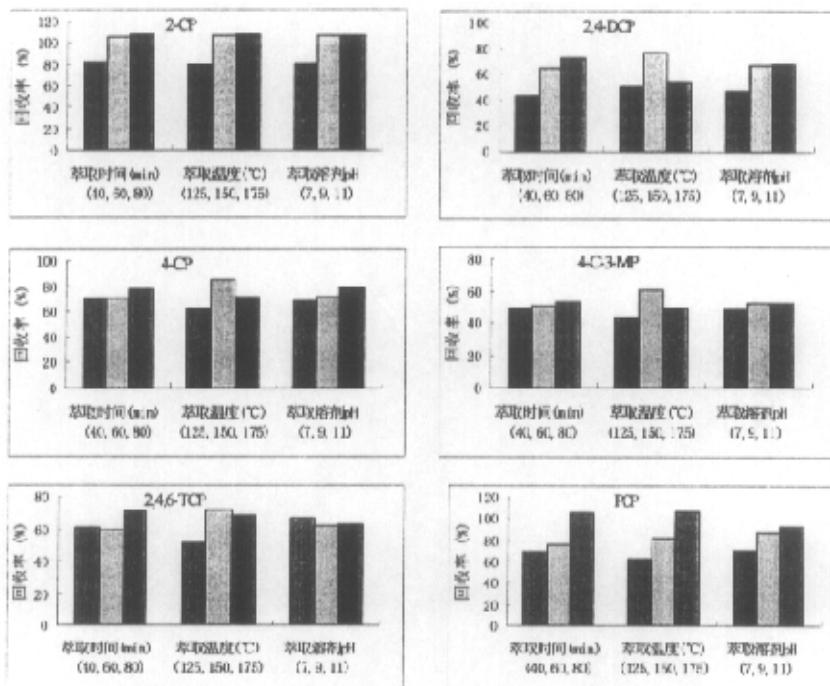


图 3.2 影响 SBWE 的三因素与回收率关系图

华中科技大学硕士学位论文

3.3.3.2 萃取温度对萃取效率的影响

在正交实验中，我们比较了 125℃、150℃和 175℃三个水平的萃取温度，从上面的图表可以看到，萃取温度对 SBWE 的萃取效率影响很大。通过比较三个影响因素的极差 T（见表 3.1），发现对于 2-CP、4-CP、4-C-3-MP、2,4,6-TCP 和 PCP 这五种氯酚，萃取温度对萃取效率的影响程度明显高于其他两个因素。从图中可以看到，2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP 和 2,4,6-TCP 在 150℃时的萃取回收率高于 125℃和 175℃时的回收率，对于 2-CP，150℃和 175℃时的回收率差不多，只有 PCP，175℃时的回收率高于 150℃时的回收率。

可见，对于沉积物中氯酚类物质的亚临界水萃取，150℃时萃取回收率最高。分析其原因，主要是因为氯酚类物质具有一定的极性，较低温度的亚临界水就可以将其从固体环境样品中萃取出来。当温度进一步升高时，可能导致氯酚类物质在高温下分解，反而降低了萃取回收率。

3.3.3.2 萃取时间对萃取效率的影响

在正交实验中，我们比较了 40 分钟、60 分钟、80 分钟三个水平的萃取时间。从上面的表和图可以看到，对于这六种氯酚，80 分钟的萃取回收率都明显高于 40 分钟和 60 分钟时的回收率，说明随着萃取时间的延长，更多的氯酚能从沉积物样品中分离出来，进入亚临界水中。不过，萃取效率随萃取时间的延长而增加的趋势，只在一定的时间范围内存在，如果再延长萃取时间，萃取体系达到平衡，萃取回收率并不会明显提高。因此，在后面的亚临界水萃取实验中，我们选择萃取时间为 80 分钟。

跟其他相关文献报道的亚临界水萃取时间相比，我们研究中确定的时间（80 分钟）比较长。分析其原因，可能是因为我们将萃取罐置于加热炉中就马上开始计时，而萃取罐从室温加热到设定温度，还存在一个升温过程。

3.3.3.3 萃取溶剂 pH 值对萃取效率的影响

我们选择研究了 pH 值为 7、9、11 三个水平的萃取水溶液，对于 4-CP 和 PCP，pH 值为 11 的萃取水的回收率明显高于 pH 值为 9 和 7 时的回收率。对于 2-CP、2,4-DCP、4-C-3-MP 和 2,4,6-TCP 四种氯酚，萃取水 pH 值为 9 和 11 时的回收率相当，高于萃取水 pH 值为 7 时的萃取回收率（2,4,6-TCP 例外）。

大致看来，选用 pH 值为 11 的亚临界水来萃取沉积物中的氯酚类物质，效果比较理想。之所以萃取效率随萃取水 pH 值的增大而增大，主要是因为氯酚类物质的分子

华中科技大学硕士学位论文

结构上含有一个羟基，能电离出 H⁺，使得氯酚具有一定的弱酸性，在碱性萃取体系中，氯酚更容易从沉积物样品中分离出来，与 NaOH 水溶液发生反应，生产酚盐。

3.3.4 小结

将亚临界水萃取技术应用于萃取沉积物中标准加入的氯酚类物质，考察了对 SBWE 萃取效率影响较大的三个因素，即萃取温度、萃取水 pH 值、萃取时间。通过三因素三水平的正交设计实验，我们确定的最佳萃取条件是：150℃，萃取时间为 80 分钟，萃取水 pH 值为 11。在此条件下，沉积物中的氯酚用 9mL 脱氧后的水进行 SBWE 萃取、萃取体系高速离心、调节萃取水样 pH 值到中性、微孔滤膜过滤、二氯甲烷液-液萃取，然后取 1 μL 进行 GC-ECD 检测。在后面的研究中，我们将进一步研究、应用优化萃取条件后的亚临界水萃取技术。

3.4 优化萃取条件后的 SBWE 的进一步研究

3.4.1 SBWE 萃取效率和分解产物情况

为了进一步研究 SBWE 的萃取效率，我们进行了如下实验。平行称取两份标准加入了六种氯酚的沉积物样品 1.500g，其中 2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP 的浓度为 4 μ g/g，2,4,6-TCP 的浓度为 1 μ g/g，PCP 的浓度为 0.2 μ g/g。一份样品中加入 9mL pH 值为 11 的脱氧高纯水，静置过夜，然后经过净化步骤，再进行 GC-ECD 检测。另一份样品按照前面实验确定的最佳萃取条件进行亚临界水萃取，然后经过净化步骤，再进行 GC-ECD 检测。

同时，我们还进行了一个对比实验，研究亚临界水萃取过程中的萃取对象分解情况。直接往 9mL pH 值为 11 的水中加入相同量的六种氯酚（不含沉积物），进行亚临界水萃取，然后调节萃取水 pH 值、与二氯甲烷液-液萃取，再进行 GC-ECD 检测。实验结果列于表 3.3，RSD 介于 1%~15% (n=3) 之间。

由表中数据可知，对于标准加入了六种氯酚的沉积物样品，经过亚临界水萃取后的回收率，远远高出静置过夜的萃取回收率，充分证明了亚临界水的萃取效率较高。同时可以看到，不含沉积物的样品，标准加入氯酚后进行亚临界水萃取，回收率基本上都接近于 100%，说明在亚临界水萃取过程中，没有发生明显的氯酚分解反应。

华中科技大学硕士学位论文

表 3.3 优化萃取条件后 SBWE 的对比实验 (回收率: %)

化合物	静置过夜的沉积物样品	SBWE 萃取的沉积物样品	SBWE 萃取的含氯酚水样
2-CP	30.7	98.4	109.7
2,4-DCP	35.2	83.6	97.5
4-CP	60.4	111.5	102.9
4-C-3-MP	51.6	99.5	98.3
2,4,6-TCP	16.0	72.6	92.6
PCP	27.1	80.9	76.7

3.4.2 SBWE 萃取含不同浓度氯酚类物质的沉积物样品

按照上面的优化萃取条件, SBWE 萃取含不同浓度氯酚类物质的沉积物样品 (1.500g), 各种氯酚类物质的萃取回收率列于表 3.4, RSD 介于 1%~15% (n=3) 之间。由表中数据可以看到, 在含量较低的情况下, SBWE 对沉积物中氯酚类物质的萃取回收率仍然较高, 有比较理想的萃取效率。例如 PCP 含量为 0.0131 μ g/g 的沉积物样品, 其萃取回收率仍然高达 96.2%。

表 3.4 亚临界水萃取含不同浓度氯酚类物质的沉积物样品

化合物	浓度 (μ g/g)	回收率 (%)	浓度 (μ g/g)	回收率 (%)	浓度 (μ g/g)	回收率 (%)
2-CP	3.800	96.5	1.267	91.2	0.253	113.0
2,4-DCP	3.400	74.3	1.133	92.5	0.227	71.7
4-CP	4.700	82.4	1.567	85.3	0.313	99.5
4-C-3-MP	3.760	91.9	1.253	127.6	0.627	114.2
2,4,6-TCP	0.880	107.0	0.293	107.7	0.059	86.5
PCP	0.200	98.6	0.067	98.9	0.013	96.2

3.4.3 SBWE 与 ACF 固相萃取的联用

有文献报道^{[4][9]}进行 SBWE 研究的时候, 针对被萃取物质的特性, 将 SBWE 与某些固相吸附材料联用, 以提高萃取效率。在我们的研究中, 我们也做了类似的尝试, 将 SBWE 与 ACF 固相吸附联用^{[59][60]}, 在亚临界条件下, 萃取沉积物样品中的氯酚类

华中科技大学硕士学位论文

物质。

准确称取 1.500g 标准加入了六种氯酚物质的沉积物样品，同时加入 0.5gACF（细线捆扎），一起进行亚临界水萃取。用于本实验的 ACF，事先经过索氏提取（1: 1 的丙酮/正己烷）6 小时，然后 200℃烘 4 小时，除去 ACF 中的有机杂质。按照上面的优化条件进行萃取，萃取后的水样经过高速离心、调节 pH 值为中性、微孔滤膜过滤、与二氯甲烷液-液萃取，进行 GC-ECD 检测。ACF 则用 1mL 二氯甲烷进行洗脱，在微型摇床上高速振荡半小时，将所得的二氯甲烷溶液进行 GC-ECD 检测。实验结果列于表 3.5，RSD 介于 1%~20% (n=3) 之间。

表 3.5 SBWE 与 ACF 固相萃取的联用

化合物	沉积物中浓度 ($\mu\text{g/g}$)	萃取水相中氯酚 的回收率(%)	ACF 洗脱液中氯酚 的回收率(%)	总回收率 (%)
2-CP	3.800	68.4	-	68.4
2,4-DCP	3.400	63.4	30.0	93.4
4-CP	4.700	95.0	17.1	112.1
4-C-3-MP	3.760	81.9	-	81.9
2,4,6-TCP	0.880	28.2	4.9	33.1
PCP	0.200	48.0	5.4	53.4

注：“-”为未检出

对比表 3.4 和表 3.5 中的数据可见，SBWE 与 ACF 固相萃取的联用，对于沉积物中氯酚的萃取效率，低于不含 ACF 吸附材料的萃取效率。对于 2-CP、2,4-DCP、4-CP 和 4-C-3-MP，在上述的萃取过程中，大部分停留在萃取水体系中，只有少量被 ACF 吸附，而 2,4,6-TCP 和 PCP 则可能大部分被 ACF 吸附。但是，在 ACF 的洗脱溶剂中，检测到六种氯酚的含量都很低，或者没有检测到。

分析其原因，之所以大部分氯酚仍然停留在萃取水体系中，而没有被 ACF 吸附，可能是因为我们采用的是碱性水来萃取沉积物中的氯酚，而 ACF 则是在酸性条件下对氯酚有很强的吸附能力。另外，吸附在 ACF 上的氯酚没有被洗脱完全。

虽然 SBWE 与 ACF 固相萃取的联用，对于沉积物中氯酚的萃取效率低于不加 ACF 吸附材料时的萃取效率，但这个研究工作给我们提供了一些思路，在将来进一步研究 SBWE 萃取固体环境样品中的其他有机物时，可以考虑加入 ACF，选择合适的萃取水

华中科技大学硕士学位论文

pH 值，可能会有令人满意的结果。

3.5 本章小结

亚临界水萃取技术用于萃取湖泊沉积物样品中的有机物，具有污染小、快速、设备简单、萃取效率高、重现性好等特点，是一种很好的绿色环境样品预处理技术。

在我们的研究中，选取标准加入了六种代表性氯酚（2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP、2,4,6-TCP 和 PCP）的湖泊沉积物样品，应用三因素三水平的正交设计实验，研究了萃取水的 pH 值、萃取温度和时间对萃取效率的影响，并利用正交分析，全面地比较影响各种氯酚回收率的因素，确定了 SBWE 的最佳条件。对实验中研究的六种氯酚，最佳的亚临界水萃取条件是：萃取温度 150℃，萃取水 pH 值为 11，萃取时间 80 分钟。

在最佳条件下，我们萃取测定了不同氯酚含量的沉积物样品，回收率基本都在 80%~115% 范围内，萃取效率比较理想。同时，我们还进一步研究了 SBWE 与 ACF 固相萃取的联用技术，为今后 SBWE 方面的工作提供了一定的研究思路。

4 微波辅助萃取应用于分析沉积物中氯酚的研究

4.1 引言

MAE 还是一种相当年轻的样品预处理方法，其主要特点是快速、高效、节省溶剂、污染小、萃取回收率高、选择性好，有利于萃取热不稳定的物质，避免长时间高温引起的样品分解，可实行多份试样同时处理，特别适合于处理大量样品。同时，仪器设备比较简单、操作简便、适应面较广。

近年来，微波辅助萃取已经在环境分析、农药分析、食品分析、药物分析、生化分析等领域得到广泛应用，在环境样品预处理的研究最多，主要集中在土壤、水体沉积物、环境灰尘和水中各种有机污染物的萃取分离上。萃取对象包括 PAHs、有机氯农药、PCBs、除草剂、邻苯二甲酸酯、杀虫剂、酚类化合物、甲基汞，也有萃取各种水样中农药、除草剂等物质的报道。例如，Stout S.J.^[45]等人用 0.1mol/L 的 NH₄OAc-NH₃ 水溶液，微波辅助萃取土壤中 10⁻⁹ 级的除草剂，平均回收率可达到 92%。Llompart M.P.^[61]等人在微波萃取土壤中的酚和甲基酚异构体时，在己烷中加入乙酸酐和吡啶作萃取剂，微波萃取的同时实现了酚类化合物的催化乙酰化，简化了操作步骤，缩短了样品处理时间。Onuska F.I.^[42]等人用 MAE 从水样中提取多氯联苯，回收率在 64.7%~85.5%。

在本章的研究工作中，我们选取标准加入了六种代表性氯酚（2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP、2,4,6-TCP 和 PCP）的湖泊沉积物样品，使用 MK-III型微波消解仪和聚四氟乙烯的萃取罐，应用正交设计试验研究了萃取水的 pH 值、溶剂体积、萃取压力和时间对萃取效率的影响，并利用正交分析，全面地比较各种影响氯酚回收率的因素，确定了 MAE 的最佳萃取条件。在最佳萃取条件下，微波辅助萃取含不同浓度氯酚类物质的沉积物样品，萃取效率与 SBWE 接近。

4.2 MAE 对沉积物中氯酚类物质萃取条件的优化研究

我们选取标准加入了四种氯酚（2-CP、2,4-DCP、4-CP 和 PCP）的湖泊沉积物样品，使用微波制样设备和聚四氟乙烯萃取罐，应用正交设计试验研究了萃取水的 pH

华中科技大学硕士学位论文

值、溶剂体积、萃取压力和时间对萃取效率的影响，并利用正交分析，全面地比较影响各种氯酚回收率的因素，确定了 MAE 的最佳条件。与控温的微波萃取系统不同，我们的微波萃取装置可控压不能控温。萃取压力和萃取温度相关，在密闭萃取系统中，在微波加热的过程中，随着压力的迅速升高（1~2 分钟内即可达到设定的压力），密闭罐内的温度也会随之升高。

用于标准加入回收实验的沉积物样品，先风干，然后过 100 目筛，在 300℃ 高温下烘 4 小时，高温除去沉积物中的有机质。准确称取适量烘干的沉积物样品，再准确移取适量的 2-CP、2,4-DCP、4-CP、和 PCP 标准储备液，混合均匀，放入棕色玻璃试剂瓶，置于通风柜中，待丙酮挥发完全后，放于 4℃ 冰箱中保存，至少陈化一周。

4.2.1 仪器与试剂

HP6890 气相色谱仪配 FID 检测器，使用的毛细管柱为 HP-1 (Crosslinked Methyl Siloxane, 30m×0.32mm×0.25 μ m film thickness), HP3398a 工作站, Hewlett-Packard, USA;

LG10-2.4A 离心机，北京医用离心机厂；

MK-III型微波消解仪，上海新科微波技术应用研究所；

DF200A 电子分析天平，中国轻工业机械总公司常熟衡器工业公司；

2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP、2,4,6-TCP 和 PCP 标准品，美国 SIGMA 公司；

二氯甲烷和丙酮，AR，天津化学试剂有限公司；

NaOH，AR，河南焦作市化工三厂；

盐酸，AR，武汉化学试剂厂；

PH 1-14 广泛试纸，上海试剂三厂；

超纯水由 EASY pure LF 的 Compact ultrapure water system 制备。

4.2.2 实验部分

我们用微波辅助萃取标准加入氯酚的沉积物样品，萃取前，先准确称取一定量的 NaOH 试剂，用超纯水配制 pH 值为 9、11、13 的碱性溶液。考察了对 MAE 萃取效率影响较大的四个因素，即萃取水 pH 值、溶剂体积、萃取压力、萃取时间，采用正交设计实验，四因素三水平正交实验表列于表 4.1。

华中科技大学硕士学位论文

表 4.1 SBWE 的正交设计实验参数

实验序号	萃取水 pH	萃取压力(0.1MPa)	萃取时间(min)	碱液体积(mL)
1	9	2	4	20
2	9	5	6	25
3	9	8	8	30
4	11	2	6	30
5	11	5	8	20
6	11	8	4	25
7	13	2	8	25
8	13	5	4	30
9	13	8	6	20

准确称取 5.000g 沉积物样品 (2-CP、2,4-DCP、4-CP、和 PCP 的浓度为 0.1mg/g)，置于聚四氟乙烯萃取罐中，加入适量的萃取水，塞好密封活塞，置于微波制样设备中，按照选定的萃取条件进行萃取。萃取结束后，待萃取罐冷却至室温，萃取溶液和沉积物样品经高速离心处理之后，用 1: 1 盐酸调节萃取水的 pH 值，然后将此水溶液经 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤，定容至 50mL，直接取 1 μ L 水样进行 GC-FID 色谱分析。

4.2.3 结果与讨论

4.2.3.1 MAE 的正交实验结果

以湖泊沉积物样品（事先高温除去有机质）中标准加入的四种氯酚为萃取分析对象，通过四因素三水平正交设计实验优选，确定微波辅助萃取这类样品的最佳萃取条件。采用“直观分析法”来分析各因素对萃取效率的影响，实验处理数据列于表 4.2 和图 4.1，RSD 介于 1%~15% (n=3) 之间。

华中科技大学硕士学位论文

表 4.2 微波辅助萃取沉积物中各种氯酚的正交实验分析表

2-CP	萃取水pH	萃取压力(0.1MPa)	萃取时间(min)	溶剂体积 (mL)	回收率(%)
1	9(1)	2(1)	4(1)	20(1)	90.5
2	9(1)	5(2)	6(2)	25(2)	81.7
3	9(1)	8(3)	8(3)	30(3)	88.1
4	11(2)	2(1)	6(2)	30(3)	96.2
5	11(2)	5(2)	8(3)	20(1)	67.5
6	11(2)	8(3)	4(1)	25(2)	81.4
7	13(3)	2(1)	8(3)	25(2)	70.6
8	13(3)	5(2)	4(1)	30(3)	86.3
9	13(3)	8(3)	6(2)	20(1)	75.9
ΣX_{1j}	260.3	257.3	258.2	233.9	
ΣX_{2j}	245.1	235.5	253.8	233.7	$\Sigma = 738.2$
ΣX_{3j}	232.8	245.4	226.2	270.6	
X1j	86.8	85.8	86.1	78.0	
X2j	81.7	78.5	84.6	77.9	
X3j	77.6	81.8	75.4	90.2	
极差T	9.2	7.3	10.7	12.3	

2,4-DCP	萃取水pH	萃取压力(0.1MPa)	萃取时间(min)	溶剂体积 (mL)	回收率(%)
1	9(1)	2(1)	4(1)	20(1)	66.4
2	9(1)	5(2)	6(2)	25(2)	56.8
3	9(1)	8(3)	8(3)	30(3)	54.4
4	11(2)	2(1)	6(2)	30(3)	62.8
5	11(2)	5(2)	8(3)	20(1)	44.3
6	11(2)	8(3)	4(1)	25(2)	46.8
7	13(3)	2(1)	8(3)	25(2)	61.2
8	13(3)	5(2)	4(1)	30(3)	60.4
9	13(3)	8(3)	6(2)	20(1)	75.9
ΣX_{1j}	177.6	190.4	173.6	186.6	
ΣX_{2j}	153.9	161.5	195.5	164.8	$\Sigma = 529.0$
ΣX_{3j}	197.5	177.1	159.9	177.6	
X1j	59.2	63.5	57.9	62.2	
X2j	51.3	53.8	65.2	54.9	
X3j	65.8	59.0	53.3	59.2	
极差T	14.5	9.7	11.9	7.3	

华中科技大学硕士学位论文

4-CP	萃取水pH	萃取压力(0.1MPa)	萃取时间(min)	溶剂体积 (mL)	回收率(%)
1	9(1)	2(1)	4(1)	20(1)	76.7
2	9(1)	5(2)	6(2)	25(2)	79.5
3	9(1)	8(3)	8(3)	30(3)	83.3
4	11(2)	2(1)	6(2)	30(3)	77.2
5	11(2)	5(2)	8(3)	20(1)	84.7
6	11(2)	8(3)	4(1)	25(2)	76.8
7	13(3)	2(1)	8(3)	25(2)	94.4
8	13(3)	5(2)	4(1)	30(3)	79.1
9	13(3)	8(3)	6(2)	20(1)	81.8
$\Sigma X1j$	239.5	248.3	232.6	243.2	
$\Sigma X2j$	238.7	243.3	238.5	250.7	$\Sigma = 733.5$
$\Sigma X3j$	255.3	241.9	262.4	239.6	
X1j	79.8	82.8	77.5	81.1	
X2j	79.6	81.1	79.5	83.6	
X3j	85.1	80.6	87.5	79.9	
极差T	5.5	2.2	10.0	2.7	

PCP	萃取水pH	萃取压力(0.1MPa)	萃取时间(min)	溶剂体积 (mL)	回收率(%)
1	9(1)	2(1)	4(1)	20(1)	98.3
2	9(1)	5(2)	6(2)	25(2)	51.4
3	9(1)	8(3)	8(3)	30(3)	39.2
4	11(2)	2(1)	6(2)	30(3)	47.4
5	11(2)	5(2)	8(3)	20(1)	40.6
6	11(2)	8(3)	4(1)	25(2)	35
7	13(3)	2(1)	8(3)	25(2)	14
8	13(3)	5(2)	4(1)	30(3)	8.7
9	13(3)	8(3)	6(2)	20(1)	9.8
$\Sigma X1j$	188.9	159.7	142	148.7	
$\Sigma X2j$	123	100.7	108.6	100.4	$\Sigma = 344.4$
$\Sigma X3j$	32.5	84	93.8	95.3	
X1j	63.0	53.2	47.3	49.6	
X2j	41.0	33.6	36.2	33.5	
X3j	10.8	28.0	31.3	31.8	
极差T	52.2	25.2	16.0	17.8	

华中科技大学硕士学位论文

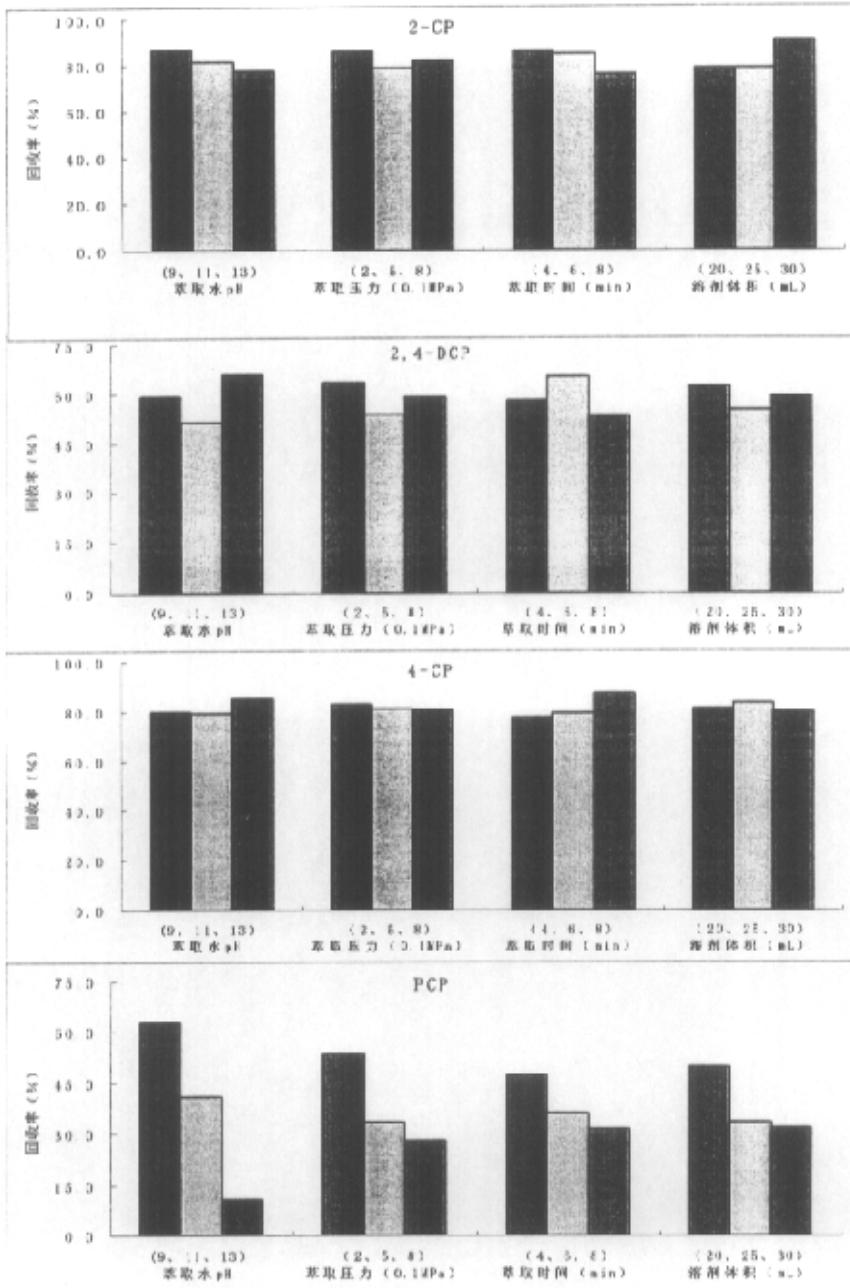


图 4.1 影响 MAE 的四因素与回收率关系图

华中科技大学硕士学位论文

4.2.3.2 萃取溶剂的 pH 值

在正交实验中，我们比较了 pH 值为 9、11、13 三个水平的萃取水溶液，从上面的图中可以看到，对于 4-CP，萃取水溶液碱性强度的变化，对萃取回收率的影响不大。但是，对于 2-CP 和 PCP，则随着萃取溶剂 pH 值的降低，萃取回收率上升，尤其是对 PCP 的萃取存在这个明显的趋势，弱碱性水溶液的萃取效率高于强碱性水溶液的萃取效率。而对于 2,4-DCP，溶剂 pH 值对萃取效率的影响，没有比较明显的规律，强碱性和弱碱性的萃取回收率都高于 pH 值为 11 时的萃取效率。

整体看来，在萃取沉积物样品中的氯酚类物质时，选择 pH 值为 9 的水溶液作为萃取溶剂，微波辅助萃取的效率较好。氯酚类物质的分子结构上含有一个羟基，能电离出 H^+ ，使得氯酚具有一定的弱酸性，在弱碱性萃取体系中，氯酚与 NaOH 水溶液发生反应，生产酚盐，更容易从沉积物中被萃取出来。

4.2.3.3 萃取压力的影响

我们研究了 0.2 MPa、0.5 MPa、0.8 MPa 三个水平的萃取压力，发现对于四种氯酚，均在 0.2 MPa 时萃取回收率最高。分析其原因，可能是因为压力太大时，萃取体系温度上升过高，会导致部分氯酚发生分解，从而降低了萃取回收率。因此，采用微波辅助萃取湖泊沉积物中的氯酚类物质时，比较合理的萃取压力是 0.2 MPa。

4.2.3.4 萃取时间的影响

对于萃取时间，我们研究了 4 分钟、6 分钟、8 分钟三个水平。从上面的数据可以看到，萃取时间对这四种氯酚萃取效率的影响，没有比较一致的规律。2-CP 和 PCP 的萃取回收率，随着时间的延长而降低，4-CP 的萃取回收率则随着时间的延长而升高，2,4-DCP 在 6 分钟时的萃取回收率最高。

可能是因为不同的氯酚，由于其性质不同，所以最佳的萃取时间不同。对于有些氯酚物质，随着萃取时间延长，反而会导致萃取出来的物质重新分配到沉积物样品中，而对于其他的氯酚物质，萃取时间太短，可能没有达到萃取平衡。综合来看，当我们采用微波辅助萃取沉积物样品中的多种氯酚时，兼顾萃取时间对各种氯酚回收率的影响趋势，选择 6 分钟比较合理。

4.2.3.5 溶剂体积的影响

我们采用微波辅助萃取 5.000g 沉积物样品（各种酚的浓度均为 0.1mg/g）中的氯酚时，萃取溶剂选择了 20mL、25mL、30mL 三个水平进行研究。对于 2-CP、2,4-DCP、

华中科技大学硕士学位论文

4-CP，萃取溶剂体积的变化对萃取回收率影响不大，PCP 的萃取回收率则随萃取溶剂体积的增加而降低。

考虑到萃取罐容积较小，如果萃取溶液体积过大，容易引起微波加热损失，因此最好不要选用过量的溶剂进行萃取。同时，萃取样品质量、被萃取物质浓度的变化，都会对萃取效率有影响，我们在后面的研究工作中，应根据具体的分析对象，选择合适的萃取溶剂体积。

4.2.4 小结

将微波辅助萃取技术应用于萃取沉积物中标准加入的氯酚类物质，研究了对 MAE 萃取效率有影响的四个因素，即萃取溶剂的 pH 值、溶剂体积、萃取压力和萃取时间。通过四因素三水平的正交设计实验，我们确定的最佳萃取条件是：0.2MPa，萃取时间为 6 分钟，萃取溶剂 pH 值为 9，至于萃取溶剂体积，则根据具体研究情况而进行合理选择。在此条件下，沉积物中的氯酚类物质经过 MAE 萃取、萃取体系高速离心、调节萃取水样 pH 值、微孔滤膜过滤、定容，然后取 $1\mu\text{L}$ 进行 GC-FID 检测。在后面的研究中，我们将进一步研究、应用优化萃取条件后的微波辅助萃取技术。

4.3 优化萃取条件后的 MAE 的研究应用

4.3.1 MAE 萃取效率和分解产物情况

为了进一步研究 MAE 的萃取效率，我们做了如下实验。准确称取标准加入了氯酚的沉积物样品 5.000g，其中 2-CP、2,4-DCP、4-CP、PCP 的含量均为 $500\mu\text{g}$ 。加入 20mL pH 值为 9 的萃取溶剂，在 0.2MPa 下微波萃取 6 分钟，然后经过净化步骤，再进行 GC-FID 检测。同时，我们还做了一个对比实验，研究微波辅助萃取过程中的萃取对象的分解情况。直接往 20mL pH 值为 9 的水中加入相同量的氯酚（不含沉积物），进行微波辅助萃取，然后调节萃取水 pH 值、定容，再进行 GC-FID 检测。实验结果列于表 4.3，RSD 介于 1%~15% ($n=3$) 之间。

华中科技大学硕士学位论文

表 4.3 优化萃取条件后 MAE 的对比实验 (回收率: %)

化合物	静置过夜的沉积物样品 ^a	MAE 萃取的沉积物样品	MAE 萃取的含氯酚水样
2-CP	30.7	97.7	109.6
2,4-DCP	35.2	83.1	114.0
4-CP	60.4	92.8	106.0
PCP	27.1	81.6	97.5

^a 为前面表 3.3 中的测试数据

由上表数据可知, 对于标准加入氯酚的沉积物样品, 经过微波辅助萃取后的回收率, 远远高出静置过夜的萃取回收率, 充分证明了微波加热的萃取效率。同时可以看到, 不含沉积物的样品, 标准加入氯酚后进行微波辅助萃取, 回收率基本上都接近于 100%, 说明在微波加热的过程中, 没有发生明显的氯酚分解反应。

4.3.2 MAE 萃取含不同浓度氯酚类物质的沉积物样品

按照上面的优化萃取条件, MAE 萃取含不同浓度氯酚类物质的沉积物样品 (1.500g), 与正交实验相比, 样品质量减少了, 氯酚的含量也降低了, 我们取 pH 值为 9 的水溶液 9mL, 0.2MPa 的压力下萃取 6 分钟, 经过高速离心、调节 pH 值至中性、过 0.45 μ m 微孔滤膜、2mL 二氯甲烷液-液萃取, 然后取样 1 μ L 进行 GC-ECD 检测。各种氯酚类物质的萃取回收率列于表 4.4, RSD 介于 1%~15% (n=3) 之间。由表中数据可以看到, 在含量较低的情况下, MAE 对沉积物中氯酚类物质的萃取回收率仍然较高, 有比较理想的萃取效率。对比表 3.4 和表 4.4 中的数据, MAE 对沉积物中各种氯酚的萃取效率与 SBWE 相近, 或者略低。

表 4.4 微波辅助萃取含不同浓度氯酚类物质的沉积物样品

化合物	浓度 (μ g/g)	回收率 (%)	浓度 (μ g/g)	回收率 (%)	浓度 (μ g/g)	回收率 (%)
2-CP	1.267	85.5	0.633	103.3	0.253	99.9
2,4-DCP	1.333	89.5	0.567	92.7	0.227	83.5
4-CP	1.567	78.3	0.783	75.0	0.313	124.7
4-C-3-MP	3.760	57.7	1.253	107.5	0.627	78.0
2,4,6-TCP	0.293	83.0	0.147	99.1	0.059	101.1
PCP	0.067	99.4	0.033	86.1	0.013	78.8

华中科技大学硕士学位论文

4.3.3 MAE、SBWE 和其他萃取方法的比较

我们采用优化萃取条件后的 MAE、SBWE 萃取沉积物样品中的氯酚类物质，MAE 的萃取回收率高达 75%~120%，SBWE 的萃取回收率高达 80%~115%。将所得的数据，与其他一些参考文献的结果进行比较，具体数据列于表 4.5。

表 4.5 本研究中的 SBWE、MAE 与其他萃取技术的比较

萃取技术	样品量 (g)	萃取 时间	溶剂	检测 方法	氯酚类物质 回收率(%)	参考 文献
MAE	1.500	6min	9mL 碱性水	GC-ECD	75-120	本研究
SBWE	1.500	80min	9mL 碱性水	GC-ECD	80-115	本研究
微波萃取	5.000	20min	30mL 丙酮/正己烷	GC-FID	55-79	23
直接提取	0.1-10	10min	50mL 0.1M 碱性水	GC-MS	79-84	62
索氏提取	1.000	24h	150mL 甲烷/丙酮	GC-MS	54-81	63

通过上表中的数据可见，与传统的索氏提取技术相比，我们研究的萃取方法使用的萃取溶剂少、污染小、操作简便、快速。而一般文献报道的微波辅助萃取，都是采用有机溶剂，对环境造成一定的污染，回收率也只有 80% 左右。

我们研究的亚临界水萃取和微波碱液萃取技术，与其他文献报道的方法相比，在萃取固体环境样品中的氯酚类物质时，不仅有更好的萃取回收率，而且不涉及有机溶剂，对环境没有二次污染，快速，操作步骤简单，萃取条件温和，优于这些传统萃取技术。

4.4 本章小结

微波辅助萃取技术用于萃取湖泊沉积物样品中的有机物，具有快速、高效、节省溶剂、污染小、选择性好、设备简单、有利于萃取热不稳定的物质、避免长时间高温引起的样品分解等优点。

在我们的研究中，选取标准加入了四种代表性氯酚（2-CP、2,4-DCP、4-CP 和 PCP）的湖泊沉积物样品，应用四因素三水平的正交设计实验，研究了萃取水的 pH 值、萃取压力、萃取时间和溶剂体积对萃取效率的影响，并利用正交分析，全面地比较影响各种氯酚回收率的因素，确定了 MAE 的最佳条件。对实验中研究的几种氯酚，

华 中 科 技 大 学 硕 士 学 位 论 文

最佳的微波辅助萃取条件是：萃取压力 0.2MPa，萃取水 pH 值为 9，萃取时间 6 分钟，溶剂体积根据具体分析对象而定。

在最佳条件下，我们萃取测定了不同氯酚含量的沉积物样品，回收率基本都在 75%~120% 范围内，与亚临界水萃取效率相当或者略微低一些，跟文献报道的传统技术相比，萃取效率更高。

5 实际样品测定

5.1 引言

实际样品采集于曾被有机氯化合物严重污染的鸭儿湖地区，已经有文献报道在鸭儿湖沉积物中发现高含量的持久性有机物，如 PCDD/F、PCBs、HCH(六氯环己烷)、HCB (六氯苯) 等^{[54][55][56]}。这些污染物通过各种途径释放，再通过食物链转移，对周围的环境存在着极大的潜在危害。在过去的几年中，鸭儿湖地区已出现大量的畸形鱼，周围居民肝病发病率高，这很可能与鸭儿湖中的污染物有关^[58]。鸭儿湖中的这些持久性有机污染物，主要来自于附近的一个氯碱生产基地，在这家化工厂中，有一个生产工艺是由六氯环己烷为原料，经过多步反应生产五氯酚钠。鸭儿湖湖区中的严家湖曾作为氧化塘来处理该化工厂的废水，我们可以推断鸭儿湖各氧化塘的沉积物中，可能含有多种氯酚类污染物。

实际沉积物样品中一般富含有机质，如腐质酸，这些物质对亚临界水萃取和微波辅助萃取的影响有待研究。我们将前面优化的 SBWE 和 MAE 应用于实际沉积物样品的预处理，研究沉积物中各种有机成分对氯酚类物质萃取回收率的影响。

5.2 SBWE 和 MAE 应用于实际样品预处理的研究

5.2.1 仪器与试剂

HP6890 气相色谱仪配 ECD 检测器，使用的毛细管柱为 HP-1 (Crosslinked Methyl Siloxane, 30m × 0.32mm × 0.25 μ m film thickness)，HP3398a 工作站，Hewlett-Packard, USA；

LG10-2.4A 离心机，北京医用离心机厂；

不锈钢亚临界水萃取罐，容积 15mL，圆柱型，内径 1.8cm，进行样品萃取时，顶端用聚四氟乙烯垫片和不锈钢螺母密闭；

MK-III型微波消解仪，上海新科微波技术应用研究所；

DF200A 电子分析天平，中国轻工业机械总公司常熟衡器工业公司；

华中科技大学硕士学位论文

SX2-4-13 型可控电炉，武汉电炉实验炉厂；
电热套 KDM-500ML 可调控温电热套，山东鄄城；
索氏提取玻璃仪器；
ZFQ85A 旋转蒸发仪，上海医械专机厂；
Apollo9000 总有机碳（TOC）测定仪，Tekmar-DOHRMANN, USA；
2-CP、2,4-DCP、4-CP、4-C-3-MP、2,4,6-TCP 和 PCP 标准品，美国 SIGMA 公司；
二氯甲烷和丙酮，AR，天津化学试剂有限公司；
正己烷，AR，天津市博迪化工有限公司；
NaOH，AR，河南焦作市化工三厂；
PH 1-14 广泛试纸，上海试剂三厂；
超纯水由 EASYpure LF 的 Compact ultrapure water system 制备。

5.2.2 沉积物样品的性质研究

为了研究实际沉积物样品中有机质对 SBWE 和 MAE 萃取效率的影响，在进行萃取研究前，我们先测定鸭儿湖五个塘沉积物样品的含水率和总有机碳（TOC）。

样品脱水风干后，测定其含水率，具体操作是：称取 5.000g(平行两份)样品，加入到恒重的瓷坩埚中，100℃烘箱中恒温 5 小时，然后取出坩埚置于干燥器中冷却至室温、恒重，按下式计算含水率。

$$\text{含水量} (\%) = \frac{\text{风干水样} - \text{烘干样重}}{\text{风干样重}} \times 100\%$$

样品的 TOC 值，表示的是样品中有机物质的总含碳量，单位为 mg/g。我们在研究中使用 Apollo9000 总有机碳测定仪，采用的方法为燃烧氧化-非分散红外吸收法。在测定样品前，先用 40 μL 2000mg/L 的邻苯二甲酸氢钾标准溶液进行校正，确定标准曲线。在样品分析时，按仪器的 TOC 测定模式进行基线校正，然后测定风干样品中的总有机碳含量。

华中科技大学硕士学位论文

表 5.1 鸭儿湖五个塘沉积物样品的参数测定

	1号塘	2号塘	3号塘	4号塘	5号塘
含水率 (%)	4.00	2.04	2.04	5.16	5.68
TOC (mg/g)	283.7	28.7	53.2	68.9	44.7

表 5.1 中所列的数据为鸭儿湖五个塘中沉积物样品的含水率和总有机碳含量。从表中数据可见，这五个塘沉积物中总有机碳的含量，1 号塘的测定值远远高出其他四个塘中总有机碳含量。分析其原因，因为从附近氯碱厂排出的污水，首先流经 1 号塘然后才过渡到 2 号、3 号、4 号、5 号塘，在过渡的过程中，水体具有一定的自净能力，有机物会降解。离污水排放口越近，塘中沉积物样品的总有机碳含量越高，所以 1 号塘中沉积物的 TOC 值高出其他四个塘中的测定值。

5.2.3 实际样品的标准加入回收实验

5.2.3.1 索氏提取

分别准确称取 1 号塘、2 号塘、3 号塘、4 号塘、5 号塘的沉积物样品 5.000g，平行进行索氏提取。用滤纸包好放入索氏提取器中，用 200mL 丙酮/正己烷 (1: 1) 作为萃取溶剂，低温回流 20 小时 (20 分钟左右回流一次)，冷却后，将萃取溶剂进行旋转蒸发，浓缩到 2~3mL，用 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤，定容至 5mL，然后进 GC 测定。

索氏提取后检测到的各种氯酚及其浓度，具体数据将在下一节中列出。在这五个氧化塘中，都没有检测到 2,4-DCP，因此，我们可以考虑往这五种沉积物样品中，标准加入 2,4-DCP，然后进行亚临界水萃取和微波辅助萃取实验，研究沉积物中有机质对氯酚萃取回收率的影响。

5.2.3.2 亚临界水萃取

平行称取五个氧化塘沉积物样品，标准加入 2,4-DCP，每份样品中 2,4-DCP 的含量是 0.710 μ g/g，陈化一周，然后进行亚临界水萃取实验。按照前面研究的最佳萃取条件，取 9mL pH 值为 11 的碱性溶剂（萃取前用氮气脱氧）和 1.500g 沉积物样品加入到不锈钢萃取罐中，密封，150℃下萃取 80 分钟。之后，迅速用自来水冷却，萃取后的沉积物样品和水溶液经过高速离心、盐酸调节 pH 值、微孔滤膜过滤、2mL 二氯

华中科技大学硕士学位论文

甲烷液-液萃取，然后取 $1\mu\text{L}$ 进行 GC-ECD 检测。

5.2.3.3 微波辅助萃取

称取标准加入了 2,4-DCP 的沉积物样品 1.500g ，按照优化条件进行微波辅助萃取。将样品与 9mL pH 值为 9 的碱性溶剂一并加入到聚四氟乙烯萃取罐中，密封， 0.2MPa 下萃取 6 分钟。冷却至室温，萃取后的沉积物样品和水溶液经过高速离心、盐酸调节 pH 值、微孔滤膜过滤、 2mL 二氯甲烷液-液萃取，然后取 $1\mu\text{L}$ 进行 GC-ECD 检测。

5.2.3.4 实验结果与讨论

对于上述标准加入了 2,4-DCP 的沉积物样品，经过亚临界水萃取和微波辅助萃取后的萃取回收率列于表 5.2，RSD 介于 $1\% \sim 10\%$ ($n=3$) 之间。

表 5.2 实际样品的标准加入回收实验

沉积物样品	TOC (mg/g)	含水率 (%)	SBWE 回收率(%)	MAE 回收率(%)
1 号塘	283.7	4.00	56.6	66.7
2 号塘	28.7	2.04	76.6	84.1
3 号塘	53.2	2.04	83.5	96.4
4 号塘	68.9	5.16	76.3	87.2
5 号塘	44.7	5.68	87.0	90.6

将表 5.2 中的数据和表 3.3、表 3.4、表 4.3、表 4.4 进行对比，可以发现，采用相同的条件亚临界水萃取或者微波辅助萃取沉积物中标准加入的 2,4-DCP，对于事先高温烘烤过的沉积物样品，氯酚的回收率显著高于没有高温烘烤过的实际沉积物样品。这说明沉积物中的 TOC 或者含水率对 SBWE 和 MAE 的萃取效率有影响，而且对 SBWE 的影响程度大于对 MAE 的影响。

表 5.2 中的数据显示，沉积物样品的 TOC 值与 2,4-DCP 的萃取回收率之间有一定的联系，1 号塘沉积物的 TOC 显著高于其他四个氧化塘沉积物的 TOC，不论采用亚临界水萃取还是微波辅助萃取，1 号塘中 2,4-DCP 的回收率都明显低于其他四份样品中的回收率。2 号塘、3 号塘、4 号塘、5 号塘沉积物的 TOC 值接近，2,4-DCP 的萃取回收率也比较接近。很明显，随着沉积物中有机质含量的增加，2,4-DCP 的回收率降低。

分析其原因，可能是因为沉积物中的有机质对氯酚有一定的吸附能力，随着有机

华中科技大学硕士学位论文

质含量的增加，亚临界水或者微波加热萃取水越难将氯酚从样品基体中萃取出来。因此，采用 SBWE 或者 MAE 分析测定实际沉积物样品中的有机污染物时，必须考虑到样品中有机质的影响，必要时需要加入内标进行校正。

另外，从表 5.2 中看不到含水率对萃取回收率有明显的影响趋势，可能是因为我们采用的萃取溶剂是水，所以样品含水率对萃取效率影响不大。

5.3 实际沉积物样品的测定

前面的研究中，我们建立了 SBWE 和 MAE 萃取分析沉积物样品中氯酚类物质的绿色分析技术，与其他传统技术相比，具有污染小、仪器简便、操作简单、快速、回收率高、重现性好等特点。我们应用这两种萃取技术对鸭儿湖五个氧化塘沉积物样品进行分析，SBWE 和 MAE 的萃取条件按照前面的优化确定条件，并与索氏提取结果进行比较。

因为首先采用索氏提取测定过这五份沉积物样品中的氯酚，没有检测到 2,4-DCP，所以我们采用亚临界水萃取和微波辅助萃取技术时，加入了 2,4-DCP 作为内标，进行校正。每份萃取试样为 1.500g 沉积物，加入的 2,4-DCP 含量为 $1 \mu\text{g}$ ，测定结果如表 5.3 所示。

从表中数据可知，亚临界水萃取和微波辅助萃取对鸭儿湖五个氧化塘的氯酚分析结果比较接近，测得得各种氯酚含量略微高于索氏提取结果，不过结果也基本一致。

对于这五个氧化塘，1 号塘的污染比较严重，其中 2-CP、2,4-DCP 和 PCP 的浓度较高，在其他四个氧化塘的沉积物样品中，也都检测到了 2-CP、2,4-DCP 和 PCP。目前，这几个氧化塘都用于渔业养殖，可以预见，沉积物中的这些氯酚类污染物，一旦从沉积物中释放出来，进入到水体，对渔业养殖会造成污染。现在已经在这些氧化塘中发现了畸形鱼，一旦这些富集了一定含量有机污染物的渔业产品进入到市场，通过食物链进入人体，对消费者的危害不容忽视，需要引起相关部门的重视。

从实际样品的测定结果也可看出，亚临界水萃取技术和微波辅助萃取技术可以成功的分析沉积物中的氯酚类污染物，相对标准偏差介于 $1\% \sim 13\%$ ，重现性高，能够满足这类有机污染物的分析测定。

华中科技大学硕士学位论文

表 5.3 鸭儿湖五个氧化塘氯酚检测结果 (n=3)

化合物	氧化塘	SBWE		MAE		索氏提取	
		含量(μg/g)	RSD(%)	含量(μg/g)	RSD(%)	含量(μg/g)	RSD(%)
2-CP	1	0.408	1.6	0.489	8.3	0.588	3.6
	2	0.260	5.1	0.170	2.3	0.701	3.2
	3	0.278	6.5	0.338	11.5	0.155	3.1
	4	0.166	9.5	0.231	5.4	0.195	4.8
	5	0.360	6.3	0.400	7.7	0.386	4.2
4-CP	1	-	-	0.411	6.1	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	0.360	12.31	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
4-C-3MP	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
2,4,6-TCP	1	0.047	7.5	0.055	1.7	-	-
	2	0.013	4.6	0.018	3.7	-	-
	3	0.035	12.9	0.024	2.1	-	-
	4	0.055	5.6	0.059	8.4	-	-
	5	0.006	5.3	-	-	-	-
PCP	1	0.039	9.7	0.041	7.4	-	-
	2	0.048	1.7	0.039	2.3	-	-
	3	0.052	7.4	0.043	4.5	0.065	3.6
	4	0.050	7.3	0.056	5.4	-	-
	5	0.042	8.1	0.064	6.5	-	-

5.4 本章小结

在本章的研究中，我们进一步研究了亚临界水萃取和微波辅助萃取应用于实际样品分析时，受到实际样品中有机质的影响情况。在沉积物样品中 TOC 值较大的情况下，SBWE 和 MAE 对氯酚类物质的萃取回收率明显降低。因此，我们在测定实际沉积物样品中未知浓度的氯酚类物质的时候，必须通过标准加入内标，进行测定值的校正，获得比较真实的测定值。

我们按照正交设计实验中确定的最佳萃取条件，对鸭儿湖五个氧化塘的沉积物样品，分别采用亚临界水萃取、微波辅助萃取和索氏提取，加入 2,4-DCP 作为内标进行校正，测定湖泊沉积物受氯酚类物质的污染状况，测定的相对标准偏差介于 1%~13%，重现性好。为研究污染物在水环境中的分布、迁移规律以及合理治理地表水污染提供依据。

研究表明，采用亚临界水萃取和微波辅助萃取技术，无毒无害，快速、高效、设备简单、操作简便、选择性好，可有效的萃取沉积物中的有机污染物，都是理想的绿色分析技术。对于固体环境样品，符合样品中痕量有机污染物的分析要求，分析结果与传统的索氏提取分析结果基本一致。

6 结论与展望

绿色分析技术已成为国际分析化学的前沿，其目标是利用环境友好的方法和原理，尽量不用或少用有害化学试剂，将环境污染减少到最低限度。本文通过研究，分别建立了沉积物样品中氯酚类污染物的两种绿色萃取技术，即亚临界水萃取和微波辅助萃取，并成功用于实际样品的分析，主要研究成果有以下几点：

- 1、定了六种氯酚的气相色谱-电子捕获检测器（GC-ECD）分析条件，并测定了各种氯酚的标准曲线、检出限及定量测定限，其检出限介于 $0.05 \mu\text{g/L} \sim 30 \mu\text{g/L}$ 之间，定量测定限介于 $0.5 \mu\text{g/L} \sim 100 \mu\text{g/L}$ 之间；
- 2、研究了亚临界水萃取技术应用于萃取沉积物样品中氯酚类物质的最佳萃取条件，通过正交设计实验，确定的最佳的萃取条件是：pH 值为 11 的碱性水溶液作为萃取溶剂，在 150°C 下萃取 80 分钟，在此优化条件下，将亚临界水萃取应用于标准加入了氯酚的沉积物样品的预处理，对于氯酚浓度在 $0.01 \mu\text{g/g}$ 级别的样品，萃取回收率可达到 $80\% \sim 115\%$ ，相对标准偏差介于 $1\% \sim 15\%$ (n=3)之间，是一种有效的样品预处理技术；
- 3、进一步研究了亚临界水萃取技术和活性炭纤维固相萃取的联用技术，虽然 SBWE 与 ACF 固相萃取的联用，对于沉积物中氯酚的萃取效率不是很理想，但是，可以考虑调节萃取水的 pH 值，将 SBWE-ACF 应用于其他有机物的萃取，为今后的研究工作提供了一定的思路；
- 4、研究了微波辅助萃取技术应用于萃取沉积物样品中氯酚类物质的最佳萃取条件，通过正交设计实验，确定的最佳的萃取条件是：pH 值为 9 的碱性水溶液作为萃取溶剂，在 0.2MPa 下萃取 6 分钟，在此优化条件下，将微波辅助萃取应用于标准加入了氯酚的沉积物样品的预处理，对于氯酚浓度在 $0.01 \mu\text{g/g}$ 级别的样品，萃取回收率可达到 $75\% \sim 120\%$ ，相对标准偏差介于 $1\% \sim 15\%$ (n=3)之间，萃取效率高，重现性好，快速，是一种理想的样品预处理技术；
- 5、将优化了萃取条件的 SBWE 和 MAE 应用于标准加入氯酚的实际底泥样品的预处理，研究了实际样品中有机质含量对萃取效率的影响，发现随着样品中 TOC 值的增加，SBWE 和 MAE 的萃取效率降低，因此将这两种绿色萃取技术应用于实际样

华中科技大学硕士学位论文

品分析时，必须考虑到样品中各种有机质的影响，萃取时必须加入合适的内标进行校正；

6、将 SBWE 和 MAE 应用于鸭儿湖五个氧化塘沉积物样品中氯酚类物质的分析测定，通过加入内标，检测到了多种氯酚类物质的存在，SBWE 与 MAE 的萃取结果比较一致，相对标准偏差介于 1%~13% (n=3) 之间，重现性好，萃取结果优于传统的索氏提取效率，符合痕量分析要求。

本文的主要创新点：

应用自行设计的亚临界水萃取装置，设备简单，操作简便，并建立了湖泊沉积物中痕量氯酚类物质的预处理方法；在亚临界水萃取和微波辅助萃取中，针对氯酚类物质的特性，采用碱性水溶液作为萃取溶剂，避免使用有机溶剂，萃取效率较高。

本文虽然在沉积物样品中氯酚类物质的样品预处理技术方面做了一定的研究工作，但在该领域还有许多工作可做，在本文的基础上，有待进一步开展的研究工作主要有：

1、目前我们采用的是静态的亚临界水萃取技术，如果能进一步开发、研究动态的亚临界水萃取技术，同时与大型的分析检测仪器联用，提高这种技术的自动化水平，其主要难点在于各种联接技术的接口研究上；

2、将亚临界水萃取技术应用于固体环境样品中极性更弱的有机物测萃取时，在萃取结束后的降温、降压过程中，非极性有机物很容易重新分配到样品基体中，这也是一个亟需解决的问题，SBWE 与其他技术（如固相萃取）的联用为解决这一关键问题提供了一种可能的方向；

3、微波辅助萃取技术主要还是作为一种样品预处理技术，其研究处于初期阶段，鉴于样品基体和萃取体系的复杂性，其萃取机理有待进一步研究、探讨；

4、微波辅助萃取技术比亚临界水萃取技术，更难在仪器设计上实现突破，如果能使之与检测仪器实现在线联机，则该方法会获得更强大的生命力；

5、亚临界水萃取技术和微波辅助萃取技术作为一种绿色样品预处理技术，除应用于沉积物样品的预处理研究以外，还可以进一步扩大它们的应用范围，尝试用于土壤、生物样品等多种固体、半固体样品中各种有机物质的萃取分离。

致 谢

首先感谢我的导师陆晓华教授，在科研工作上，她悉心指导，循循善诱，给予我极大的鼓励和支持，使论文得以顺利进行。她在工作中积极向上，持之以恒，严谨治学，为人处事通达乐观，充满热情与活力，这种工作与生活态度将影响我一生。

黄卫红副教授在我的研究工作中倾注了无数心血，给予我很多指导与帮助，在此我表示深深的感谢。王琳玲老师在我的研究工作中，从各个方面都给了我很大的帮助，在此向她表示感谢。同时也要感谢仪器实验室的王秀萍老师对我实验工作的支持和帮助。

感谢杜冬云、吴晓辉、郭梅、郑钢、周珊、赵小蓉、金伟、杨海等同学在研究工作及生活学习上给予我的支持和帮助。

感谢室友巩建英、雷燕，三年来我们携手并进，共同度过了许多难忘的美好时光。

最后衷心感谢我的家人对我的支持和鼓励，是他们的关怀和爱护使我的论文得以顺利完成。

再次向所有帮助我、关心我的老师、同学、朋友致以最衷心的感谢！

邵秀梅

2003年4月

参考文献

- [1] Anastas P T. Green chemistry and the role of analytical methodology development. Critical reviews in analytical chemistry, 1999, 29(3):167
- [2] Yu Yang, Maya Belghazi, Arnaud Lagadec, et al. Elution of organic solutes from different polarity sorbents using subcritical water. Journal of Chromatography A, 1998, 810:149~159
- [3] Bin Li, Yu Yang, Youxin Gan, et al. On-line coupling of subcritical water extraction with high-performance liquid chromatography via solid-phase trapping. Journal of Chromatography A, 2000, 873:175-184
- [4] Audrey E. McGowin, Kafui K. Adom, Anne K. Obubuafo. Screening of compost for PAHs and pesticides using static subcritical water extraction. Chemosphere, 2001, 45:857~864
- [5] Toshio Yamaguchi. Structure of subcritical and supercritical hydrogen-bonded liquids and solutions. Journal of Molecular Liquids, 1998, 78:43~50
- [6] 吴仁铭. 亚临界水萃取在分析化学中的应用. 化学进展, 2002, 14(1):32~36
- [7] Hartonen K., Inkala K., Kangas M., et al. Extraction of polychlorinated biphenyls with water under subcritical conditions. Journal of Chromatography A, 1997, 785:219~226
- [8] Steven B. Hawthorne, Carol B. Grabanski, Kimberly J. Hageman, et al. Simple method for estimating polychlorinated biphenyl concentrations on soils and sediments using subcritical water extraction coupled with solid-phase microextraction. Journal of Chromatography A, 1998, 814:151~160
- [9] S.B. Hawthorne, S. Trembley, C.L. Moniot, et al. Static subcritical water extraction with simultaneous solid-phase extraction for determining polycyclic aromatic hydrocarbons on environmental solids. Journal of Chromatography A, 2000, 886:237~244
- [10] M.M. Jimenez-Carmona, V. Fernandez-Perez, M.J. Gualda-Bueno, et al. Acidified subcritical water extraction of major ash-forming elements from coal. Analytica Chimica Acta, 1999, 395:113~118
- [11] V. Fernandez-Perez, M.D. Luque de Castro. Micelle formation for improvement of

华中科技大学硕士学位论文

continuous subcritical water extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil prior to high-performance liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 2000, 902:357~367

- [12] Steven B. Hawthorne, Carol B. Grabanski, Esther Martin, et al. Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. *Journal of Chromatography A*, 2000, 892:421~433
- [13] Mark S. Krieger, Jason L. Wynn, Robin N. Yoder. Extraction of cloransulam-methyl from soil with subcritical water and supercritical CO₂. *Journal of Chromatography A*, 2000, 897:405~413
- [14] L. Gamiz-Gracia, M.D. Luque de Castro. Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques. *Talanta*, 2000, 51:1179~1185
- [15] Alena Kubatova, David J. Miller, Steven B. Hawthorne. Comparison of subcritical water and organic solvents for extracting kava lactones from kava root. *Journal of Chromatography A*, 2001, 923:187~194
- [16] V. Fernandez-Perez, M.M. Jimenez-Carmona, M.D. Luque de Castro. Continuous liquid-liquid extraction using modified subcritical water for the demetalisation of used industrial oils. *Analytica Chimica Acta*, 2001:47~52
- [17] Haoquan Hu, Jun Zhang, Shucui Guo, et al. Extraction of Huadian oil shale with water in sub- and supercritical states. *Fuel*, 1999, 78:645~651
- [18] Rogelio Soto Ayala, M.D. Luque de Castro. Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils. *Food Chemistry*, 2001, 75:109~113
- [19] 陈猛, 袁东星, 许鹏翔. 微波萃取法研究进展. *分析测试学报*, 1999, 18(2):82~86
- [20] Haswell S.J., Howarth N. Perturbation of a solid phase separation process by a non-thermal microwave effect. *Analytical Chimica Acta*, 1999, 387:113~120
- [21] Ganzler K, Salgo A, Valko K. *Chromatographia*, 1993, 36:191
- [22] Rodriguez I., Santamarina M., Bollain M.H., et al. Speciation of organotin compounds in marine biomaterials after basic leaching in a non-focused microwave extractor equipped with pressurized vessels. *Journal of Chromatography A*, 1997, 774:379~387
- [23] Vioria Lopez-Avila, Richard Yang, Beckert W.F., et al. Microwave-assisted

华中科技大学硕士学位论文

- extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments. *Anal Chem*, 1994, 66(7):1097~1106.
- [24] 卜玉兰, 郭振库. 微波萃取技术. *色谱*, 1997, 15(6):499~501
- [25] 郭振库, 金钦汉. 微波萃取技术. *分析科学学报*, 2001, 17(6):505~509
- [26] Fish J.R., Revesz R. Paper presented at the 1995 Pittsburgh conference, New Orleans, 1995, March 5-10
- [27] 郝金玉, 黄若华, 王平艳等. 微波萃取技术进展. *云南化工*, 1999, 3:26~29
- [28] Ganzler K., Szinai I., Salgo A. *Chromatographia*, 1990, 520:257
- [29] 周宁孙, 林玉清, 林荣儿. 微波萃取技术在分析土壤中有机污染物的应用. *干旱环境监测*, 1999, 13(2):90~94
- [30] Mcmillin R., Miner L.C., Hurst L. Abbreviated microwave extraction of pesticides and PCB in soil. *Spectroscopy*, 1997, 13(1):41~50
- [31] 但德忠, 罗方若, 袁东等. 土壤及沉积物样品预处理的新技术. *矿物岩石*, 2000, 20(2):91~95
- [32] Lopez-Avila V., Young R., Beckert W.F. Stability of organic pollutants during microwave-assisted extraction from solid matrices. *JAOAC Int*, 1998, 81(2):462~476
- [33] Fish J.R., Revesz R. Microwave solvent extraction of chlorinated pesticides from soil. *LC-GC*, 1996, 14(3):230~234
- [34] 熊国华, 梁今明, 邹世春等. 微波萃取土壤中 PAHs 的研究. *高等学校化学学报*, 1998, 19(10):1560~1565
- [35] Onuska F.I., Terry K.A., Extracction of pesticides from sediments using a microwave technique. *Chromatographia*, 1993, 36:191~194
- [36] Lopez-Avila V., Young R., Benedicto J., et al. Extraction of organic pollutants from solid samples using microwave energy. *Anal Chem*, 1995, 67:2096~2102
- [37] Letellier M., Budzinski H., Garrigues P., et al. Focused microwave-assisted extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in open cell from reference materials (sediments, soil, air particulates). *Spectroscopy*, 1997, 13(1):71~80
- [38] Barnabas I.J., Dean J.R., Fowlis I.A., et al. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from highly contaminated soils ussing microwave energy. *Analyst*, 1995, 120(7):1897~1904
- [39] Chee K.K., Wong M.K., Lee H.K. Determination of organochlorine pesticides in

- water by membranous solid-phase extraction and in sediment by microwave-assisted solvent extractin with gas chromatogryphy and electron-capture and mass spectrometric detection. *J Chromatogr*, 1996, 736(1/2):211~218
- [40] Lopez-Avila V., Benedicto J. Microwave-assisted extraction combined with gas chromatography and enzyme-linked immunosorbent assay. *Trends Anal Chem*, 1996, 15(8):334~341
- [41] Lopez-Avila V., Benedicto J. Charan C., et al. Determination of PCBs in soil/sediments by microwave-assisted extraction and GC/ECD or ELISA. *Environ Sci Technol*, 1995, 29(10):2709~2712
- [42] Onuska F.I., Terry K.A. Microwave extraction in analytical chemistry of pollutants: polychlorinated biphenyls. *J High Resol Chromator*, 1995, 18(7):417~421
- [43] Font N., Hernandez F., Hogendoorn E.A., et al. Microwave assisted solvent extraction and reversed phase liquid chromatography-UV detection for screening soils for sulfonylurea herbicides. *J Chromatogr A*, 1998, 798:179~186
- [44] Chee K.K., Wong M.K., Lee H.K. Mirowave extraction of phthalate esters from marine sediment and soil. *Chromatographia*, 1996, 42(7):378~384
- [45] Stout S.J., Daunha A.R., Allardice. Microwave-assisted extraction coupled with gas chromatography electron capture negative chemical ionization mass spectrometry for the simplified determination of imidazolinone herbicides in soil at the ppb level. *Anal Chem*, 1996, 68(4):653~658
- [46] Liompart M.P., Loren R.A., Cela R., et al. Optimization of a microwave-assisted extraction method for phenol and methylphenol isomers in soil samples using a central composite design. *Analyst*, 1997, 122(2):133~137
- [47] Vazquea M.J., Carro A.M. Lorenzo R.A., et al. Optimization of methylmercury microwave-assisted extraction from aquatic sediments. *Anal Chem*, 1997, 69(2):221~225
- [48] Szpunar J., Schmitt V.O., Lobinski R., et al. Rapid specation of butyltin compounds in sediments and biomaterials by capillary gas chromatography- mirowave induced plasm a atomic-emission spectrometry after microwave-assisted leaching-digestion. *J Anal at Spectrom*, 1996, 11(3):193~199
- [49] Enders B., Schwedt G. Microwave-assisted extraction for the determination of PCB and PAH in soil and sewage sludge. *GTT Facjz Lab*, 1996, 40(3):172~176
- [50] 国家环保局编. 水和废水监测分析方法. 中国环境科学出版社, 1997,407~412

华中科技大学硕士学位论文

- [51] 阿娟. 环境化学及其分析方法的综合评价. 内蒙古农牧学院学报, 1997, 18(3):65~68
- [52] 金文睿, 魏继中, 王新省等. 基础仪器分析. 第一版. 山东大学出版社, 1993, 192~199
- [53] HP 6800 系列气相色谱仪操作手册. 第三卷. 检测器. 惠普公司版权, 1997 年 5 月中国印刷, 121
- [54] 徐盈, 吴文忠, 张甬元. 利用 EROD 生物测试法快速筛选二恶英类化合物. 中国环境科学, 1996, 16(4):279~284
- [55] 徐盈, 吴文忠, 张银华等. 鸭儿湖地区六氯环己烷的残留动态与长期归宿. 水生生物学报, 1999, 23(4):337~345
- [56] 吴文忠, 徐盈, 张甬元. 鸭儿湖地区多氯代二苯并二恶英/呋喃 (PCDD/F) 的污染状况及其来源归宿的初步研究. 环境科学学报, 1998, 18(4):415~420.
- [57] 黄俊, 余刚, 钱易. 我国的持久性有机污染物问题与研究对策. 环境保护, 2001, 11:3~7
- [58] Liu J.K. Recovery of the insecticide waste water polluted Ya'er Lake. Proceedings of European water pollution control association (EWPCA). International congress, Rome, 1985, April 15-18
- [59] 许景文. 炭素纤维与活性炭纤维. 离子交换与吸附, 1991, 7(1):56~65
- [60] 姜军清, 黄卫红, 陆晓华. 活性炭纤维处理含酚废水的研究. 工业水处理, 2001, 21(3):20~22
- [61] Llopart M.P., Lozenzo R.A., Cela R., et al. Phenol and methylphenol isomers determination in soil by in-situ microwave-assisted extraction and derivatisation. J Chromatogr, 1997, 757:153~164
- [62] Miguel A. Crespin, Mercedes Gallego. A semiautomatic module for the direct leaching and determination of sixteen phenols in agricultural soils. Anal. Chem., 1999, 71:2687~2696
- [63] Rodriguez, M.I. Turnes, M.C. Mejuto, et al. Determination of chlorophenols at sub-ppb level in tap water using derivatization, solid-phase extraction and gas chromatography with plasma atomic emission detection. Journal of Chromatography A., 1996, 721:297~304

附录 1 攻读硕士学位期间发表的论文目录

- [1] 邵秀梅, 王琳玲, 黄卫红, 陆晓华等. 亚临界水萃取技术应用于环境样品预处理的研究. 理化检验, 2003 年 8 月 (已录用)
- [2] Linling Wang, Xiumei Shao, Weihong Huang, Xiaohua Lu. An organic solvent-free microwave-assisted extraction of some priority pollutants of phenols. Fresenius' Analytical Chemistry (Submitted)