

高效液相色谱法测定土壤中甲醛空白值影响因素探讨

熊杰^{1,2}, 杨菊^{1*}, 王若男², 何吉明², 曹阳², 李海霞²

(1. 成都理工大学, 四川 成都 610059; 2. 四川省生态环境监测总站, 四川 成都 610091)

摘要:采用高效液相色谱法测定土壤中甲醛, 探讨试验前处理过程中使用的试剂、耗材、玻璃器皿的洗涤, 以及萃取流量、液体在环境中暴露时长等操作细节对空白值的影响。试验表明: 衍生剂 2,4-二硝基苯肼须纯化后使用; 提取液应使用超纯水机现制水配制, 且现配现用; 石英砂须经高温灼烧后放置在干燥器中保存; 玻璃器皿应在使用前烘干或者再次用纯水冲洗。采用固相萃取进行萃取浓缩时, 盛装衍生液的三角瓶瓶口应全程密封, 萃取过程操作时间应控制在 20 min ~ 40 min 之间, 过柱后空抽时间应控制在 1 min 内。优化操作后, 空白样品中甲醛值可低于 20 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

关键词: 甲醛; 空白值; 高效液相色谱法; 影响因素; 土壤

中图分类号: O657.7⁺2

文献标志码: B

文章编号: 1006-2009(2022)02-0068-04

Influence Factor of Formaldehyde Blank Value in Soil by High Performance Liquid Chromatography

XIONG Jie^{1,2}, YANG Ju^{1*}, WANG Ruo-nan², HE Ji-ming², CAO Yang², LI Hai-xia²

(1. Chengdu University of Technology, Chengdu, Sichuan 610059, China;

2. Ecology and Environmental Monitoring of Sichuan, Chengdu, Sichuan 610091, China)

Abstract: In this paper, the effects of reagents, consumables, washing of glassware, extraction flow rate and exposure time of liquid in the environment on the blank value were discussed for the determination of formaldehyde in soil by HPLC. The results showed that the derivative agent of 2,4-dinitrophenylhydrazine should be purified before using. The extract solution should be prepared fresh by ultrapure water and ready to use. Quartz sand should be burned at high temperature and stored in a dryer. Glassware should be dried or rinsed with pure water again before use. When solid phase extraction was used for extraction and concentration, the mouth of the triangular bottle containing derivative solution should be sealed throughout the whole process, the operation time of extraction should be controlled within 20 min ~ 40 min, and the vacuuming time should be controlled within 1 min after passing the column. After optimization operation, formaldehyde in blank sample could be lower than 20 $\mu\text{g}/\text{L}$.

Key words: Formaldehyde; Blank value; High performance liquid chromatography; Influence factors; Soils

甲醛是一种无色有刺激性的气体, 吸入高浓度甲醛可导致呼吸道刺激症状^[1]。此外, 甲醛还具有致突变、致癌的作用^[2]。2017年10月27日, 世界卫生组织国际癌症研究机构公布的致癌物清单中, 将甲醛放在一类致癌物列表。土壤中甲醛主要来自人类生产活动, 包括生产醛酮类化合物的化工企业生产、运输及废水外排等过程。同时, 大气中的醛酮类化合物随着干湿沉降, 有可能会进入地表

收稿日期: 2021-02-23; 修订日期: 2022-02-22

基金项目: 国家重点研发计划“成渝地区大气污染联防联控技术与集成示范”基金资助项目(2018YFC0214004); 四川省科技厅“成都市重污染过程 PM_{2.5} 污染特征及来源解析研究”基金资助项目(2018JY0518); 四川省教育厅“成都市 PM_{2.5} 污染特征及主要气态前体物对其影响研究”基金资助项目(18ZB0064)

作者简介: 熊杰(1983—), 女, 四川内江人, 高级工程师, 学士, 从事有机分析测试工作。

* 通信作者: 杨菊 E-mail: 113926042@qq.com

土壤,被土壤介质吸附,从而累积在土壤环境中造成污染^[3-8]。

目前,土壤中甲醛的国家标准分析方法为高效液相色谱法^[9],文献报道主要包括分光光度法^[10]、柱后衍生-液相色谱法等^[11-12]。在实际测试过程中,发现空白样品中甲醛时有检出。而已有的文献报道中,甲醛空白值的影响报道较少。

今针对土壤中甲醛测试过程中使用的试剂、耗材及操作过程等细节进行探讨,进一步研究土壤中甲醛空白值的来源及影响,以期降低甲醛干扰,解决土壤样品实际分析过程中常见的甲醛空白检出问题。

1 试验

1.1 主要仪器与试剂

LC-20A型高效液相色谱仪(带紫外检测器),日本岛津公司;SHA-B型恒温振荡器,常州澳华仪器有限公司;SHIMADZU VP-ODS型色谱柱(250 mm×4.6 mm×5 μm),日本岛津公司;24位固相萃取装置,美国Supelco公司;Milli-Q Integral 3型超纯水机,美国Milli-Q公司;SRJX4-13型高温箱式电炉控制箱,天津市泰斯特仪器有限公司;HLB固相萃取小柱(5 mg/6 mL),美国Waters公司;C₁₈固相萃取小柱(5 mg/6 mL),德国CNW公司。

1 000 mg/L的15种醛酮类标准溶液,100 mg/L的2,4-二硝基苯肼(DNPH)标准溶液,美国Accustandard公司;乙腈(色谱纯),国药集团化学试剂有限公司;无水乙酸钠(优级纯),二氧化硅、柠檬酸钠、DNPH(分析纯),成都市科龙化工试剂厂;市售纯净水,实验室自制重蒸水。

1.2 样品采集与前处理

参照文献^[9]规定的操作步骤进行样品前处理及分析测试。

以10 g石英砂为空白样,加入100 mL醋酸酸钠溶液,提取18 h,收集提取液,加入2,4-二硝基苯肼和缓冲溶液,在40℃水浴中振荡40 min进行衍生化反应。待反应结束,溶液经固相萃取小柱净化后,用9 mL乙腈洗脱,收集洗脱液,定容至10 mL。

1.3 仪器条件

采用带紫外检测器的高效液相色谱仪进行分析。选择SHIMADZU VP-ODS型分析柱,流动相A

为乙腈,流动相B为超纯水,φ(A)为70%(乙腈),φ(B)为30%,流量为1.0 mL/min。柱温30.0℃,采用等度洗脱。进样体积为10 μL。15种醛酮类衍生物标准溶液(1.00 mg/L)色谱峰见图1,甲醛保留时间为5.59 min。

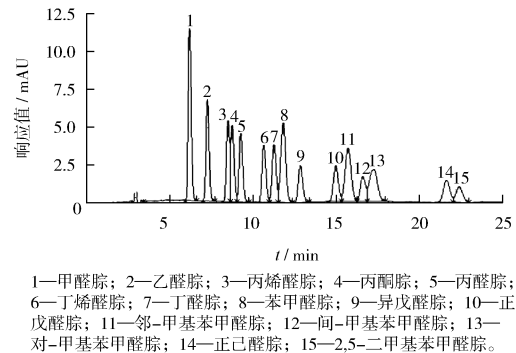


图1 醛酮类衍生物色谱峰

Fig. 1 Chromatogram of aldehydes and ketones derivatives

2 结果与讨论

根据方法规定的样品提取、衍生、净化及上机等操作步骤,甲醛干扰可能存在于衍生剂、提取液、缓冲液等试剂,用于配制试剂的纯水,以及使用的滤膜、固相萃取小柱等耗材中。此外,在提取、衍生及净化等前处理操作过程中,萃取时间的长短、是否密封瓶口等操作细节,也可能引入甲醛干扰。

2.1 试剂

前处理过程主要涉及衍生剂、醋酸钠提取液及缓冲液。根据文献资料报道^[13]和标准中相关注意事项提示,结合分析经验,主要考虑衍生剂和醋酸钠提取液的影响,分别考察衍生剂纯化前后、醋酸钠溶液配制后放置时间长短对空白值的影响。

衍生剂主要为2,4-二硝基苯肼和乙腈。将试验分为两组,1#组直接使用市售2,4-二硝基苯肼,不做任何处理,称取3.00 g后,采用1 L乙腈溶解后待用。2#组在溶解前对2,4-二硝基苯肼进行提纯,提纯后再称取3.00 g,使用同样品牌乙腈溶解。两组配好的衍生剂分别上机测定甲醛。试验表明:未纯化和纯化后的2,4-二硝基苯肼中甲醛测定值分别为55.3 μg/L和低于20 μg/L。同时还发现,未纯化的衍生剂中检出了乙醛(118.9 μg/L)、丙酮(200.0 μg/L)及苯甲醛(24.9 μg/L)3种化合物,纯化后的衍生剂中乙醛(29.0 μg/L)、丙酮(23.9 μg/L)测定值明显降低,苯甲醛未检出。

醋酸钠提取液由无水乙酸钠固体与纯水配制,使用少量冰醋酸调节 pH 值。提取液用于土壤样品中甲醛的提取,每个样品使用量为 200 mL,主要考察提取液存放时间对空白中甲醛值的影响。使用同一原装试剂瓶中的醋酸及乙酸钠固体和同一台超纯水机现接水进行配制。配制后将提取液分为 3 组分别试验:1#组为配制后立即提取;2#组将提取液室温密封存放过夜后使用;3#组将提取液置于 4 ℃ 冷藏条件下存放 2 d。每组样品分别测定两个样品,取平均值。3 组提取液按 1.2 所述操作,在 1.3 条件下测定。结果表明,3 组甲醛测定值分别为 34.5 $\mu\text{g/L}$ 、41.3 $\mu\text{g/L}$ 和 47.1 $\mu\text{g/L}$ 。说明随着提取液放置时间的增加,空白中甲醛的含量略有增加。

2.2 石英砂

空白样品的测试中,主要以石英砂作为空白样品。按照标准规定,石英砂须在 400 ℃ 下灼烧 4 h 后再进行后续操作。考察石英砂经高温灼烧处理后,存放时间对空白中甲醛结果的影响。试验分为 4 组:1#组灼烧冷却后立即使用;2#组灼烧后在干燥器中放置 2 d;3#组在干燥器中存放一周后使用;4#组直接在塑料瓶中放置一周。不同保存条件下的石英砂按 1.2 所述操作,在 1.3 条件下测定。结果表明,4 组的甲醛测定值分别为 26.2 $\mu\text{g/L}$ 、37.3 $\mu\text{g/L}$ 、52.6 $\mu\text{g/L}$ 、112.5 $\mu\text{g/L}$,说明在塑料瓶中存放一周后,石英砂空白中甲醛明显升高。

2.3 纯水

纯水在前处理中主要用于提取液的配制。为明确纯水对空白值的影响,考察试验分为 6 组,分别为使用超纯水机现制水、超纯水机现制水煮沸、实验室自制重蒸水、实验室重蒸水放置 2 d、两种品牌市售纯净水配制提取液(临用前现配)。配制完成后即用于样品提取,提取液采用同一批衍生剂,按 1.2 所述操作,在 1.3 条件下测定。每种纯水类别分别测试 1 次~3 次,取平均值对比。试验表明,6 组试验甲醛测定值分别为 27.3 $\mu\text{g/L}$ 、49.9 $\mu\text{g/L}$ 、1 426.7 $\mu\text{g/L}$ 、1 665.3 $\mu\text{g/L}$ 、122.5 $\mu\text{g/L}$ 和 137.5 $\mu\text{g/L}$ 。说明超纯水机现制水甲醛值最低,煮沸后甲醛值略有增加,而实验室自制重蒸水中甲醛值极高,不论是处理后即刻使用还是放置后使用,含量都远远超过标准分析方法检出限,市售纯净水中甲醛值也较高,不能用于测定。

2.4 耗材及器皿

在前处理过程中,使用的耗材主要包括用于过滤的玻璃纤维滤膜、固相萃取小柱及用于提取甲醛的收集瓶、衍生使用的三角瓶、收集洗脱液的比色管等玻璃器皿。

滤膜主要用于提取液过滤,分为 3 组试验:1#组玻璃纤维滤膜不做任何处理直接使用;2#组为同样品牌、同一批次的玻璃纤维滤膜,在烘箱中 105 ℃ 烘干后使用;3#组为同一品牌的尼龙膜。分别进行 3 次试验,取平均值。结果表明,3 组试验甲醛值为 41.1 $\mu\text{g/L}$ ~52.1 $\mu\text{g/L}$,玻璃纤维滤膜烘干操作后甲醛值略升高,直接使用玻璃纤维滤膜与尼龙膜进行过滤,空白中甲醛测定值无明显差异。

固相萃取小柱主要用于衍生液萃取浓缩。为考察不同材质的萃取小柱对空白样品中甲醛的影响,分别使用 HLB 和 C_{18} 小柱进行萃取试验。结果表明,使用 HLB 小柱萃取后的洗脱液更为清澈, C_{18} 小柱萃取后的洗脱液较为浑浊。两种洗脱液定容后测定,空白样品中甲醛值并无明显差异,测定值分别为 37.3 $\mu\text{g/L}$ 和 34.5 $\mu\text{g/L}$ 。

根据标准方法所述,玻璃器皿在使用前是否烘干处理可能会对空白中甲醛有影响。为进一步验证,分 3 组试验,试验前玻璃器皿均采用洗涤剂反复刷洗,纯水淌洗,晾干后待用。1#组在临用前按照标准方法要求,130 ℃ 烘 3 h 以上;2#组直接使用;3#组在临用前再次用纯水冲洗。结果表明,1#组和 3#组甲醛测定值均无明显差异,分别为 28.1 $\mu\text{g/L}$ 和 32.5 $\mu\text{g/L}$,2#组甲醛值略高,为 52.1 $\mu\text{g/L}$ 。

2.5 操作

按照标准方法要求,土壤样品前处理步骤主要包括提取、衍生、萃取和浓缩。提取步骤及衍生过程都在相对密闭环境条件下进行,萃取浓缩过程中液体与环境接触机会较多,操作不当可能会造成干扰,故主要考察固相萃取流量、萃取过程中三角瓶是否封口、过柱后的抽空时间对空白中甲醛测试值的影响。

标准方法建议液体通过固相萃取小柱的流量为 3 mL/min~5 mL/min,100 mL 衍生液全部过柱大约需要 20 min~30 min。分别考察当萃取时间为 20 min、30 min、40 min、50 min、60 min 时,实际操作中萃取流量对空白甲醛值的影响。结果表明,

当萃取时间长于40 min时,随着时间的延长,空白中甲醛值明显增加。

衍生液在萃取浓缩过程中放置于三角瓶中,萃取时间一般在30 min左右。为考察萃取时间内环境对样品的影响,分别做2组试验。1#组在萃取时用锡箔纸包裹三角瓶瓶口,尽可能减少液体与空气接触;2#组不做任何处理,瓶口直接暴露于环境中。试验表明,未做处理的2#组空白样品中甲醛测定值为50 μg/L~60 μg/L,高于采用锡箔纸包裹瓶口的空白样品。

为保证萃取效率,固相萃取完毕后会继续抽吸1 min。分别考察抽吸时间为1 min、5 min、10 min和15 min对空白样品中甲醛值的影响。试验表明,甲醛值分别为19.9 μg/L、32.7 μg/L、67.9 μg/L和69.3 μg/L,表明随着抽吸时间增加,特别是抽吸时间长于5 min后,空白值增加明显。

2.6 方法效能验证

取15种醛酮类化合物的DNPH衍生物贮备液,用乙腈稀释成0.03 mg/L、0.075 mg/L、0.15 mg/L、0.30 mg/L、0.75 mg/L、1.5 mg/L的标准系列,按照1.2所述操作,1.3条件下测定。以醛酮类化合物的质量浓度为横坐标,其对应衍生物的峰面积响应值为纵坐标,绘制标准曲线,得到回归方程 $y = 438.47x - 1\ 021.9$,相关系数为0.999 9。

按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》(HJ 168—2020)^[14]要求,并参考《土壤和沉积物 醛、酮类化合物的测定 高效液相色谱法》(HJ 997—2018)中说明,连续测定7个1.0 mg/L的实际土壤加标样,计算7次测定值的标准偏差S,按照 $MDL = t_{(n-1,0.99)} \times S$ (置信度为99%时,t为3.14)计算方法检出限。当土壤称样量为10 g,定容体积为10 mL时,甲醛检出限为20.0 μg/L。

3 结语

综上所述,用于配制衍生剂的2,4-二硝基苯肼在使用前须纯化,选择纯度高的品牌试剂试验。配制提取液、缓冲液等试剂时,应选择超纯水机现制水,现接现用,不使用实验室自制蒸馏水及市售纯净水。提取液等试剂应尽量现配现用,配制完成后立即使用,未使用完的液体确须保存,应使用封口膜将试剂瓶口密封,低温冷藏保存,保存时间不超过2 d。石英砂在使用前应灼烧,并在干燥器中冷却后立即使用,确须放置,可将其盛装在带塞的

玻璃瓶中,将瓶口密封后放在干燥器里保存,保存时间不超过一周。所有使用的玻璃器皿使用前须在烘箱中130 ℃烘干处理3 h以上。在提取、衍生、萃取等操作步骤中,衍生液通过固相萃取小柱时间控制为20 min~40 min,过柱后抽干时间控制在1 min内。衍生和过固相萃取小柱时应使用锡箔纸将瓶口封好,尽量避免液体暴露于周围环境中。按照上述优化条件试验,甲醛空白值为18.5 μg/L~22.2 μg/L,均值为19.9 μg/L,RSD为8.2%。

[参考文献]

- [1] 尚丽新,朴丰源. 环境有害因素的生殖和发育毒性[M]. 郑州:科学技术出版社,2017:190.
- [2] HO S S H,IP H S S,HO K F,et al. Evaluation of hazardous airborne carbonyls on a university campus in southern China[J]. Journal of the Air & Waste Management Association,2014,64(8):903-916.
- [3] KOUNTOURIOTIS A,ALEIFERIS P G,CHARALAMBIDES A G. Numerical investigation of VOC levels in the area of petrol stations[J]. The Science of the Total Environment,2014,470:1205-1224.
- [4] 曹爱丽. 气袋采样-苏玛罐转移-GC/MS法测定废气中醛类恶臭物质[J]. 环境监测管理与技术,2019,31(2):50-53.
- [5] 杨文武. 泰州市环境空气中挥发性有机物分布特征[J]. 环境监测管理与技术,2020,32(3):68-71.
- [6] 王玲玲,王维思,赵新娜,等. 郑州市不同季节空气中醛酮类化合物污染特征及来源[J]. 中国环境监测,2014,30(5):35-40.
- [7] 钱益斌,钟昌琴,杨安富,等. 海南某化工园区大气VOCs组成、来源及健康风险[J]. 环境科学与技术,2020,43(5):115-123.
- [8] 沈建东,叶旭红,朱英俊,等. 杭州市大气VOCs浓度特征及其化学活性研究[J]. 中国环境监测,2020,36(5):80-87.
- [9] 生态环境部. 土壤和沉积物 醛、酮类化合物的测定 高效液相色谱法:HJ 997—2018[S]. 北京:中国环境出版集团,2018.
- [10] 姚洁丹,孙丹,钟灿红,等. 乙酰丙酮分光光度法测定土壤中甲醛[J]. 化学分析计量,2017,26(1):85-87.
- [11] 魏嘉良,陈小玲,杨学灵,等. 柱后衍生-高效液相色谱法测定土壤中甲醛的含量[J]. 广州化工,2020,48(15):134-136.
- [12] 李利荣,吴宇峰,张玉惠,等. 液相色谱法测定环境中醛酮类化合物定量方法探讨[J]. 工业水处理,2019,39(5):88-92.
- [13] 司利国,邢冠华,王超,等. 高效液相色谱法测定环境空气醛酮类化合物[J]. 环境化学,2019,38(10):2222-2228.
- [14] 生态环境部. 环境监测分析方法标准制订技术导则:HJ 168—2020[S]. 北京:中国环境出版社,2020.

本栏目编辑 姚朝英 吴珊