

# LC-MS/MS 法测定饮用水中 4-叔丁基苯酚的含量

丁可轩\*, 王雪平

(黄河水利职业技术学院, 河南 开封 475004)

**摘要:**建立了液相色谱质谱法(LC-MS/MS)测定饮用水中4-叔丁基苯酚含量的方法。试样经 HLB 固相萃取柱富集,叔丁基醚萃取洗脱,丹酰氯衍生化后,采用 BEH C<sub>18</sub> 色谱柱分离,三重四级杆质谱仪测定,外标法定量。结果表明:4-叔丁基苯酚在 0.5~50.0 ng/mL 范围内,具有良好的线性关系,相关系数  $R^2$  为 0.999 8;方法检出限为 0.1 ng/mL;加标回收率为 85.3%~97.4%,相对标准偏差为 0.9%~5.5%。该方法检出限低,准确度高,精密度好。

**关键词:**4-叔丁基苯酚;饮用水;LC-MS/MS;测定

中图分类号:X8

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2017)06-0201-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2017.06.048

## Determination of 4-tert-butylphenol in drinking water by LC-MS/MS

DING Ke-xuan\*, WANG Xue-ping

(Yellow River Conservancy Technical Institute, Kaifeng 475004, China)

**Abstract:** A method for determination of 4-tert-butylphenol in drinking water by liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS/MS) is established. The sample is prepared by collecting in HLB solid phase extraction column, then being extracted and eluted by tert butyl ether, and then deriving through dansyl chloride, and finally being separated by BEH C<sub>18</sub> chromatography column. The prepared sample is determined by the triple quadrupole mass spectrometer, and quantified by external standard method. The results show that the linear correlation coefficient  $R^2$  is 0.999 8 in the 4-tert-butylphenol concentration range of 0.5-50.0 ng/mL, indicating a good linear relation. The detection limit is 0.1 ng/mL. The standard recoveries are between 85.3% and 97.4%, and the relative standard deviation is between 0.9% and 5.5%. This detection method features with low detection limit, high accuracy and good precision.

**Key words:** 4-tert-butylphenol; drinking water; LC-MS/MS; determination

4-叔丁基苯酚[(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OH]又称对丁基苯酚,CAS号98-54-4,是一种烷基酚类雌激素内分泌干扰物<sup>[1]</sup>,是生产对叔丁基酚甲醛树脂的重要原料,也用于合成油性酚醛树脂,合成橡胶的增塑剂,油漆的添加剂,医药上用于生产驱虫剂等<sup>[2]</sup>,由于其各种使用途径导致4-叔丁基苯酚进入环境水体、土壤、水生生物体内<sup>[3-4]</sup>,对生态环境构成危害,对眼、皮肤、粘膜有刺激作用,对皮肤有致敏性,可引起皮炎和白斑病。鉴于4-叔丁基苯酚属于外源性酚类雌激素,具有一定的生殖发育毒性,且随着4-叔丁基苯酚在树脂、日用品添加剂、表面活性剂等方面广泛应用,水体、底泥和食品中均已证实检测出4-叔丁基苯酚<sup>[5]</sup>,故开展饮用水中4-叔丁基苯酚的检测方法研究具有重要的意义。

当前,测定4-叔丁基苯酚的分析方法主要为分光光度法<sup>[6]</sup>、液相色谱法(LC)<sup>[7-9]</sup>、气相色谱法(GC)<sup>[10]</sup>、气相色谱质谱法(GC-MS)<sup>[11]</sup>和液相色谱

质谱法(LC-MS/MS)<sup>[12]</sup>等,其中分光光度法、LC、GC和GC-MS样品前处理步骤繁琐,特异性差,灵敏度低;而LC-MS/MS采用LC将目标物高效分离,利用质谱法定性,有效提高了分析方法的准确度、检出限。但目前关于LC-MS/MS测定饮用水中4-叔丁基苯酚含量的报道较少。笔者以饮用水为研究对象,经HLB固相萃取柱富集,叔丁基醚萃取洗脱,丹酰氯衍生化后,采用LC-MS/MS法建立了饮用水中4-叔丁基苯酚含量的检测方法,该法简便、准确、灵敏,可为进一步补充和完善饮用水中4-叔丁基苯酚的卫生标准及其分析方法提供参考依据。

## 1 试验部分

### 1.1 仪器与试剂

TSQ Quantum 型液相色谱-串联三重四级杆液质联用仪,美国 Thermofisher 公司生产;Milli-Q 型超纯水系统,美国密理博公司生产;VORTEX-5 型漩

涡振荡器,北京爱尚阳光科技有限公司生产;YZ-250DB 型超声波清洗器,上海越众仪器设备有限公司。

4-叔丁基苯酚标准物质,纯度 $\geq 99\%$ ,上海安谱实验科技股份有限公司生产;丹酰氯、丙酮、碳酸氢钠、叔丁基醚、甲醇、乙腈,均为色谱纯;其余试剂均为分析纯试剂。Waters Oasis H LB 固相萃取小柱,60 mg/3 mL,美国 Waters 公司生产。

4-叔丁基苯酚标准储备液:准确称取 4-叔丁基苯酚标准品 10.0 mg(精度至 0.1 mg),用体积比为 70:30 的乙腈/水溶解,并定容到 100 mL,质量浓度为 100.0  $\mu\text{g/mL}$ ,4 $^{\circ}\text{C}$  保存。

### 1.2 LC-MS/MS 条件

色谱条件:Waters ACQUITY UPLC BEH  $\text{C}_{18}$  色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm $\times$ 1.7  $\mu\text{m}$ );柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ ;流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水(B),等度洗脱;流速为 0.3 mL/min;进样量为 10  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI),正离子扫描模式;离子源温度为 150 $^{\circ}\text{C}$ ;喷雾电压为 3500 V;雾化气压力为 3 MPa;辅助雾化气流量为 1.5 L/min;毛细管温度为 350 $^{\circ}\text{C}$ ;离子透镜电压为 15 V;监测方式为离子监测方式(SIM);定量离子对( $m/z$ )为 384.3/158.4,定性离子对( $m/z$ )为 384.3/195.6。

### 1.3 试验方法

准确称取饮用水 1L(精度 0.1 mL),经 HLB 固相萃取柱(依次用叔丁基醚、甲醇、超纯水活化)富集,流速为 5 mL/min,以 10 mL 叔丁基醚洗脱萃取液,氮吹仪浓缩近干,加入 1.0 mg/mL 丹酰氯丙酮溶液和 100 mmol/L 碳酸氢钠缓冲液(pH=10)各 100  $\mu\text{L}$ ,漩涡混合 1 min,60 $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 min,冷却至室温后氮气吹干,用 1.0 mL 体积比为 70:30 的乙腈/水溶解,经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤,供 LC-MS/MS 分析。

### 1.4 标准曲线绘制

用乙腈溶液逐级稀释 100.0  $\mu\text{g/mL}$  4-叔丁基苯酚标准储备液,配制成质量浓度分别为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0 ng/mL 的标准系列溶液。分别取上述系列标准溶液 1.0 mL,氮气吹至近干,加入 1.0 mg/mL 丹酰氯丙酮溶液和 100 mmol/L 碳酸氢钠缓冲液(pH=10)各 100  $\mu\text{L}$ ,漩涡混合 1 min,60 $^{\circ}\text{C}$  下衍生 10 min,冷却至室温后,经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤,供 LC-MS/MS 分析。以特征离子色谱峰面积为纵坐标,以 4-叔丁基苯酚标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线,求回归方程和相关系数。

## 2 结果与讨论

### 2.1 质谱条件的优化

取 2.0  $\mu\text{g/mL}$  4-叔丁基苯酚标准溶液,采用流动注射方式进样,利用 ESI 源中的正、负离子扫描模式,在质荷比( $m/z$ )为 50~500 扫描范围内,对 4-叔丁基苯酚进行一级质谱扫描,确定母离子质谱峰后,通过碰撞的方式进行二级质谱分析,优化碰撞电能量,使 4-叔丁基苯酚母离子与特征碎片离子相应强度达到最大,选择合适的子离子,以所选母离子及其子离子进行多反应监测(MRM)扫描。结果发现,4-叔丁基苯酚在正离子扫描模式下才能得到响应值较高的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 母离子峰的  $m/z$  为 384.3;母离子经二级质谱扫描时,产生的碎片  $m/z$  依次为 231.7、195.6、163.2、158.4、133.6、129.1 和 97.6,选择以丰度高、响应值强的子离子  $m/z$  158.4 为定量离子;选择以灵敏度高、基质干扰小的子离子  $m/z$  195.6 为定性离子。4-叔丁基苯酚的二级质谱图如图 1 所示,选择离子的色谱图如图 2 所示。

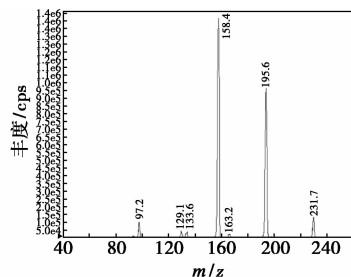


图 1 4-叔丁基苯酚的二级质谱图

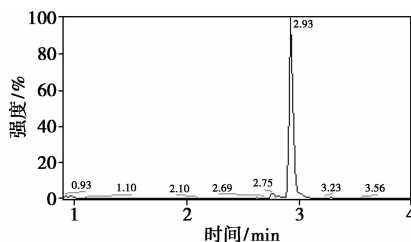


图 2 4-叔丁基苯酚的选择离子色谱图

### 2.2 SPE 固相萃取柱的选择

实际水样采用标准加入法,考察了 SPE 固相萃取柱(WAX、SAX、SCX、PRS、 $\text{C}_{18}$ 、HLB、WCX)对 4-叔丁基苯酚的萃取效果,结果如表 1 所示。从表 1 中可以看出,弱阳离子交换柱(HLB、WCX)对 4-叔丁基苯酚具有良好的萃取率,分别为 97.9% 和 95.4%;强阳离子交换柱 SCX、PRS 和  $\text{C}_{18}$  柱对 4-叔丁基苯酚的萃取效果适中,平均萃取率为 79.6%;

而弱阴离子交换柱 WAX 和强阴离子交换柱 SAX 对 4-叔丁基苯酚萃取效果较差,尤其是 SAX 柱对 4-叔丁基苯酚萃取回收率仅为 61.4%。所以选择 HLB 柱作为固相萃取柱。

表 1 固相萃取柱对 4-叔丁基苯酚萃取率的影响

固相萃取柱	WAX	SAX	SCX	PRS	C <sub>18</sub>	HLB	WCX
萃取率/%	67.1	61.4	79.2	82.3	77.4	97.9	95.4
标准差/%	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2

### 2.3 丹酰氯衍生化的选择

为提高目标分子的检测灵敏度,丹酰氯常作为衍生化试剂,利用 HPLC-紫外检测器或荧光检测器对含有伯、仲氨基,酚羟基的化合物的微量、痕量进行检测。针对丹酰氯含有 1 个叔氮原子,具有较强碱性,在质谱测定中易于结合氢原子,使丹酰氯中磺酰基与目标分子 4-叔丁基苯酚中酚羟基发生反应,提高 4-叔丁基苯酚的质子化 ( $[M+H]^+$ ) 效率,从而使其具有较高的质谱响应,将质谱响应较低的酚羟基转变为响应很强的叔氮原子,产生新的质谱响应活性中心,质荷比 ( $m/z$ ) 为 384.3, 4-叔丁基苯酚的丹酰氯衍生化方程式如图 3 所示。

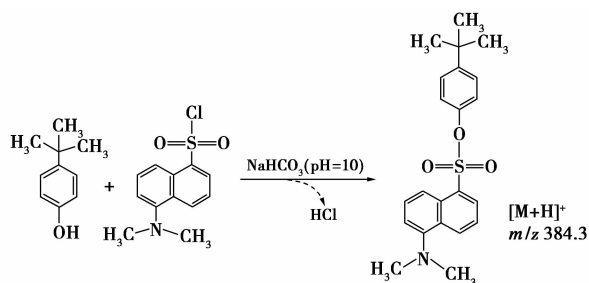


图 3 4-叔丁基苯酚的丹酰氯衍生化方程式

### 2.4 色谱柱的选择

考察了色谱柱 (Waters HSS T3、BEH C<sub>18</sub>、BEH HILIC) 和流动相 (乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.1% 甲酸水、甲醇-0.1% 甲酸水) 对 4-叔丁基苯酚分离效果的影响。试验表明:当用 BEH C<sub>18</sub> 色谱柱作分析柱时,4-叔丁基苯酚峰形较为尖锐,基线平稳,出峰时间适中;当用乙腈-0.1% 甲酸水作流动相时,4-叔丁基苯酚响应值较高,半峰宽窄、峰型对称尖锐,保留时间为 2.93 min (如图 2 所示),且由于使用 0.1% 甲酸而抑制微生物滋生,从而延长了流动相使用期限。因此,选择 BEH C<sub>18</sub> 色谱柱为分析柱,以乙腈-0.1% 甲酸水为流动相,2.93 min 内可获得 4-叔丁基苯酚的谱峰 (如图 2 所示)。

### 2.5 线性范围和方法检出限

分别配制质量浓度为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0 ng/mL 的标准系列溶液,以特征离子色谱峰面积 ( $y$ ) 为纵坐标,以 4-叔丁基苯酚标准溶液质量浓度 ( $x$ ) 为横坐标,绘制标准曲线,求回归方程和相关系数。实验结果表明:4-叔丁基苯酚在 0.5~50.0 ng/mL 质量浓度范围内,特征离子色谱峰面积与其质量浓度呈现良好的线性关系,线性方程为:  $y = 3.2 \times 10^7 x + 1.4 \times 10^4$ , 相关系数  $R^2$  为 0.999 8。

按照国际纯粹与应用化学联合会 (IUPAC) 的规定,对空白溶液测定 20 次,计算标准偏差,由 3 倍的标准差除以校准曲线斜率得出方法检出限,实验结果表明,饮用水中 4-叔丁基苯酚检出限为 0.1 ng/mL。

### 2.6 加标回收率和精密度

取 3 份饮用水试样,依次添加 4-叔丁基苯酚使其最终质量浓度为 0.5、5.0、50.0  $\mu\text{g/L}$ ,按照 1.2 和 1.3 中所述的方法进行测定,加标回收率和精密度结果如表 2 所示。由表 2 可以看出,在加标质量浓度为 0.5~50.0  $\mu\text{g/L}$  范围内,饮用水中 4-叔丁基苯酚加标回收率在 85.3%~97.4% 之间,相对标准偏差 ( $RSD$ ) 在 0.9%~5.5% 之间。表明该方法准确度和精密度均良好。

表 2 回收率和精密度 ( $n=6$ )

添加质量浓度/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	饮用水 1			饮用水 2			饮用水 3		
	0.5	5.0	50.0	0.5	5.0	50.0	0.5	5.0	50.0
测定值/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )									
1	0.43	4.58	46.21	0.42	4.61	48.91	0.43	4.67	48.62
2	0.46	4.73	47.61	0.46	4.59	47.92	0.42	4.64	48.36
3	0.44	4.78	45.36	0.42	4.58	48.91	0.41	4.69	46.34
4	0.44	4.62	45.78	0.39	4.73	48.62	0.44	4.81	48.18
5	0.45	4.68	43.69	0.43	4.62	48.57	0.45	4.78	47.29
6	0.44	4.67	47.67	0.44	4.76	49.12	0.45	4.83	47.16
平均测定值/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	0.44	4.68	46.05	0.43	4.65	48.68	0.43	4.74	47.66
平均回收率/%	88.7	93.5	92.1	85.3	93.0	97.4	86.7	94.7	95.3
相对标准偏差 $RSD/\%$	2.3	1.5	3.3	5.5	1.7	0.9	3.8	1.7	1.8

### 2.7 实际样品的测定

随机选取 30 份饮用水试样,按照所建立的 LC-MS/MS 法测定饮用水中 4-叔丁基苯酚的质量浓度。结果表明:30 份饮用水中,4 份饮用水中检出含

有 4-叔丁基苯酚,最高值达 273.4  $\mu\text{g/L}$ ,阳性检出率为 13.33%;其余 26 份饮用水中,4-叔丁基苯酚均为未检出 4-叔丁基苯酚。表明部分饮用水已被 4-叔丁基苯酚污染,而 4-叔丁基苯酚具有雌激素内分泌干扰活性,对人体健康存在潜在威胁,故其质量安全应受到严格监控。

### 3 结语

建立了 LC-MS/MS 法测定饮用水中 4-叔丁基苯酚质量浓度的方法。试样经 HLB 固相萃取柱富集,叔丁基醚萃取洗脱,丹酰氯衍生化后,采用 BEH  $\text{C}_{18}$  色谱柱分离,三重四级杆质谱仪测定,外标法定量。结果表明:4-叔丁基苯酚在 0.5~50.0  $\text{ng/mL}$  范围内具有良好的线性关系,相关系数  $R^2$  为 0.999 8;方法检出限为 0.1  $\text{ng/mL}$ ;加标回收率为 85.3%~97.4%,相对标准偏差为 0.9%~5.5%。该方法检出限低,准确度高,精密度好,可为水质行政监管部门提供 4-叔丁基苯酚检验检测技术服务。

### 参考文献

- [1] 胡玲,高乃云,徐斌,等.水体中 4-叔丁基苯酚的去除研究进展[J].工业用水与废水,2007,38(5):1-3.
- [2] 张鸣九.对叔丁基苯酚现状与发展[J].化工时刊,1989,3(2):15-18.
- [3] Koichi I, Yuriko Y, Sachiko K, et al. Determination of phenolic xenoestrogens in water by liquid chromatography with coulometric-

array detection[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 946(2): 291-294.

- [4] Migaku K, Norihiro S, Noriya O, et al. Stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry for measurement of phenolic xenoestrogens in human urine samples[J]. Journal of Chromatography B, 2005, 820(1): 49-57.
- [5] Cevdet U, Incl E, Yildiz E, et al. Alkylphenol concentrations in two rivers of Turkey[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2003, 14(1): 87-88.
- [6] 杨亚玲,胡秋芬,杨光宇,等.固相萃取光度法测定饮用水中的酚[J].分析化学,2002,30(7):888-889.
- [7] 朱晓艳,陈少鸿,刘在美,等.离子液体-高效液相色谱法测定食品接触材料中 3 种酚类物质的迁移量[J].食品科技,2013,38(9):291-295.
- [8] 李英,孙小颖,吴景武,等.高效液相色谱法测定食品接触材料中苯酚和 4-叔丁基苯酚迁移量[J].分析实验室,2011,30(9):120-123.
- [9] Gagliardi L, Cimorelli A, Cavazzutti G, et al. Determination of 4-tert-butylphenol and 4-tert-butylcatechol in cosmetic products by reversed-phase high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1989, 466(1): 433-7.
- [10] 李友培.固相萃取-气相色谱法测定地表水中的痕量苯酚[J].理化检验-化学分册,2016,52(9):1071-1072.
- [11] 王丽,张展,李磊.气相色谱-质谱法测定饮用水源中的痕量酚类物质[J].理化检验-化学分册,2016,52(5):584-588.
- [12] 朱传新,郑艳容.超高效液相色谱串联三重四级杆质谱法快速测定人血清中双酚 A 和 4-叔丁基苯酚[J].中国卫生检验杂志,2016,26(12):1689-1672. ■

## 2017 中国(义马)锂电池材料产业与技术发展论坛在河南义马举行

2017 年 5 月 23—24 日,由中国化工信息中心、三门峡市人民政府主办的“2017 中国(义马)锂电池材料产业与技术发展论坛”在河南义马市隆重召开,来自工信部、大连理工大学、上海汽车工程学会、吉林大学、成都雅骏新能源汽车科技股份有限公司、中国化学与物理电源行业协会、中国塑料加工工业协会、光大证券、上海交通大学、中南大学、南京工业大学、中国石化、河南义腾新能源科技有限公司、北京石油化工学院、中科院电工所、中国石油大学等政府主管部门、相关科研院所与协会、证券公司、锂电池材料以及下游电动汽车生产企业的十数位专家,分别就锂电池的产业规划、正负极材料、电池隔膜、电解液、新能源汽车的发展趋势以及新能源汽车对锂电池材料的要求等内容进行了主题演讲;会议期间,义马市政府分别与中国化工信息中心、上海市汽车工程学会签署了战略合作协议,河南义腾新能源科技有限公司也与吉林大学签订了战略合作协议;论坛期间,义马市政府还组织与会专家和代表到万基铝业股份有限公司、河南义腾新能源科技有限公司、开祥化工有限公司等进行了现场参观。

锂离子电池最早由日本企业于 20 世纪 80 年代推向市场,在之后的 20 多年里,日本成为了全球锂离子电池的产业聚集地;20 世纪最后几年,韩国和中国企业开始涉足锂

离子电池产业,并在 21 世纪初期开始迅速崛起;2013 年中国锂离子电池出货量超过韩国成为全球第一。从市场规模来看,2010 年我国锂离子电池市场规模仅为 280 亿元,2015 年则达到了 832 亿元,主要原因是这几年我国新能源汽车数量迅猛增长,带动电动交通工具用动力电池市场快速增加。未来由于受政策、市场、技术、资本等多重利好因素影响,我国新能源汽车市场仍将呈快速增长趋势,动力电池锂离子电池也将迎来巨大市场空间,预计 2015—2020 年我国锂离子电池市场规模年均增长率有望继续超过 20%。

义马市位于河南省西部,煤炭资源丰富。义马市建市 36 年来,始终坚持工业立市、工业强市的战略,立足当地实际,培育形成了煤炭、煤化工、新材料、电子信息、装备制造等五大主导产业,特别是对新材料和电子信息产业,义马市委、市政府始终将其作为经济转型的重要载体和抓手,尤其是对于锂离子电池材料尤为重视。义马市委书记杨彬表示,义马作为一个资源型城市,在当前经济下行压力持续加大和供给侧改革不断深入的形势下,将以“决胜二次创业、加快转型发展”为总体思路,明确以新材料和电子信息产业为突破口和着力点,全力打造全省新型工业化的创新区,努力实现综合经济实力重回全省第一方阵的奋斗目标。(张月丽)