

使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性色谱柱和 DB-XLB 色谱柱在 GC/ μ ECD 上进行水中卤乙酸的测定

应用报告

环境，水质

作者

Doris Smith 和 Ken Lynam
安捷伦科技公司
森特维尔路 2850 号
威尔明顿, DE19809
美国

摘要

使用安捷伦的 Bond Elut SAX 固相萃取吸附剂能有效的提取和浓缩水样中的卤乙酸 (HAAs)。双色谱柱 GC/ μ ECD 方法, 使用安捷伦 J&W DB-35ms 超高惰性色谱柱和 DB-XLB 色谱柱, 提供对衍生的 HAAs 进行一致和灵敏的分析。对大多数的 HAAs 的检测限是 0.05-5 纳克/毫升。在三个强化水平 (0.2-2, 1-10 和 4-40 ng/mL) 的回收率从 82.5% 到 116.5%, 相对标准偏差 (RSDs) 小于 3.5%。



Agilent Technologies

前言

公众饮用水最常用的消毒方法是氯化法。在氯化过程中，如次氯酸钠这样的氧化剂，能与存在于水中的任何天然有机物或溴化物反应，形成消毒副产物（DBPs）。其中很多消毒副产物已经被列为可能的致癌物，并由美国环境保护署（EPA）按照 1 级消毒剂/消毒副产物准则[1,2]进行监控。卤乙酸（HAAs）是继三卤甲烷后第二大类消毒副产物（DBPs）。推荐监测的九种卤乙酸包括单氯乙酸（MCAA）、二氯乙酸（DCAA）、三氯乙酸（TCAA）、单溴乙酸（MBAA）、二溴乙酸（DBAA）、三溴乙酸（TBAA）、溴氯乙酸（BCAA）、溴二氯乙酸（BDCAA）和二溴氯乙酸（DBC AA）。前五种酸被划为一组进行总 HAA5 监控，设定的最高污染物水平（MCL）为 60 ng/mL [3]。虽然目前还没有规定其余几种酸的 MCL 值，但是推荐对所有 9 种卤乙酸（HAA9）进行监测。EPA 方法 552.3 目前用于 HAA9 以及饮用水中氯化除草剂茅草枯的监测标准[4]。

由于其低挥发性和极性，卤乙酸必须在气相色谱分析前转换为甲基酯衍生物。修订的 EPA 方法 552.3 包括使用 MTBE 的 HAAs 的液液萃取，然后与酸性甲醇进行酯化反应。由此产生的甲酯分配到有机相中，中和提取液，去除上层醚层后用于 GC/μECD 分析。

虽然 HAAs 的分析一般都使用液液萃取（LLE），但是固相萃取（SPE）具有很多优点，如高选择性、高容量、减少溶剂使用、减少样品制备时间并减少每次的分析成本。最近的研究表明 SPE 可成功的用于 HAAs 萃取[5,6,7]。由于卤乙酸阴离子形态的 pH 值高于其 pKa 值，使用强阴离子交换剂（SAX）可以用于有效地保留和预浓缩这些分析物。本文报告，使用硅基季胺强离子交换树脂，安捷伦 Bond Elut SAX，做为 SPE 吸附剂。

甲基化 HAAs 的定量测定是通过使用双色谱柱的 GC/μECD 方法实现的。选择安捷伦的 J&W DB-35ms 超高惰性气相色谱柱用于甲基酯的主要分析。色谱柱和衬管惰性对获得可重复的、可靠的

结果非常关键，尤其是对溴化三卤乙酸，特别容易与进样口或色谱柱上的活性位点相互作用。使用 Agilent J&W DB-XLB 色谱柱进行验证分析，该色谱柱具有比主要色谱柱更弱的极性固定相，提供了一种补充分离模式，有助于确认分析物的。

由于一些卤乙酸会发生不完全酯化，EPA 方法 552.3 采用了一个程序化的标准技术以建立校准曲线。这种技术需要把标准品作为样品对待并通过分析前的样品萃取和衍生化处理。这种方法用于补偿转化率低于 100% 的酸甲基酯化。

实验部分

本实验使用安捷伦 7890A GC 系统，配备双 μECD 检测器和安捷伦 7683B 自动进样器。使用一个惰性三通按照 1:1 的比例分流到主色谱柱和确认色谱柱。表 1 列出了用于这些分析的色谱条件。表 2 列出了流路耗材备件，表 3 列出了用于这些实验的 SPE 样品制备备件。

表 1. 色谱条件

GC/μECD 进样器	安捷伦 7890A GC 系统 安捷伦 7683B, 5.0 μL 锥形进样器 (部件号 G4513-80206)
CFT 设备 保留间隙	惰性三通 (部件号 G3184-60065) 分流比 1:1 2 m × 0.25 mm 内径高温去活熔融石英毛细管 (部件号 160-2845-10)
进样口	1 μL 不分流; 180 °C, 吹扫流速 60 mL/min 在 0.15 min 开始
色谱柱 1	DB-35ms UI 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 122-3832UI)
色谱柱 2	DB-XLB 30 m × 0.25 mm, 0.5 μm (部件号 122-1236)
载气 柱箱	氮气, 恒流 3.2 mL/min 在 40 °C 40 °C (0.5 min), 12 °C/min 到 95 °C, 25 °C/min 到 200 °C, 35 °C/min 到 325 °C (1.25 min)
μECD	340 °C, 恒定柱流+ 尾吹 (N ₂) = 30 mL/min

表 2. 流路备件

样品瓶和瓶盖	MS-认证的琥珀色钳口玻璃样品瓶和瓶盖工具包 (部件号 5190-2283)
进样瓶内插管	250 μ L 玻璃/聚合物支脚 (部件号 5181-8872)
进样器	5 μ L 锥管 (部件号 G4513-80206)
隔垫	高级绿色 (部件号 5183-4759)
进样口衬管	螺旋双细径锥不分流去活衬管 (部件号 5188-5398)
垫圈	0.4 mm 内径短; 85/15 聚酰亚胺/石墨 (部件号 5181-3323)
CFT 接头	内螺母 (部件号 G2855-20530)
CFT 垫圈	粉砂岩垫圈, 0.25 mm 内径 (部件号 5188-5361)
20 倍放大器	20 倍放大器环 (部件号 430-1020)

表 3. SPE 样品制备备件

SPE 滤芯	安捷伦 Bond Elut SAX, 500 mg, 6 mL (部件号 12102144)
SPE 适配器	3 和 6 mL 适配器 (部件号 12131001)
SPE 储存器	60 mL 容量 (部件号 12131012)

试剂和化学品

所有的试剂和溶剂是 ACS 或超 Resi 级。甲醇, MTBE 和硫酸钠来自于 JT Baker, 通过 VWR 国际购得 (西切斯特, 宾夕法尼亚, 美国)。硫酸从 Sigma-Aldrich 公司购买, 碳酸氢钠购自 Fisher Scientific 公司 (Fair Lawn, NJ), 氯化铵购自 Mallinckrodt 公司 (Phillipsburg, NJ)。卤乙酸和它们的甲基酯, 替代和内标购自 Ultra Scientific 公司 (West Chester, PA, USA)。每个分析物浓度列于表 4。

表 4. HAAs 商品储存溶液和主要稀释标准品中每个分析物的浓度

卤乙酸标准品

分析物	标准品商品 储存液 μ g/mL	主要稀释 标准品 μ g/mL
氯乙酸 (MCAA)	600.5	3.0
二氯乙酸 (DCAA)	600.0	3.0
三氯乙酸 (TCAA)	201.0	1.0
溴乙酸 (MBAA)	400.2	2.0
二溴乙酸 (DBAA)	201.0	1.0
三溴乙酸 (TBAA)	2002	10.0
溴氯乙酸 (BCAA)	402.0	2.0
溴二氯乙酸 (BDCAA)	400.0	2.0

溶液和标准品

配制 10 mg/mL 的氯化铵水溶液。在采样过程中将该溶液加入样品用于将基质中的残留消毒剂如次氯酸转化为氯胺, 以使产生额外 DBP 的可能降至最低。

使用 MTBE 稀释商品卤乙酸储备液, 制备成一系列浓度在 1–10 μ g/mL 的分析物标准品稀释液。该溶液是用于强化校准和回收标样用的试剂水。替代标样, 2-溴丁酸用 MTBE 稀释制备成浓度为 1 和 20 μ g/mL 的溶液并在提取前加入样品。使用含 1,2,3-三氯丙烷的 MTBE 萃取溶剂做为内标, 使用 MTBE 稀释制备成最终浓度为 500 ng/mL 的内标。使用该溶液萃取样品。

将 10 mL 硫酸滴加入装有大约 60 mL 甲醇的置于冷却浴中的 100 mL 容量瓶中, 后恢复到室温, 然后用甲醇稀释至刻度并充分混合, 制成 10% 的酸性甲醇溶液。

配制浓度为 150 g/L 的硫酸钠水溶液。将硫酸钠加入一定量的水中, 充分混合溶解后仍有少量不溶的碳酸氢钠残留, 以此制备饱和碳酸氢钠溶液。

HAAs 主要稀释标准品和替代标样加标溶液用于通过适当稀释制备试剂水中的校准曲线。

样品制备

使用 SPE 对 50 mL 水样品进行萃取, 用酸化甲醇酯化, 然后用 MTBE 提取甲基酯, 用于 GC 分析。图 1 显示了 SPE 样品制备和酯化过程流程图。

取 50 mL 水并加入 0.5 mL 浓度为 10 mg/mL 的氯化铵水溶液, 用以将残留的游离氯转化成氯胺。必要的话使用硫酸调节样品的 pH 到 5 ± 0.5 。向质量控制样品中加入适量加标溶液制备成分析物浓度范围为 0.2–2, 1–10 和 4–40 ng/mL 的样品。

将真空系统和安捷伦 Bond Elut SAX SPE 小柱固定好, 后使用 10 mL 甲醇以及 10 mL 水缓慢浸润活化。活化后, 适配器和柱管被固定到小柱上, 控制真空以 2 mL/min 的速度对 50 mL 样品

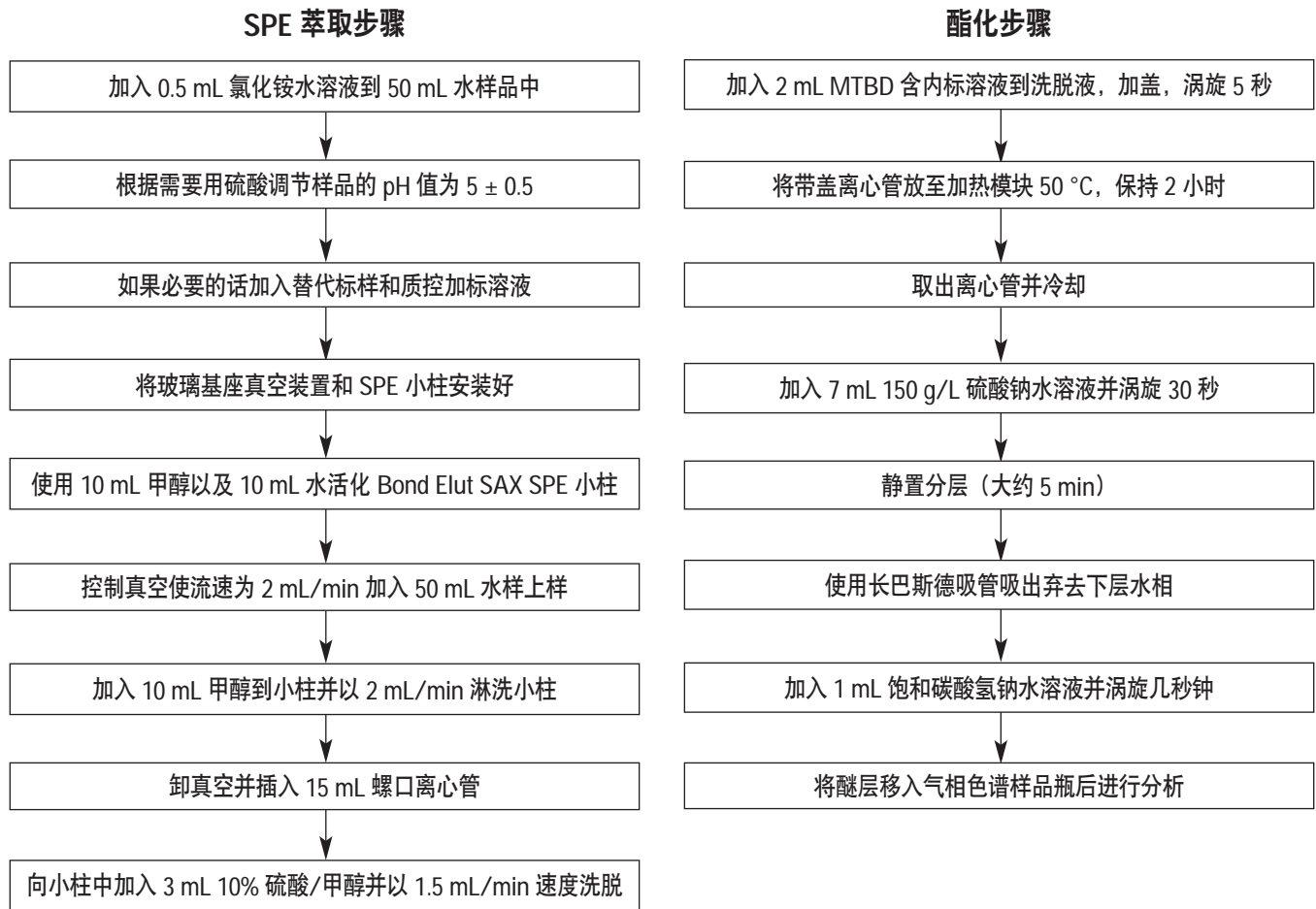


图 1. 水中卤乙酸的 SPE 样品制备和衍生化流程图

进行上样萃取。当上样结束后，加入 10 mL 甲醇洗去干扰物。然后卸真空，使用 15 mL 螺口锥形离心管收集洗脱液。加入 3 mL 的 10% 硫酸/甲醇溶液控制流速以 1.5 mL/min 洗脱 HAAs。

取出离心管，将 2 mL MTBE 萃取溶剂加入酸性甲醇洗脱液中。将离心管加帽涡旋，然后放在加热模块上 50 °C (± 2 °C) 保持 2 个小时进行甲基化处理。衍生化完成后，取出离心管并冷却。

待溶液冷却后，加入 7 mL 150 g/L 硫酸钠溶液，涡旋几秒钟。等待相分离，移除底部的水层。然后加入 1 毫升的饱和碳酸氢钠涡旋中和 MTBE 相。

然后使用表 1 中的色谱条件通过 GC/μECD 进行醚提取物的分析。

结果和讨论

目标物茅草枯和卤乙酸甲基酯在 DB-35ms UI 主分析柱和 DB-XLB 确认柱上实现分离仅需不到 9 min 时间。卤乙酸甲基酯标准品色谱图见图 2，显示出非常好的峰形和与其他酯类的分离度，在每根色谱柱上出现一个共洗脱物。共洗脱峰在相应色谱柱上实现基线分离，用于证实它们的存在和无干扰定量。

按照 EPA 方法 552.3，用程序化的校准技术绘制一条六点校准曲线。用超过目标浓度范围的不同量酸强化的水标准品作为样品被处理并通过分析前的样品萃取和衍生化处理。制备了从 0.1-1 ng/mL 到 5-50 ng/mL 不同浓度的六个标准溶液，然后使用表 1 中的方法过程进行萃取和衍生化，并用 GC/ μ ECD 分析。

卤乙酸甲基酯

- | | |
|-------------------|----------------|
| 1. 氯乙酸甲酯 | 7. 溴氯乙酸甲酯 |
| 2. 溴乙酸甲酯 | 8. 2-溴丁酸甲酯(SS) |
| 3. 二氯乙酸甲酯 | 9. 溴二氯乙酸甲酯 |
| 4. 茅草枯甲基酯 | 10. 二溴乙酸甲酯 |
| 5. 三氯乙酸甲酯 | 11. 二溴氯乙酸甲酯 |
| 6. 1,2,3-三氯丙烷(IS) | 12. 三溴乙酸甲酯 |

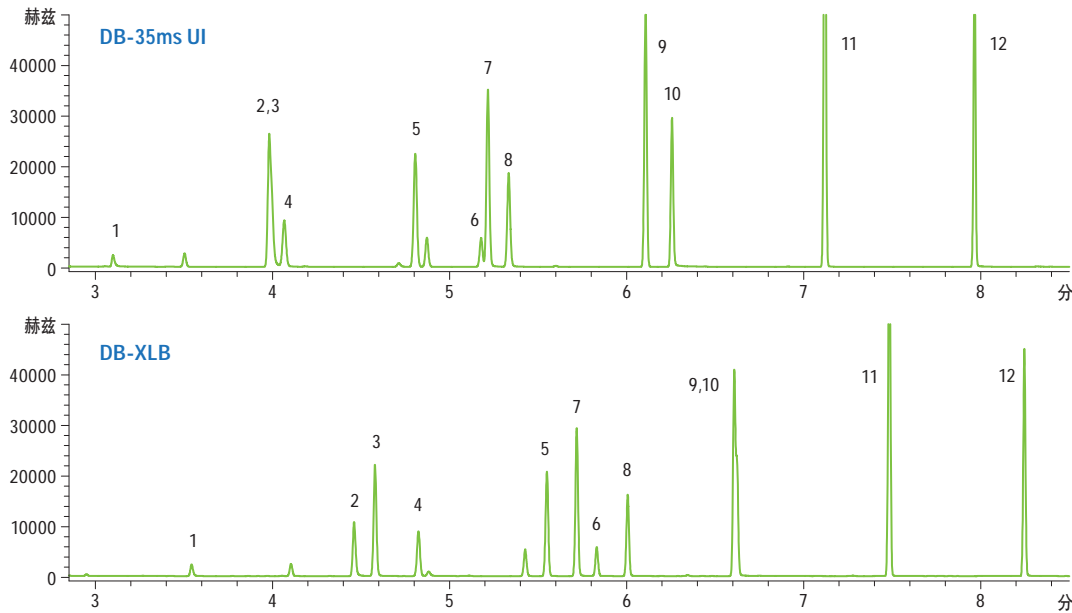


图 2. 使用 GC/ μ ECD 和安捷伦 J&W DB-35ms UI 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m 色谱柱 (部件号 122-3832 UI) 和 DB-XLB 30 m \times 0.25 mm, 0.5 μ m 色谱柱 (部件号 122-1236) 上分析卤乙酸酯的色谱图。用于标准品制备的制备方法标准和衍生化方法列于图 1，色谱条件列于表 1

由相关系数(R^2)定义的校准曲线线性可以用于评估一个气相色谱柱的性能。溴化三卤乙酸甲基酯往往是不稳定的,会出现脱溴、水解和脱羧等降解,使它们的色谱分析具有挑战。一个非线性的响应可能是化合物在进样口或色谱柱的吸附或分解的指示。DB-35ms UI 和 DB-XLB 色谱柱的性能产生卓越的 $R^2 \geq 0.998$ 的线性,超过本次研究的校准范围。每个卤乙酸甲基酯分析值列于表 5。

该方法能在痕量水平实现一个高灵敏度甲基化 HAAs 检测。图 3 所示在 DB-35ms UI 和 DB-XLB 色谱柱上一个萃取和衍生化的 0.05-0.5 纳克/毫升强化试剂水样品的卓越峰响应。所观察的水平处于或低于在 EPA 方法 552.3 上报导的推荐水平。

表 5. GC/ μ ECD 分析衍生化 HAA 校准标样的相关系数

使用安捷伦 J&W DB-35ms UI 和 DB-XLB 色谱柱分析甲基化 HAAs 的卓越线性

化合物	R^2 值	
	DB-35ms UI	DB-XLB
氯乙酸甲酯	0.9993	0.9990
溴乙酸甲酯	*	0.9998
二氯乙酸甲酯	*	1.0000
茅草枯甲基酯	1.0000	1.0000
三氯乙酸甲酯	0.9997	0.9999
溴氯乙酸甲酯	1.0000	1.0000
溴二氯乙酸甲酯	0.9985	**
二溴乙酸甲酯	1.0000	**
二溴氯乙酸甲酯	0.9982	0.9992
三溴乙酸甲酯	0.9994	0.9996
2-溴丁烷甲酯(SS)	0.9997	0.9995

*在 DB-35ms UI 上共洗脱

**在 DB-XLB 上共洗脱

痕量水平甲基化 HAAs 标样

- | | |
|-------------------|-------------|
| 1. 氯乙酸甲酯 | 7. 溴氯乙酸甲酯 |
| 2. 溴乙酸甲酯 | 8. 2-溴丁烷甲酯 |
| 3. 二氯乙酸甲酯 | 9. 溴二氯乙酸甲酯 |
| 4. 茅草枯甲基酯 | 10. 二溴乙酸甲酯 |
| 5. 三氯乙酸甲酯 | 11. 二溴氯乙酸甲酯 |
| 6. 1,2,3-三氯丙烷(IS) | 12. 三溴乙酸甲酯 |

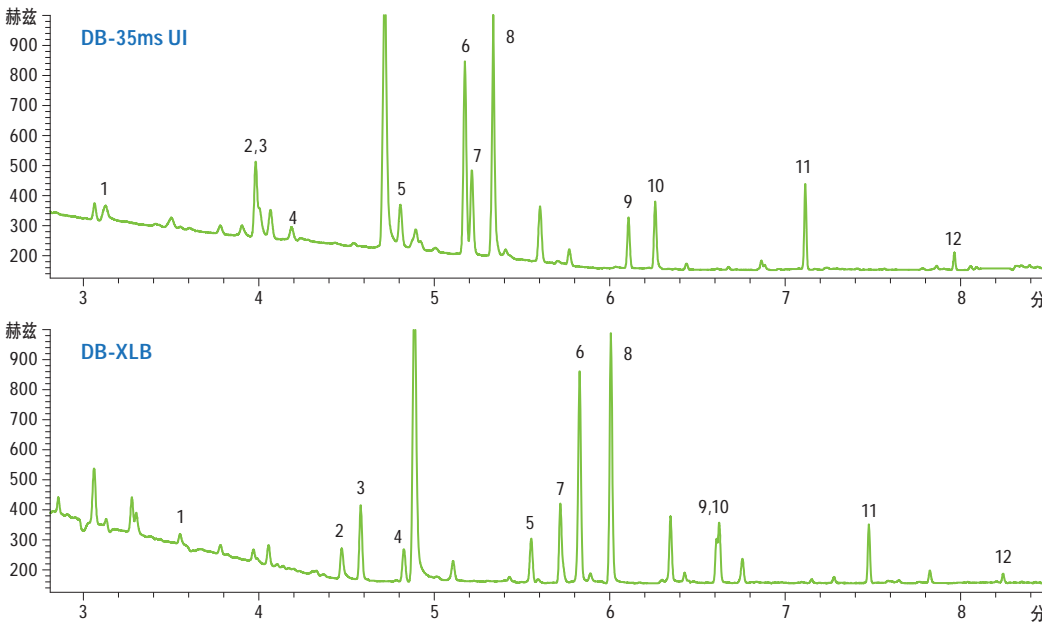


图 3. 使用 GC/ μ ECD 在安捷伦 J&W DB-35ms UI 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m 色谱柱和 DB-XLB 30 m \times 0.25 mm, 0.5 μ m 色谱柱上分析 0.05-0.5 ng/mL 酯化卤乙酸的局部放大色谱图。为了更好地说明使用内标物浓度为 50 ng/mL。色谱条件列于表 1

使用安捷伦 Bond Elut SAX SPE 进行样品制备，可以极为有效的对加标水样中的卤乙酸进行保留和预浓缩。这样所需样品体积就会很小同时检测限更低。水样必要时用硫酸调节到 pH 5 ± 0.5 ，以确保卤乙酸的离子化。图 4 显示了加入卤乙酸强化并使用样品制备和衍生化程序而制备的水样。

通过测定已知加标样品的回收率说明方法的准确性。在 1 倍、5 倍和 20 倍加标水平计算回收率。酸的回收率大于 82%，RSD 值低于 3.5%。单独的 HAAs 回收率列于表 6。这些结果表明了使用 SPE 方法萃取 HAAs 的有效性及 GC/ μ ECD 定量分析的一致性。

甲基化 HAAs 强化质量控制样品

- | | |
|-------------------|----------------|
| 1. 氯乙酸甲酯 | 7. 溴氯乙酸甲酯 |
| 2. 溴乙酸甲酯 | 8. 2-溴丁酸甲酯(SS) |
| 3. 二氯乙酸甲酯 | 9. 溴二氯乙酸甲酯 |
| 4. 茅草枯甲基酯 | 10. 二溴乙酸甲酯 |
| 5. 三氯乙酸甲酯 | 11. 二溴氯乙酸甲酯 |
| 6. 1,2,3-三氯丙烷(IS) | 12. 三溴乙酸甲酯 |

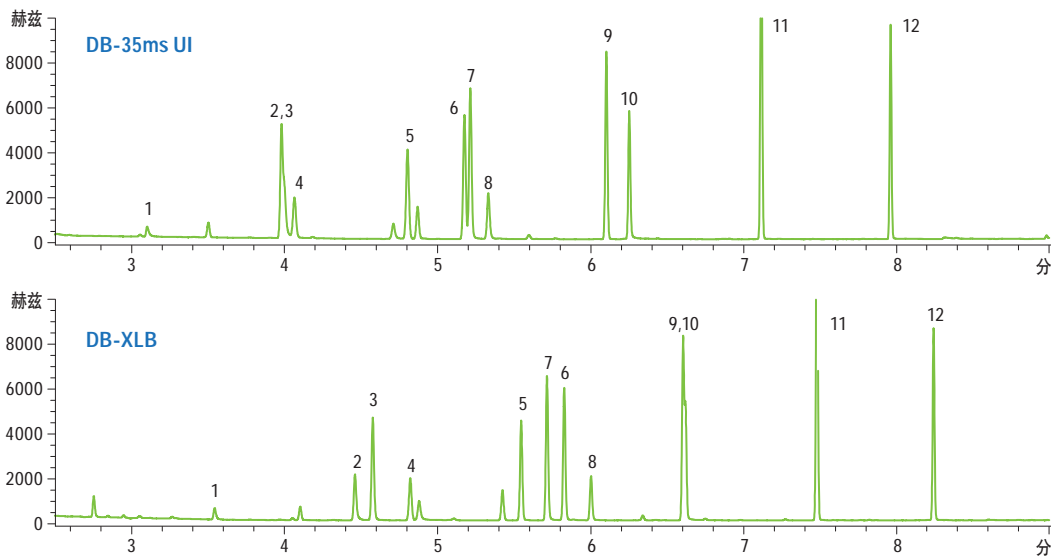


图 4. 使用 GC/ μ ECD 在安捷伦 J&W DB-35ms UI (部件号 122-3832UI)和 DB-XLB (部件号 122-1236)毛细管气相色谱柱上按照相应方法和分析步骤分析得到的 1-10 纳克/毫升强化试剂水样色谱图

表 5. 使用安捷伦的 Bond Elut SAX SPE 萃取, J&W DB-35ms UI (部件号 122-3832UI) 和 DB-XLB (部件号 122-1236) 色谱柱定量分析强化水中的卤乙酸的回收率和可重复性

使用 DB-35ms UI 色谱柱分析卤乙酸的回收率和可重复性

分析物	加标物 ng/mL	1 倍加标强化质量控制		5 倍加标强化质量控制		20 倍加标强化质量控制	
		% 回收率	RSD (n=6)	% 回收率	RSD (n=6)	% 回收率	RSD (n=6)
氯乙酸甲酯	0.60	108.8	1.8	102.4	0.6	95.8	0.7
溴乙酸甲酯/二氯乙酸甲酯*	1.00	98.2	1.6	98.2	0.7	95.9	0.6
茅草枯甲基酯	0.40	95.5	2.1	99.4	0.9	96.1	0.7
三氯乙酸甲酯	0.20	96.7	1.7	88.4	2.0	92.2	1.4
溴氯乙酸甲酯	0.40	91.9	2.6	95.0	1.8	93.4	1.3
溴二氯乙酸甲酯	0.40	113.0	1.1	88.9	1.7	93.9	1.8
二溴乙酸甲酯	0.20	82.5	3.4	92.1	2.3	93.6	1.6
二溴氯乙酸甲酯	1.00	116.5	1.0	89.5	1.7	94.3	1.9
三溴乙酸甲酯	2.00	101.4	2.1	84.6	2.1	90.4	2.2
2-溴丁酸甲酯(SS)	0.50	104.4	2.5	105.5	1.2	106.9	0.7

在 DB-XLB 色谱柱上卤乙酸的回收率和可重复性

分析物	加标物 ng/mL	1 倍加标强化质量控制		5 倍加标强化质量控制		20 倍加标强化质量控制	
		% 回收率	RSD (n=6)	% 回收率	RSD (n=6)	% 回收率	RSD (n=6)
氯乙酸甲酯	0.60	83.5	2.8	98.9	0.7	91.9	0.8
溴乙酸甲酯	0.40	85.2	0.8	92.7	0.4	88.5	0.7
二氯乙酸甲酯	0.60	94.2	1.0	98.9	0.3	94.9	0.5
茅草枯甲基酯	0.40	95.3	0.4	99.6	0.2	96.2	0.4
三氯乙酸甲酯	0.20	106.1	0.8	100.8	0.5	99.7	0.6
溴氯乙酸甲酯	0.40	103.8	1.1	107.8	0.9	102.7	1.2
溴二氯乙酸甲酯/二溴乙酸甲酯*	0.60	109.2	1.0	104.0	0.8	102.8	1.2
二溴氯乙酸甲酯	1.00	116.2	1.0	101.0	0.9	102.8	1.2
三溴乙酸甲酯	2.00	107.2	2.0	95.9	1.2	98.7	1.6
2-溴丁酸甲酯(SS)	0.50	109.5	0.7	108.6	0.5	108.3	0.9

*共洗脱; %回收率基于两种分析物的总和

饮用水样品萃取和衍生化

- | | |
|-------------------|----------------|
| 1. 氯乙酸甲酯 | 7. 溴氯乙酸甲酯 |
| 2. 溴乙酸甲酯 | 8. 2-溴丁酸甲酯(SS) |
| 3. 二氯乙酸甲酯 | 9. 溴二氯乙酸甲酯 |
| 4. 茅草枯甲基酯 | 10. 二溴乙酸甲酯 |
| 5. 三氯乙酸甲酯 | 11. 二溴氯乙酸甲酯 |
| 6. 1,2,3-三氯丙烷(IS) | 12. 三溴乙酸甲酯 |

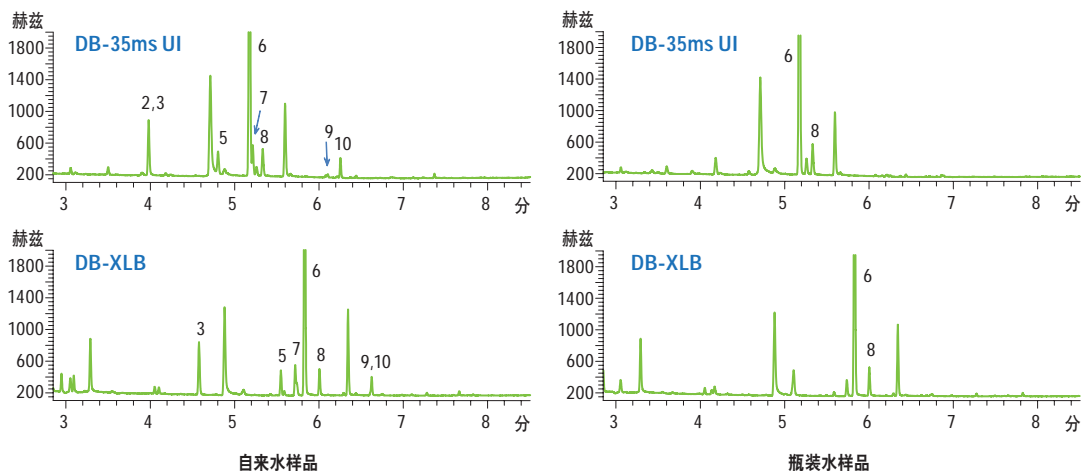


图 5. 使用 GC/ μ ECD 在安捷伦 J&W DB-35ms UI (部件号 122-3832UI) 和 DB-XLB (部件号 122-1236) 色谱柱上按照相应制备方法和分析步骤得到的两种水样的色谱图

用这种方法分析两种饮用水样品的 HAAs。自来水和瓶装矿泉水根据图 1 所示的样品制备和衍生化步骤进行采集和制备。在自来水样品中检测到 0.3 ng/mL 的 DCAA (峰 3)，也检测到其他四种 HAAs(TCAA, BCAA, BDCAA 和 DBAA)，但是低于本文的校准范围。瓶装矿泉水中没有检测到 HAAs。这两种样品的色谱图见图 5。

结论

本应用报告说明了成功检测水样品中低水平和痕量水平卤乙酸的快速有效分析方法。Agilent J&W DB-35ms UI 和 DB-XLB 毛细管色谱柱完全分离目标 HAA 甲基酯，并提供了卓越的灵敏度，

完成在低含量水平下的可靠定量。低于 EPA 最大污染水平 (MCLs) 水中 HAAs 能够被很好的检测到。校准标样的回归系数 $R^2 \geq 0.998$ ，强化研究的回收率是 82.5% 到 116.5%，平均 $RSD < 3.5\%$ ，证明了使用 J&W DB-35ms UI 和 DB-XLB 色谱柱能有效的分析低含量卤乙酸。

安捷伦 Bond Elut SAX SPE 吸附剂成功的萃取并预浓缩了水样中的卤乙酸，并提高了痕量水平的分析检测能力。SPE 方法提供了一个可靠地可替代 LLE 的方法，是一种快速并简单地样品制备过程，具有减少溶剂使用及降低成本等优点。

鸣谢

作者感谢 Dr. Joan Stevens 对安捷伦 SPE 萃取处理的帮助和建议

参考

1. 美国 EPA (美国环境保护署), 12 月 16 日, 1998a, 国家主要饮用水规则。消毒剂和消毒副产物, 最终规定。Fed. Reg. 63:241:69406
2. 美国 EPA (美国环境保护署), 12 月 16 日, 1998b。1 级消毒剂和消毒副产物规定。U.S. EPA 815-F-98-010.
3. EPA, 饮用水污染 & MCLs 列表, 美国环境保护署, 华盛顿, DC, 检索 10 月 14 日, 2003 年来自于 <http://www.epa.gov/safewater/mcl.html#mcls>.
4. US EPA 2003 方法 552.3, 液液萃取衍生化和电子捕获检测器气相色谱法测定饮用水中卤乙酸和茅草枯。修订 1.0
5. S Waseem 和 Md. Pauzi Abdullah. 确认固相萃取技术用于饮用水中卤代乙酸测定的可靠性 Sains Malaysiana 39(2)(2010): 227-231.
6. MA Rahman, MP Abdullah, JM Daud 和 S Waseem. 饮用水中卤乙酸化合物 (HAAs) 测定分析方法的开发。The Malaysian Journal of Analytical Sciences Vol 10 No 1 (2006): 75-80.
7. J Čulík, T Horák, M Jurková, P Čejka, 和 V Kellner. 啤酒中卤乙酸的测定, Proceedings of ECOpole 2008 - tchie.uni.opole.pl

更多信息

获得更多关于我们的产品和服务的信息, 请访问网站 www.agilent.com/chem/cn

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料中出现的错误, 以及由于提供及使用本资料所造成的直接或间接的损失不承担任何责任。

本文涉及的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2011
2011年8月15日, 中国印刷
5990-8765CHCN



Agilent Technologies