

讨论与建议

高效液相色谱法和光度法测定苯酚的对比

龙 玲, 贾竹贤

(中国林科院木材工业研究所; 国家林业局木材科学与技术重点实验室, 北京 100091)

摘要: 分别对液相色谱法和 4-氨基安替比林分光光度法, 测定苯酚的精密度、检测限及准确度等, 进行对比和分析。结果表明: 色谱法和光度法精密度和准确度均较高, 但光度法操作简便且检出限较低, 费用少, 建议作为酚醛胶木制品苯酚释放的定量方法。

关键词: 苯酚; 4-氨基安替比林分光光度法; 高效液相色谱; 精密度; 准确度; 检测限

中图分类号: TQ433; TS6 文献标识码: A' 文章编号: 1001-8654(2011)04-0030-04

Comparison Determination of Phenol by High-Performance Liquid Chromatography and Spectrophotometry

LONG Ling, JIA Zhu-xian

(Research Institute of Wood Industry, Chinese Academy of Forestry; Key Lab of Wood Science and Technology of State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: The authors analyzed the accuracy and detection limit to determine phenol in 4-amino-antipyrine by spectrophotometry and HPLC. The results showed that the precision and accuracy of both HPLC and spectrophotometry were very high. Spectrophotometry was easy to operate, had a lower limit of detection and lower cost. Spectrophotometry was recommended to determine phenol emission from PF wood products.

Key words: phenol; 4-amino-antipyrine spectrophotometry; high-performance liquid chromatography (HPLC); precision; accuracy; limit of detection

苯酚蒸汽具有强烈的刺激性, 长期吸入低浓度的酚, 可引起一系列身体不适症状, 因此, 国质检函[2004]635 号《关于对进出口木制品有毒有害物质实施检测的补充通知》明确规定, 要对木制品、家具中的苯酚等有害物质实施限制。苯酚的测定方法主要有 4-氨基安替比林分光光度法、气相色谱法、液相色谱法、溴量法、荧光分析法和紫外分光光度法^[1-6]等。世界卫生组织在关于化学药品的环境卫生标准中, 详细规定了空气中游离苯酚的检测和分析方法^[7-8], 而目前国内外尚没有木制品中苯酚释放量的检测标准。

对于苯酚不同的存在状态, 如胶黏剂中的苯酚、空气中的苯酚、酚醛塑料中的苯酚等, 需采用不同的样品处理方法和分析方法。针对人造板释放的苯酚, 通过对多种检测方法的比较, 笔者选择高效液相色谱法和 4-氨基安替比林分光光度法进行对比研究, 以期制定木制品苯酚释放检测方法及相关国标, 提供参考和基础数据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试材 9 层酚醛胶胶合板, 市售, 规格(长×宽×厚)910 mm×125 mm×12 mm, 未封边。

试剂 苯酚, 色谱纯; 去离子水, 经 0.45 μm 微孔过滤膜过滤并超声处理; 甲醇, 色谱纯, 经 0.5 μm 微孔过滤膜过滤并超声处理; 碳酸钠, 分析纯; 4-氨

收稿日期: 2010-04-28; 修改日期: 2011-06-15

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD18B0903); 中国林科院林业新技术所基金(CAFINT2007C06); 质检公益性行业科研专项(200910218)。

作者简介: 龙玲(1967—), 女, 中国林科院木材工业研究所副研究员。

基安替比林,分析纯;铁氰化钾,分析纯。

1.2 试验设备

Techcomp LC-2130 型高效液相色谱仪; LC-2030 紫外检测器、六通阀进样器、T 2000P 色谱工作站; VIS-7200 分光光度计; 大气采样器; 0.225 m³ 气候箱。

1.3 试验方法

1.3.1 4-氨基安替比林分光光度法

在碱性溶液中,存在铁氰化钾时,苯酚与 4-氨基安替比林溶液反应,生成红色的安替比林染料,在波长 500 nm 时,可采用分光光度计对其进行比色定量。标准曲线绘制方法:

1) 称取 0.5 g 苯酚,溶于水,定量移入 500 mL 容量瓶中,加水稀释至 1.0 mg/mL 标准贮备液。

2) 使用前,用 0.2 g/L 碳酸钠吸收液将其稀释成 25 μg/mL 标准溶液。

3) 分别向具塞比色管中加入 0.2、0.4、0.8、1.6、2.4、2.8、3.2、3.6、4.0、5.0 mL 标准溶液,并用碳酸钠吸收液定容至 5 mL。

4) 向比色管中加入 0.05 mL 的 4-氨基安替比林溶液(10 g/L)和 0.1 mL 铁氰化钾溶液(10 g/L),摇匀后放置 15 min,于 500 nm 波长下测定吸光度。

5) 各质量浓度重复测定 3 次,并以吸光度均值为横坐标、苯酚质量浓度为纵坐标,绘制标准曲线。

1.3.2 高效液相色谱法(HPLC)

苯酚经带有碳酸钠溶液的吸收管采集,吸收液直接进样,经色谱分离,紫外检测器检测,以保留时间定性,峰高或峰面积定量。HPLC 检测参数的确定:

1) 检测波长 在 200~400 nm 范围内对苯酚进行波长扫描,并绘制吸收曲线。苯酚在 254 nm 处有最大的吸收峰。因此,检测波长选用 254 nm。

2) 柱长 选择 Supelcosilctmlc-18 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm)和 Supelcosilctmlc-18 柱(150 mm×4.6 mm,5 μm)进行试验。柱长主要影响苯酚的保留时间,选用 250 mm 长的色谱柱。

3) 流动相 为了获得较好的分离效果,对体积比分别为 55:45、60:40、65:35、70:30、75:25、80:20 的甲醇-水溶液进行试验,根据结果,选用 65%甲醇+35%水(体积比)二元流动相。

4) 流动相流速 在甲醇与水的体积比为 65:35 时,流速在 0.6~1.2 mL/min 之间,均可使得苯酚具有良好的峰形。考虑各个峰之间的分离及试验进度,选用的流速为 0.8 mL/min。

5) 柱温 室温。

1.3.3 板材游离苯酚释放量测定

1) 采用 0.225 m³ 气候箱,用大气采样器采集试件挥发出来的苯酚。以质量浓度为 0.2 g/L 的碳酸钠溶液为吸收液,吸收液体积 10 mL,采样体积 120 L。

2) 把胶合板试件放入气候箱中,检测条件:

温度 23、40 ℃;相对湿度 50%;换气次数 1 次/h;装载量(待测试件面积与气候箱的体积比)为 2:1、5:1;气流速度 0.1~0.3 m/s。

3) 采用分光光度法和色谱法,分别定量检测。

2 结果与分析

2.1 4-氨基安替比林光度法

2.1.1 苯酚标准曲线及线性范围

在 GB Z/T 160.51-2004《工作场所空气有毒物质测定 酚类化合物》中,4-氨基安替比林光度法测定苯酚质量浓度的范围为 0.1~25 μg/mL。本试验中,当苯酚质量浓度在 0~25 μg/mL 范围内,线性相关系数仅为 $r=0.9787$,作为标准曲线不够理想,将苯酚质量浓度分为 0~14 μg/mL、12~25 μg/mL 2 个范围时,标准曲线见图 1。

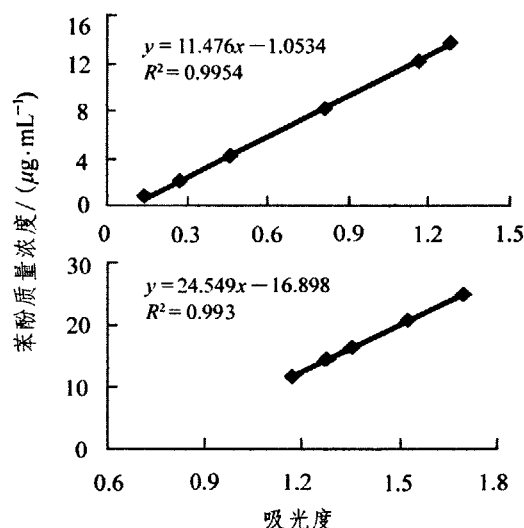


图1 光度法苯酚标准曲线

Fig. 1 Phenol calibration curve by spectrophotometry

由图1可看出,2个范围下的标准曲线线性相关系数 $r>0.99$ 。因此,建议根据测试液苯酚质量浓度的范围,分段绘制标准曲线。

如果待测液的质量浓度 $>25 \mu\text{g/mL}$,则应先稀释到 $0\sim25 \mu\text{g/mL}$ 范围内,再用光度法测定其苯酚含量。

2.1.2 测量精密度、检测限及准确度

1) 精密度(Precision)系指该方法测定同一匀质样品的一组测量值时,彼此符合的程度,测量值之间愈接近,则表明此方法的精密度愈高。用标准差(S)或相对标准差(RSD)表示,应控制在5%以内。取1.5 $\mu\text{g/mL}$ 苯酚标准液进行测定,结果见表1。

表1 光度法检测苯酚标准液的精密度

Tab. 1 Precision experiment data of phenol by spectrophotometry

进样次数	苯酚质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	平均值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	标准差	相对标准 偏差/%
1	1.50	1.498	0.016	1.06
2	1.48			
3	1.52			
4	1.51			
5	1.48			

由表1可见,其 $\text{RSD}=1.06\%<5\%$,说明光度法可满足苯酚的精密度检测要求。

2) 检测限(Limit of detection, LOD)是指分析方法能够从背景信号中区分出所测物时,所需样品中被测物的最低质量浓度,无需定量测定。试验通过不断稀释苯酚溶液的质量浓度,得出该方法的检出限为0.1 $\mu\text{g/mL}$ 。

3) 准确度(Accuracy)指测得结果与真实值接近的程度,通常采用加标回收率来证明。取6份等量样品溶液,加入一定量的苯酚标准溶液进行测定,苯酚回收率列于表2。

表2 光度法的苯酚回收率的检测结果

Tab. 2 Experimental data recovery rate of phenol by spectrophotometry

检测 指标	进样次数					
	1	2	3	4	5	6
样品量/ μg	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02
加标/ μg	1.23	2.46	3.69	4.92	6.15	7.38
所测值/ μg	4.90	6.09	7.29	8.84	9.98	10.85
回收率/%	93.33	93.98	94.55	98.88	98.13	95.18

表2显示,回收率高达93.33%~98.88%。因此,可以采用光度法,对酚醛胶木制品释放的苯酚进行定量分析。

2.2 高效液相色谱法

2.2.1 标准曲线及线性范围

将贮备液配制成1、2、3、4、5、6、10、15、20、25、30、35、40 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液。分别取20 μL 溶液进样,得到色谱图(图2),重复3次,求标样峰面积平均值,以峰面积对苯酚质量浓度绘制标准曲线(图3)。

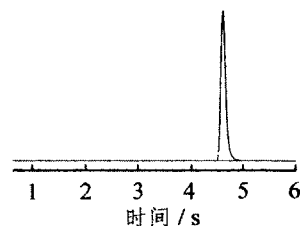


图2 苯酚标样的色谱

Fig. 2 Chromatogram of phenol standards by HPLC

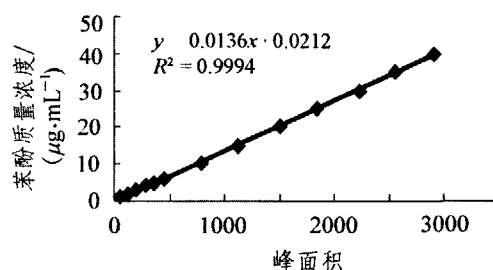


图3 液相色谱法苯酚标准曲线

Fig. 3 Phenol calibration curve by HPLC

根据图3显示,在1~40 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,苯酚的质量浓度与色谱峰面积有很好的线性关系。实际检测时,液相色谱法范围应 $>40 \mu\text{g/mL}$ 。

2.2.2 测量精密度、检测限及准确度

将苯酚标准溶液连续进样5次,每次进样20 μL ,计算相对标准偏差(表3)。

表3 色谱法检测苯酚标准液的精密度

Tab. 3 Precision experiment data of phenol by HPLC

进样次数	峰面积	平均值	标准偏差	相对标准偏差/%
1	61 139	61 923.4	538.9808	0.87
2	62 491			
3	62 367			
4	61 842			
5	61 778			

表3证明,相对标准偏差为0.87% $<5\%$,说明液相色谱法满足苯酚的精密度检测要求。

在选定的色谱条件下,将标准溶液配制成0.1、0.3、0.5、0.7、0.8、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 。分别取20 μL 标准溶液进样,以噪音的3倍峰高所对应的苯酚含量为最低检测限,计算最小检测限为0.5 $\mu\text{g/mL}$ 。

取6份等量样品溶液,分别加入一定量的苯酚标准溶液进行测定,计算苯酚的加标回收率,见表4。

由表4可知,色谱法的加标回收率为95.68%~101.49%,符合要求的范围90%~110%,因此,液相色谱法的准确度高。

综上所述,采用光度法和液相色谱法分析样品中

表 4 液相色谱法的苯酚回收率检测结果
Tab. 4 Experimental data recovery rate of phenol by HPLC

检测指标	进样次数					
	1	2	3	4	5	6
样品量/ μg	20.38	20.38	20.38	20.38	20.38	20.38
加标/ μg	5.13	10.26	15.39	20.52	25.65	30.78
所测值/ μg	24.41	29.45	34.59	41.51	45.96	50.25
回收率/%	95.68	96.11	96.70	101.49	99.85	98.22

的苯酚含量均可行。

2.3 酚醛胶合板游离苯酚释放量测定

试板装载前,测定气候箱中苯酚的背景质量浓度,未检测出苯酚。气候箱相对湿度为 50%时,不同温度和装载率下,胶合板的苯酚释放量列于表 5。

表 5 温度和装载率对酚醛胶合板苯酚释放量的影响
Tab. 5 The effect on phenol emission from PF plywood by temperature and loading rate

装载量/ (m^2/m^3)	气候箱 温度/ $^{\circ}\text{C}$	苯酚释放量/($\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$)	
		光度法	色谱法
2:1	23	25.7	
2:1	40	43.5	42.9
5:1	23	45.3	44.4
5:1	40	69.3	68.7

从表 5 可见,温度和装载率均对板材的苯酚释放有较大影响,光度法和色谱法定量苯酚质量浓度差异较小。在本试验条件下,即采样体积为 120 L、吸收液为 10 mL 时,光度法最低检出质量浓度为 8.33 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,色谱法最低检出质量浓度为 41.67 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 。因此,在 23 $^{\circ}\text{C}$ 下装载率为 2:1 时,采用色谱法未检出苯酚。由于酚醛胶木制品释放的苯酚较低,建议采用光度法进行检测。

3 结论与建议

1) 采用 4-氨基安替比林分光光度法,原理简单,操作简便,呈色稳定,费用低,对木制品苯酚释放量的检测限低(0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$),该方法的精密度和准确度可满足分析要求。建议采用光度法,测定酚醛胶木制品苯酚释放量。

2) 相对于光度法,高效液相色谱法的精密度和准确度更高,但设备成本和检测成本亦明显偏高,操作较复杂,且检测限高(0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$),适于在苯酚含量较高时使用。

3) 气候箱收集游离苯酚方法的检测限、精密度和准确度有待深入研究,为酚醛胶木制品苯酚释放检测方法提供依据。

参考文献:

[1] GB/T 17098-1997 居住区大气中酚类化合物卫生检验标准方法 4-氨基安替比林分光光度法[S].
[2] GB Z/T 160.51-2004 工作场所空气有毒物质测定 酚类化合物[S].
[3] 韩振泰,秦特夫,李改云,等.反相高效液相色谱法测定淀粉基酚醛树脂中游离酚含量[J].现代科学仪器,2008(3):21-22.
[4] GB/T 14074-2006 木材胶粘剂及其树脂检验方法[S].
[5] 曾凡蓉,席永清,张淑青,等.荧光光度法测定环境水样中的苯酚和对苯二酚[J].分析试验室,2007,26(5):76-79.
[6] 张钱丽,刘小燕,王秀玲,紫外-可见分光光度法测定痕量防腐剂苯酚的研究[J].苏州科技学院学报(自然科学版),2007,24(4):53-56.
[7] EHC 161 (1994). Environment Health Criteria 161: Phenol. World Health Organization.
[8] HSG 88 (1994). Health and Safety Guide No. 88. World Health Organization. (责任编辑 张一萍、姜征)

行业简讯

杨木产业发展暨《胶合板》国标修订研讨会在苏召开

2011 年 5 月,全国人造板标准化技术委员会、中国林科院木材工业研究所和江苏省泗阳县人民政府,共同主办了杨木产业发展暨《胶合板》国家标准修订研讨会,来自科研、质检机构,高校及企业的 120 多名专家和业内人士参加会议。

此次研讨会以“实施标准化战略,打造木业支柱产业”为主题,目的是加强泗阳木业产业转型升级,提高木材企业的质量标准意识,提升产业形象。与会专家分别就:质量与标准化;我国林业产业的现状及趋势;中国胶合板和地板产业与杨木利用;我国胶合板

生产思考与进展等主题做专题报告。并就我国胶合板产业发展、阻燃胶合板、胶合板国家标准修订有关技术问题、胶合板产业集群发展、桉树木材加工利用等问题,进行解析。

会议期间,《胶合板》国家标准修订起草小组,还对 2006 年颁布实施的国家标准《胶合板》进行了总结,分析存在的问题,并探讨了解决方法。对提高标准的科学性,应对 2011 年实施的美国《复合木制品甲醛标准法案》,提升胶合板产品质量,将有积极的作用。

本刊讯