

青岛大学

硕士学位论文

离子色谱法用于食品及环境样品中的阴离子和雌激素的检测及
鉴定分析

姓名：吕娜娜

申请学位级别：硕士

专业：分析化学

指导教师：王宗花

20120608

摘要

本文介绍了离子色谱法 (IC) 的分类、优点及应用。针对日常生活中环境监测、食品安全等热点问题, 利用其快速、灵敏、稳定性高、选择性好、对环境友好等优点, 研究开发检测和鉴定分析的方法, 包括环境水样、地沟油及水产品样品中阴离子, 乳制品中雌激素的检测等。

本文的研究工作主要包括四部分:

一、离子色谱法测定沙尘暴对青岛市雨水中阴离子的影响研究

离子色谱法在环境监测中已得到广泛应用。本研究基于异常天气后, 降水中离子种类及含量会发生显著变化, 将青岛市南区沙尘暴天气后降水与日常降水中的阴离子进行种类和质量浓度对比分析, 将异常天气对局部地区造成的危害程度量化, 以期为我国沿海地区大气环境污染研究以及周边的空气质量监督提供理论支持。

二、离子色谱法用于地沟油样品鉴定

地沟油使用普遍, 给食品安全造成了相当大的威胁。对于这样一个复杂样品, 检测标准不唯一, 对确认造成一定困难。本工作采用离子色谱法检测油样品中多种阴离子, 通过具有代表性阴离子含量辅助确认地沟油, 该方法简单易操作, 可同时分析多组分且可行性好。

三、离子色谱法测定水产品中氟离子含量

食品中氟离子含量是否超标成为食品安全方面的一个重要问题, 检测氟离子对于保障食品安全有相当的意义。离子色谱法用于氟离子测定具有快速、灵敏、稳定性高、选择性好、样品前处理简单等突出优点, 本工作通过优化前处理方法, 建立了鲫鱼、蛤蜊、鳕鱼等水产品中氟离子的测定方法。

四、离子色谱法测定奶制品中双酚 A

雌激素检测方法以高效液相色谱法 (HPLC), 气相色谱法 (GC) 等为主。相比较而言, 离子色谱法用于雌激素分离仪器成本较低, 分析方法简便易行, 对环境和分析工作者更友好。本文利用双酚 A (BPA) 在碱性条件下以离子状态存在, 用自制的石墨烯 (G) 填充柱用于样品的前处理, BPA 吸附效果理想。有电化学活性的 BPA 可通过离子交换作用分离, 电化学方法检测, 成功建立了一种简单快速的阴离子交换色谱-电化学测定奶制品中双酚 A 的方法以满足日常检测需要。

硕士研究生 吕娜娜 (分析化学)

指导教师 王宗花 教授

关键词: 离子色谱; 阴离子; 雌激素; 固相萃取; 石墨烯

Abstract

Ion chromatograph(IC) was introduced to examine samples for its fast, effective, stable, selective and environmentally friendly analytical advantages in process for analysis. In connection with hot topic on environment monitoring and food safety in daily life, new methods were developed to solve analysis difficulties, including anions in environment water, swill oil sample and estrogen in dairy products and so on. This work focused on four parts.

1 The Influence of Sandstorm on the Anions in Rainwater of Qingdao by Ion Chromatography

Ion chromatography has been widely used in environmental monitoring in recent years. This study is based on significant changes in the anion components and concentration after abnormal weather. Results showed that sandstorm influenced the water soluble ionic concentration in the atmosphere and air quality of Qingdao obviously, and this essay can provide valuable information to environmental monitoring department.

2 Ion Chromatography Method to Identify Illegal Cooking Oil

A simple anion-exchange chromatography method was established to determine illegal cooking oil which is a considerable threat to food safety and difficult to identify for its complexity. Illegal cooking oil contains larger quantities of anions and the anions components and concentration can be treated as significant sign for the identification of qualified oil. The method is simple, easy to operate and suitable for multi-component analysis simultaneously.

3 Determination of Fluoride in the Aquatic Product by Ion Chromatography

Fluoride content in the food was paid much attention for food safety nowadays. The determination of fluoride by Ion Chromatography owned these outstanding advantages of rapid, sensitive, stable and selective. In this work, IC method was established by optimizing the pretreatment procedure to determine fluoride in carp, clams, cod fish and other aquatic product.

4 Determination of Bisphenol A in Dairy Products Using Solid Phase Extraction Followed by Ion Chromatography with Constant Potential Detection

Estrogen was examined mainly by highly effective liquid phase chromatography (HPLC) and gas phase chromatography (GC). Comparatively speaking, estrogen separation with IC method is low in instrument expenditure, friendly to environment and easy to operate. In this paper, In addition, the performance of C18, and graphene (G) as

SPE sorbents were evaluated, respectively. G showed higher extraction efficiency and was chosen as the adsorbent for BPA extraction from dairy samples finally. BPA exists as anions under alkaline conditions and can be detected with electrochemical method for the electrochemical activity characteristics. This method has been successfully employed to analyze BPA in dairy products.

Postgraduate student: NaNa Lv (Analytical Chemistry)

Directed by prof. ZongHua Wang

Keywords: ion chromatography; anion; estrogen; solid phase extraction (SPE); Graphene

第一章 引言

1.1. 离子色谱法简介

1.1.1. 离子色谱发展简史

20 世纪 40 年代, 离子交换树脂就被应用于离子性物质的分离, 但技术不成熟, 树脂颗粒大, 填充柱不均匀, 导致分离效果不佳。60 年代末, 离子色谱技术有了较大发展, 离子交换树脂的性能大大改进, 高压泵的使用, 使分离和分析效果都大大提高。但依然存在缺陷: 流动相背景电导很高, 无法使用电导检测器检测区分流动相和待测离子。1975 年, 美国 Dow 化学公司 H. Small 首次在论文和专利中提出离子色谱 (IC)。他采取柱抑制的方法降低流动相背景电导, 从此离子色谱法作为一门专门分离方法从液相色谱中独立出来, 并在分析各种样品中的阴阳离子得到广泛应用。作为液相色谱的一个分支, 离子色谱仪于 20 世纪 70 年代中期在美国诞生并被商品化。

狭义上讲, 离子色谱是以离子交换树脂为固定相对离子性物质进行分离, 用电导检测器连续检测流出物电导变化的一种色谱方法。然而随着对生物、医学、食品中的有机离子分析研究的增多, 离子色谱从广义上可以定义为利用被测物质的离子性进行分离和检测的色谱法。

1.1.2. 离子色谱的分类

根据分离机理不同, 离子色谱可分为离子交换色谱, 离子排斥色谱和离子对色谱。这三种分离方式的柱填料树脂骨架是苯乙烯-二苯乙烯基苯的共聚物, 差别在于树脂的离子交换容量不同。离子交换色谱使用的是低容量离子交换树脂 (0.01-0.50 mmol/g), 离子排斥色谱用高容量树脂 (3-5 mmol/g), 离子对色谱用不含离子交换基团的多孔树脂。

离子交换色谱法是基于流动相中样品离子和固定相表面的离子交换基团的离子交换作用。分离的机理主要是靠离子间电场的相互作用, 其次是非离子性的吸附过程。离子交换色谱法的固定相主要是以聚苯乙烯和多孔硅胶作为基质, 然后键合上离子交换功能基团。阴离子分离主要采用季铵基作为交换基团, 阳离子分离主要采用羧基和磺酸基团作交换功能基。离子交换色谱法适用于无机和有机阴阳离子的分离。

离子排斥色谱是利用电介质与非电介质, 对离子交换剂的不同吸、斥力而达到分离的色谱方法, 分离机理主要为 Donnan 排斥, 空间排阻和吸附。固定相以高容量总体磺化的聚苯乙烯/二乙烯基苯阳离子交换树脂为主。离子排斥色谱适用于从强酸中分离弱酸, 或者弱酸的相互分离。

离子对色谱是将一种（或多种）与溶质离子电荷相反的离子（对离子或反离子）加到流动相中使其与溶质离子结合形成疏水性离子对化合物，使其能够在两相之间进行分配。分离机理以吸附为主，固定相主要是弱极性、大表面积的中性多孔聚苯乙烯二乙烯基苯树脂，以及弱极性的辛烷或十八烷基键合的硅胶类。离子对色谱主要用在具有表面活性的阴离子和阳离子以及金属络合物的分离。

除上述三种主要分离方式，还有反相色谱。其用于离子型、极性化合物的分离较为普遍。例如固定相上键合氨基，以磷酸缓冲液作淋洗液，分离食品样品中的 NO_3^- 和 Br^- ；固定相为化学键合的十八烷基，以离子抑制方式上分离长链脂肪酸。

1.1.3. 离子色谱的优点

溶液中离子型化合物的分离分析是经典分析化学主要内容。分析阳离子的方法有如原子吸收、X 射线、高频电感耦合等离子体发射光谱等较灵敏方法；对于阴离子分析，在离子色谱法出现之前只能用一些灵敏度低且操作繁琐的分析方法，如容量分析、光度分析、重量分析法和比浊法等。同时测定多种阴离子的快速、灵敏而准确的分析手段当首推离子色谱法，因其具有以下优点。

(1) 分析快速方便现代科学研究及产品质量控制检测中，完成一项分析任务所用时间缩短对分析更有利。离子色谱法对 7 种常见阴离子 (F^- 、 Cl^- 、 NO_2^- 、 Br^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-}) 和 6 种常见阳离子 (Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+) 的平均分析时间均小于 10 min。如果用快速分离柱对上述七种最常见阴离子分析只需 3 min。

(2) 灵敏度高离子色谱分析的浓度范围是 $\mu\text{g/L}$ - mg/L 。进样 50 μL ，对常见阴离子的检出限达 10 $\mu\text{g/L}$ 以下。通过在线预浓缩或通过增加进样量的方法，可检测对电厂，核电厂以及半导体工业精密电子工业中所用的超纯水，检出限可达到 ng/L 级。

(3) 选择性好离子色谱法分析无机、有机阴阳离子的高选择性主要通过选择合适的分离柱和检测器达到。一定的分离模式针对某几种离子的分离分析，例如在分析含有有电化学信号响应的目标物时，选用安培检测器既可提供高灵敏度又可很好的避免一些物质的干扰。用电导检测器时，可用抑制技术将被测离子的反离子从分析体系中排除掉。

(4) 可同时分析多种离子化合物 IC 区别于光度法、原子吸收法的主要优点，在于可同时检测样品中的多种成分。在较短的时间内实现数 10 种以上离子的同时分析已不是难事，而且能得到样品中阴阳离子及组成信息。另外，离子色谱的工作曲线的线性范围可达到 2-3 个数量级，且可同时准确检测浓度相差较大的离子。

(5) 离子色谱柱的稳定性好，容量高色谱柱的稳定性取决于柱填料。IC 广泛使用苯乙烯/二乙烯苯聚合物填料，与 HPLC 用的硅胶填料相比，这种树脂要更耐强酸、强碱性流动相。随着色谱柱技术的更新发展，现已有 100%耐有机溶剂和全 pH (1-14)

范围适用的高性能离子色谱柱上市。

1.1.4. 离子色谱法的应用领域

离子色谱 (IC) 作为一种硬件相当成熟的仪器分析方法, 研究的重点是应用领域和应用对象的开发, 目前, 其应用范围包括环境监测^[1]、食品农药分析^[2-3]、化工^[4]、电子器件^[5]、生物医学等各个领域。

IC 在环境分析中的应用离子色谱在生产初期最重要的应用是对环境样品的分析。分析对象主要是环境样品中各种阴、阳离子的定性、定量分析。例如大气、雨水和地表水等样品中的各种阴、阳离子的测定, 如 F^- 、 Cl^- 、 NO_2^- 、 Br^- 、 NO_3^- 、 HPO_4^{2-} 、 SO_4^{2-} 等阴离子和 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等阳离子, 这些离子可在 10 min 左右完成分离与检测。目前我国环境检测部门已广泛将离子色谱用于酸雨的测定, 与其他方法相比, 离子色谱法分析离子会更简单和准确。

在食品中的应用食品安全问题日渐凸显, 备受人们关注, 食品分析一直是目前离子色谱法应用的三个主要研究方向之一, 与传统的分析方法相比, IC 法的突出优点是同时分离多组分, 样品前处理简单, 因此成为了分析食品和饮料中阴阳离子、有机酸、胺的常用分析方法。在此领域的研究中, 陈青川^[6,7]等综述了 1994-1998 年食品中无机阴离子、金属离子、胺类化合物、有机酸、肌醇六磷酸类化合物、糖类等的 IC 分析。

在微电子、电力工业中的应用离子色谱可用于测定半导体器件、磁盘驱动器和电子零部件下线时的清洁度。将其作为一种质控方法, 通过测试可发现生产过程中的污染源。例如, 电子工作者发现在硅热处理加工过程中, 微量的金属离子如铜、铁和镍对硅的玷污将会对单晶硅片的电子性能产生不利的影 响, 只要用少量的超纯水冲洗晶片表面, 然后利用离子色谱的柱后衍生显色技术, 便可以快速检测晶片上的金属污染物。

在生物医学研究中的应用在生物医学领域中, IC 的应用还不是很多。随着的色谱技术的发展, 各类色谱柱和检测器的不断更新, IC 已经可用于分析血、血清和尿液中的阴离子和阳离子^[8-10]; 也有人使用较高容量的分离柱, 对尿液和血清样品中的草酸和枸橼酸的含量进行了测定^[11]。文献还报道了用固相萃取-离子色谱联用进行血清中游离氨基酸的研究^[12]。

1.2. 雌激素的色谱分析方法

在食品、生物医药领域, 雌激素分析占有很重要的地位。雌激素如双酚 A, 己烯雌酚等对人体健康有重要意义, 检测方法的多样化有助于保障将其应用的安全性。雌激素的分析一般采用 HPLC, 气相色谱和免疫组化等分离模式进行分析。而离子交换色

谱法应用于雌激素分离非常罕见，其优势在于可以避免样品中其它非离子性有机物的干扰。下面介绍一些用不同的色谱方法来测定雌激素的实例。

HPLC 法 WangLing 等人^[13]以浊点萃取法高效液相色谱-紫外检测法 (HPLC-UV) 对水中的雌三醇 (E3)，雌二醇 (E2)，雌酮 (E1)，水孕酮 (P) 进行了检测；WangShu 等人^[14]通过制备了大小均匀的印迹模板方式以 HPLC-UV 法选择性测定了鸡肉组织中的痕量雌激素；Jadwiga Piwowarska 等人^[15]以高效液相色谱电化学方法 (HPLC-ED) 测定血清中 8 种雌激素及其代谢产物；David Matejcek 等人^[16]以 HPLC-MS/MS 快速测定了河流沉积物中的雌二醇，雌二醇，雌三醇，雌酮，炔雌醇及其硫酸盐等；Wang Shuo 等人^[17]以在线 SPE-HPLC 法检测了环境中雌激素；Chuande Zhao^[18]等人自己合成分子印迹聚合物并以在线 SPE-HPLC 法快速分离了雌三醇，雌二醇，雌酮和己烯雌酚。

GC 法 Sadao Nakamura 等^[19]以 GC-MS-NICI 负离子化学电离法检测了河水中 17 α -雌二醇，17 β -雌二醇，雌酮，乙炔雌二醇和雌三醇；Migaku Kawaguchi^[20]以热原位衍生搅拌棒吸附萃取 (SBSE) 脱附 (TD) 气质连用检测方式测定了水中微量人工合成及天然雌激素雌酮 (E1)，17-雌二醇 (E2) 和 17 炔雌醇等。

其他方法 Lun Wang 等^[21-22]提出了一种流动注射化学发光 (FI-CL) 用于测定雌激素药物和自来水中雌激素的方法；J. Pearson 等人^[23]以表面等离子共振检测法 (SPR) 分析雌激素；Lin Xiangqin^[24]制备了多壁碳纳米管修饰铂电极 (Pt/MWNTs/GCE) 灵敏测定了雌二醇、雌甾酮和雌三醇。

1.3. 色谱分析的前处理方法

测定实际样品时，如何将目标物质从复杂基质中提取出来对于分析工作者是一项重要的工作。这也是关系到分析结果是否准确可靠的关键步骤。固相萃取 (solid phase extraction 简称 SPE) 是从八十年代中期发展起来的一项由液固萃取和液相色谱技术结合发展起来的样品前处理技术。主要作用在于样品的分离，净化和富集从而达到降低样品基质干扰、提高检测灵敏度的目的。

SPE 技术基于液固相色谱理论，采用选择性吸附，选择性洗脱的方式对样品进行富集，分离，纯化。包括液相和固相的物理萃取过程，也可以将其近似地看作一种简单的色谱过程。固相萃取较常用的方法是使溶液通过吸附剂，保留其中被测的物质，再选用适当溶剂冲去杂质，然后用少量优良溶剂迅速洗脱被测物质，从而达到快速分离净化和预浓缩的目的。另一种使用方法是选择性吸附干扰杂质，从而让被测物质流出；或者同时吸附杂质和被测物质，再使用合适的溶剂选择性洗脱被测物质。研究和开发高效率和高选择性的吸附材料当今固相萃取研究的一个非常重要的方向。研究可

以从以下几个方面着手：实现更好的选择性吸附（甚至是对某种物质的特异性吸附）；提高材料的吸附容量和耐压的机械稳定性。石墨烯（G），一种新型的二维纳米材料，因具有超大的比表面积具备了超大的吸附容量；其碳原子由六元环构成， π 电子共轭体系和疏水表面赋予石墨烯优异的选择性。G 有着独特的化学和物理性质，功能化后 G 可以被用在电极，生物传感器等电化学分析领域^[25-29]。G 的吸附机理与其它的碳材料相似，依靠疏水作用和电子间相互作用来吸附目标物质，因此非极性，极性甚至是离子化的物质都可能在 G 吸附，尤其是对于含有芳香环的物质可以通过 π - π 共轭作用产生强烈的吸附作用。Liu 和 Li^[30]等采用改进的 Hummers 方法制备了氧化石墨烯，进而用水合肼还原氧化石墨烯制备了 G，并用 G 对亚甲基蓝进行了吸附能力研究，发掘了 G 优异的吸附性能。Chen 和 Zou^[31]等人的研究表明用作固相微萃取的 G 涂层纤维对 6 种菊酯类农药的提取具有优于其他商业材料的性显著优势，这归因于 G 的大的比表面积和菊酯类农药中芳香环和 G 之间的 π - π 共轭作用。

1.4. 论文选题背景和主要研究内容

IC 是离子性物质分析的最佳选择。本课题将 IC 应用于环境水样、地沟油、水产品 and 奶制品等食物样品中，建立以离子色谱法为基准的分析方法，通过检测特征阴离子种类及含量，起到鉴定作用，并将危害程度量化，对于环境检测和食品安全都具有重要意义。

雌激素检测方法主要为高效液相色谱和气相色谱。高效液相色谱的检测器包括紫外、荧光、质谱、二极管阵列检测、电化学检测等。紫外吸收和荧光检测器因选择性和灵敏度较低导致使用受到限制，质谱的使用可以提高选择性，减少样品的处理，并提供很高的灵敏度，但价格昂贵。且对于复杂的样品基质 LC-MS 仍需要繁琐的前处理步骤。双酚 A (BPA) 分子中存在酚羟基，可以电化学作检测器 (ED) 检测。LC-ED 已经被报道用来检测食品中的 BPA，而且获得了与质谱相近的灵敏度。GC 测定往往需要先衍生化，增加了操作过程的复杂性，而且有些衍生化试剂对身体有害。离子色谱法与其它的测定方法相比较，所用试剂大部分为无机溶剂，且仪器花费不高，分析方法易掌握，是对环境友好和分析工作者友好的方法。本文开发了离子色谱法检测雌激素的新方法。本文主要包括四部分研究内容。

本文的主要研究内容包括四部分：

- 一、离子色谱法测定沙尘暴对青岛市雨水中阴离子的影响研究；
- 二、离子色谱法在地沟油样品鉴定中的应用；
- 三、离子色谱法测定水产品中氟离子含量方法的研究；
- 四、固相萃取-离子色谱直流安培法检测乳制品中双酚 A。

第二章 离子色谱法测定沙尘暴对青岛市雨水中阴离子的影响研究

2.1. 前言

沙尘暴天气的危害是多方面的,尤其是对环境和人体健康的损害以及对气候变化的影响非常显著^[32]。随着人类活动向大气排放的污染物增加,各种污染物进入大气中,通过物理和化学作用,形成了气溶胶。影响气溶胶的组成因素复杂,其中细粒子的影响较大,比如硫酸盐、硝酸盐、铵盐、含碳气溶胶粒子等,这些粒子在高空形成悬浮颗粒,当沙尘暴来袭,这些颗粒随大风在空中蔓延,遇到冷空气可随降水落到地面,影响雨水组份含量的变化,而雨水组成的变化对生态和人类健康影响显著。

近年来,离子色谱法^[33]在环境监测中得到广泛应用,它是一种独特而有效的快速分析微量离子(特别是阴离子)且对环境友好的分析技术。国内外以离子色谱法测定地表水、海水^[34-35]、雨水组成^[36-41]、大气气溶胶^[42-49]和降水中的离子测定及生活用水^[44-45]等中的组分多有报道。P. Chandra Mouli 等人^[36]研究了印度半岛具有代表性的蒂鲁伯蒂城市雨水酸度及化学组成,结果表明,该地区雨水中酸性成分被地壳离子中和呈现碱性,确认了该地降水中离子来源以陆源为主而非人为或海洋因素。Miao-Ching Cheng 等人^[37]报道了台风对台南地区雨水中可溶解的化学成分的影响,为研究大气污染源和短期环境变化提供了有参考价值的信息。江伟等人^[38]利用离子色谱法对贵州省遵义地区降水中主要阴离子进行了测定,发现有机酸主要来自云下淋滤作用,少数情况来自大气远距离传输。王真等^[39]以该方法检测了城市污水中的持久污染物高氯酸根,克服了气相色谱方法中由于使用挥发性的二氯甲烷而导致的环境空气污染问题。

2010年3月20日,受新疆、甘肃一带沙尘暴天气的影响,青岛遭遇了近十年来罕见的强浮尘天气,随后出现雨夹雪天气。本研究基于此次收集的雨雪水,采用离子色谱的等度洗脱方式,将青岛市南区沙尘暴天气后降水与日常降水中的阴离子进行种类和质量浓度对比分析,将异常天气对局部地区造成的危害程度量化,有助于研究沙尘暴天气对本区域环境大气的质量状况影响,以期为我国沿海地区大气环境污染研究以及周边的空气质量监督提供重要的资料。

2.2. 实验部分

2.2.1. 实验仪器及色谱条件

PIC-10 型离子色谱仪(青岛普仁仪器有限公司); NJ-SA-4A (250 mm×4.6 mm i.d.) 阴离子分离柱 (青岛普仁提供), 瑞士万通 Metrosep A supp 5 (150 mm×4.0 mm i.d.)、日本 TSK gel super IC-AZ (150 mm×4.6 mm i.d.)、日本 Shodex IC SI-52 4E (250 mm×4.0 mm i.d.) 阴离子分离柱; 恒温箱 MODEL QT-330 (青岛轩汇仪器设备有限公司) 电导检测器; HW2000 色谱工作站 (上海千谱软件有限公司); 超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司); 分析天平 (北京赛多利斯天平有限公司); 0.45 μ m 水性微孔滤膜 (上海兴亚净化材料厂)。

流动相为 2.0 mmol/L Na₂CO₃ 溶液; 流速 0.8 mL/min, 等度洗脱; Shodex IC SI-52 4E (250 mm×4.0 mm i.d.) 阴离子色谱柱; 电导检测; 抑制电流为 60 mA; 柱温 45℃; 进样量 200 μ L; 外标法以峰面积定量。

2.2.2. 试剂

氟化钠、醋酸钠、亚硝酸钠 (优级纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心)、氯化钠、硫酸钠、碳酸钠 (优级纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司)、硝酸钠 (优级纯, 天津市光复精细化工研究所)、碳酸氢钠 (分析纯, 上海埃彼化学试剂有限公司)。实验用水为电阻率 18.0 M Ω ·cm 的去离子水。

2.2.3. 样品采集与保存

以每场降雨全过程为限, 采集到 6 种雨水样品: 3 月 25 日采集沙尘暴后降水三份 (记作 A1, A2, A3), 日常收集的 5 次降水各三份 (B-F)。将采集的所有雨水样品经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 贴好标签 A1, A2, A3、B1, B2, B3、…… F1, F2, F3, 于冰箱中 4℃ 保存。

2.3. 结果与讨论

2.3.1. 色谱柱的选择

用含 6 种阴离子的混合标准溶液进样, 采用各分离柱推荐的阴离子分析标准条件, 比较了 4 种阴离子分离柱 NJ-SA-4A、Metrosep A supp 5、TSK gel super IC-AZ、Shodex

IC SI-52 4E 的分离效果。结果显示, Shodex IC SI-52 4E 除了能将 Cl^- 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 4 种阴离子良好分离外, 还可以很好的将对降水酸度有贡献的 CH_3COO^- 与 F^- 分离开来。其它三种色谱柱, 改变淋洗液浓度和流速, 加入改变分离效果的甲醇、乙腈等有机溶剂, 弱保留组分始终共淋洗出来。究其原因: 雨水中高含量 CH_3COO^- 决定了需要用高柱容量、填料颗粒尺寸小的色谱柱来进行水样的测定, Shodex IC SI-52 4E 色谱柱能够满足该需求, 可有效分离样品中的 CH_3COO^- 与 F^- 。

2.3.2. 流动相浓度、流速及柱温的选择

选择合适的流动相是改善待测离子分离度的有效方法。 Na_2CO_3 溶液是 Shodex IC SI-52 4E 最常用的淋洗液, 通过改变 Na_2CO_3 溶液的浓度, 即可获得不同强度的淋洗液。比较了 Na_2CO_3 不同浓度 (1.8、2.0、2.2、2.4、3.0 和 3.6 mmol/L) 条件下 Shodex IC SI-52 4E 的分离效果。当 Na_2CO_3 浓度较高时, CH_3COO^- 与 F^- 的分离度不高; 浓度低时, 分离时间太长。当 Na_2CO_3 浓度为 2.0 mmol/L 时各种离子能达到很好的分离。

以 2.0 mmol·L⁻¹ Na_2CO_3 为淋洗液, 考察流速分别为 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 mL/min 时对测定阴离子标准混合溶液的影响。结果发现, 流速小时分离时间较长; 流速大于 0.8 mL/min 时, 柱压过高。综合考虑分离时间和柱压的影响, 实验中选择流速为 0.8 mL/min。

本实验中, 柱温的改变 (40, 45, 50, 55℃) 对离子的分离度没有明显的影响, 实验采用 Shodex IC SI-52 4E 色谱柱的常用温度 45℃。

2.3.3. 标准色谱图

在上述选定的色谱条件下, 取标准混合溶液进样, 标准色谱图如图 2.1 所示。由图可见, 此色谱条件下, 6 种阴离子分离效果良好。

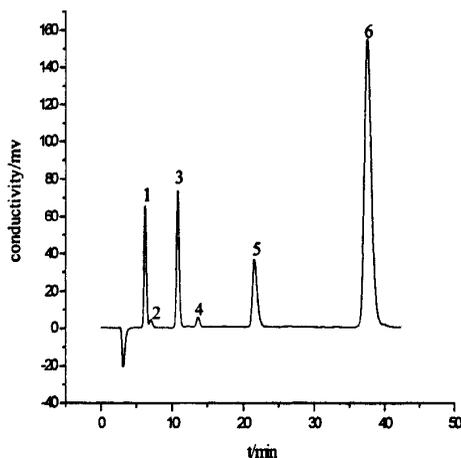


图 2.1 标准样品的离子色谱图

Fig. 2.1 Chromatogram of reference substance solution of 6 anions

1. F⁻; 2. CH₃COO⁻; 3. Cl⁻; 4. NO₂⁻; 5. NO₃⁻; 6. SO₄²⁻ (C_F⁻: C_{CH₃COO⁻}: C_{NO₂⁻}: C_{Cl⁻}: C_{NO₃⁻}: C_{SO₄²⁻} = 3:4:6:1:10:40, C_F⁻ = 1.2 mg/L)

2.3.4. 回归方程、线性范围和检出限

优化的色谱分析条件下，将 5 份配制好的含有 6 种阴离子的混合标准系列溶液逐一进样，以质量浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。以 3 倍信噪比 (S/N=3) 计算各离子的检测限。方法的线性方程、线性范围、相关系数和检出限见表 2.1。

表 2.1 线性方程、线性范围、相关系数和检出限

Table 2.1 Linear regression equations, linear ranges, correlative coefficient and detection limits of the method

| Anions | Linear regression | Linear ranges (c/mg/L) | Correlative coefficient | Detection limit (c/mg/L) |
|----------------------------------|---------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| F ⁻ | Y= 9.950 C - 0.0912 | 0.01-50.00 | 0.9969 | 0.009 |
| CH ₃ COO ⁻ | Y= 4.179 C + 0.395 | 0.10-20.00 | 0.9962 | 0.047 |
| Cl ⁻ | Y= 6.956 C - 0.314 | 0.05-100.00 | 0.9989 | 0.016 |
| NO ₂ ⁻ | Y= 3.327 C + 0.143 | 0.20-50.00 | 0.9989 | 0.035 |
| NO ₃ ⁻ | Y= 3.362 C + 0.188 | 0.10-50.00 | 0.9982 | 0.053 |
| SO ₄ ²⁻ | Y= 6.122 C - 5.677 | 0.10-100.00 | 0.9988 | 0.063 |

注 a: Y 为峰面积 (×10⁵), C 为被测物浓度 (mg/L)

2.3.5. 精密度实验

将配制好的混合标准溶液，连续进样 5 次，考察精密度。结果表明，6 种阴离子的保留时间 (t) 和峰面积 (A) 的相对标准偏差 (RSD) 均较小，结果见表 2.2。

表 2.2 方法精密度

Table 2.2 Precision of the method (n=5)

| Anions | RSD _t (%) | RSD _A (%) |
|----------------------------------|----------------------|----------------------|
| F ⁻ | 0.24 | 1.23 |
| CH ₃ COO ⁻ | 0.80 | 3.29 |
| Cl ⁻ | 0.35 | 1.19 |
| NO ₂ ⁻ | 0.47 | 0.99 |
| NO ₃ ⁻ | 0.66 | 1.21 |
| SO ₄ ²⁻ | 0.10 | 1.65 |

2.4. 实际样品分析及回收率实验

在最佳的色谱条件下将采集到的 6 种样品经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后稀释进样，分别测得雨水中 6 种阴离子的含量，结果见表 2.3。

为了正确评估方法的准确度，同时客观反映实际样品中复杂的基体效应和化学干扰对测试方法的影响，我们进行了加标回收率的实验。在沙尘暴后的雨水中进行加标回收实验表明，各种阴离子的平均加标回收率在 97.2-102.1%，说明本方法可行。

表 2.3 样品测定结果及回收率

Table 2.3 Determination results of samples and recovery

| Anions | Mean value of sandstorm rainwater (c/mg/L) | Mean value of rainwater (c/mg/L) | Recovery (%) |
|----------------------------------|---|-------------------------------------|--------------|
| F ⁻ | 1.37 | 0.52 | 98.8 |
| CH ₃ COO ⁻ | 3.83 | 4.08 | 99.2 |
| Cl ⁻ | 23.93 | 2.10 | 99.5 |
| NO ₂ ⁻ | 0.53 | 0.24 | 97.2 |
| NO ₃ ⁻ | 113.40 | 12.29 | 99.0 |
| SO ₄ ²⁻ | 147.40 | 14.50 | 102.1 |

2.5. 讨论

2.5.1. 青岛市日常降水中阴离子的浓度和组成

青岛市雨水中阴离子组成稳定, 主要为 F^- 、 CH_3COO^- 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 6 种, 从表 3 可以看出日常降水中离子平均浓度大小顺序为 $SO_4^{2-} > NO_3^- > CH_3COO^- > Cl^- > F^- > NO_2^-$, SO_4^{2-} 是青岛市降水中最主要离子, 平均浓度 14.50 mg/L, 占据阴离子总量的 43.0%; 其次是 NO_3^- , 平均浓度为 12.29 mg/L, 占据比例为 36.4%。

2.5.2. 沙尘暴导致的青岛市降水变化

与青岛市日常降水相比, 沙尘暴后的降水阴离子种类未有变化, 但含量变化显著, SO_4^{2-} 仍是是青岛市降水中最主要离子, 含量高达 147.40 mg/L; 占据阴离子总量的比例上升至 50.8%, NO_3^- 浓度为 113.40 mg/L, 比例达 39.0%。受沙尘暴影响, SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 Cl^- 3 种对雨水酸度起控制作用的离子含量达到日常降水中含量的 10 倍左右; 对人体健康不利的 F^- 、 NO_2^- 离子也增至日常降水中含量的 2 倍左右; 有机酸根 CH_3COO^- 含量变化不明显, 与江伟等人^[31]得到的有机酸主要来自云下淋滤作用的结论相符。

2.5.3. 成因分析及意义

降水中化学物质的近源主要为区内人类活动以及周边工业区, 远源主要为随大气环流而来的工业区污染物质。新疆、甘肃一带沙尘暴, 将北方重工业区上空污染物以远源形式带到了青岛等地, 直接影响到青岛市上空气溶胶成分, 造成为时较短的大气环境变化, 从而大大影响了降水组成。

2.6. 本章小结

本工作以离子交换色谱法测定沙尘暴后的降水中阴离子含量, 方法简单通用, 分析速度快, 准确可靠。为研究沙尘暴天气对青岛市降水中阴离子含量的影响提供了可靠数据, 同时也为研究大气环境的质量变化规律和探求大气环境的质量演变与气候变化的相互关系提供了理论依据。

第三章 离子色谱法在地沟油样品鉴定中的应用

3.1. 前言

食用油是生活中不可缺少的食物，与人体有关健康与安全密切相关。然而，一些投机商户将一些不合格用油（如地沟油）掺入到食用油中，以次充好，在市场上出售。不合格油通常有三种来源：一是下水道中的油腻漂浮物或宾馆、酒楼的剩饭、剩菜（通称泔水）经过简单加工、提炼后得到的油，即通常所说的泔水油或狭义的地沟油。通常所说的地沟油绝大部分都是指泔水油；二是劣质猪肉、猪内脏、猪皮加工以及提炼后产出的油；三是反复油炸食品后已经不符合规定的油或在反复使用的油中加入新油，因此称深度油炸油^[52]。其经简单提炼，仍含重金属、毒素^[46]，化工洗涤剂等物质。据报导，地沟油中含有一种高毒性物质-黄曲霉毒素，如长期食用可致癌，严重威胁着人民身体健康。此外，冒牌油的销售使消费者信心下降并导致经济损失，并且对合法经营者也是一种冲击。因此，建立一种可靠的食用油鉴定方法非常有必要。

现有的检测方法是基于地沟油的部分理化指标，如检测电导率^[47-48]，过氧化值(PV)^[49]，酸价^[50]，胆固醇，极性化合物^[51]等等。确定电导率是辨认废油的一个常规方法，因为在受到污染或加工回收的过程中，带入金属离子、微生物等杂质，或者在烹调过程中加入的食盐、味精等调味剂，以及该过程中有机物分解产生可电离物质可能会使电导率升高。PV，油脂氧化值与油脂的新鲜度和酸败程度有关，测定过氧化值可鉴别废油脂。在品质管理中，测定过氧化值是最普通的管理特性测定方法。随着油脂的不断氧化，过氧化值逐渐上升。这些方法在应用上各有优势，一定程度上都能进行地沟油的定性检测，但也存在缺陷^[52]，如电导率法的检出下限为地沟油添加量达 20%以上才能被检出，胆固醇法的缺陷在于其检出下限为地沟油的添加量在 10%以上。

文献报道^[53]，泔水油简单加工过程以双氧水氧化除色素，辅以活性白土吸附精制除去泔水油中的有色及臭味物质。此过程中不会对的油中阴离子含量产生影响甚至可能增加阴离子种类及含量。基于此，本项工作将离子色谱法用于鉴别地沟油，通过分析油样品中阴离子含量及种类辅助确认是否掺杂地沟油。

3.2. 实验部分

3.2.1. 实验仪器

PIC-10 型离子色谱仪(青岛普仁仪器有限公司); 恒温箱 MODEL QT-330(青岛轩汇仪器设备有限公司) 电导检测器; HW2000 色谱工作站(上海千谱软件有限公司); 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); 分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

3.2.2. 试剂

氟化钠、醋酸钠、亚硝酸钠(优级纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心)、氯化钠、硫酸钠、碳酸钠(优级纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司)、硝酸钠(优级纯, 天津市光复精细化工研究所)、碳酸氢钠(分析纯, 上海埃彼化学试剂有限公司)、石油醚(分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司)。实验用水为电阻率 $18.0 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 的去离子水。所有的样品用超纯水溶解进样前过 $0.45 \mu\text{m}$ 过滤膜过滤(上海兴亚净化材料厂)。

3.2.3. 色谱条件

色谱柱使用 NJ-SA-4A (250 mm \times 4.6 mm i.d.) 阴离子分离柱(青岛普仁提供), 该柱配抑制导检测适合分析常见无机阴离子。流动相为 $2.0 \text{ mmol/LNa}_2\text{CO}_3+1.8 \text{ mmol/LNaHCO}_3$ 溶液; 流速 1.0 mL/min , 等度洗脱; 电导检测; 抑制电流为 40 mA ; 柱温 45°C ; 进样量 $200\mu\text{L}$; 外标法以峰面积定量。

3.2.4. 样品的制备

收集到纯地沟油、煎炸老油试样以及对照食用花生油、大豆油, 共有 4 组样品, 每组样品准确量取 2 份 5mL , 分别用 10 mL 去离子水洗萃取, 及 10mL 去离子水+ 10mL 石油醚萃取, 超声振荡法搅拌 5min 后, 静置分层后取水相定容至 25mL , 依次通过 H 柱、C18 柱和 $0.22\mu\text{m}$ 滤膜后注射至仪器分析。

3.3. 结果与讨论

3.3.1. 色谱条件优化

Na_2CO_3 和 NaHCO_3 混合溶液是阴离子交换色谱最常用的洗脱液。可通过改变 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 的浓度比例来得到不同强度的淋洗液。结果表明, Na_2CO_3 浓度的增

加会导致离子分离度下降。最终确定以 2.0 mmol/L Na_2CO_3 +1.8 mmol/L NaHCO_3 混合淋洗液等度洗脱，流速为 1.0 mL/min 时为最佳淋洗条件。混合标准溶液色谱如图 3.1 所示。

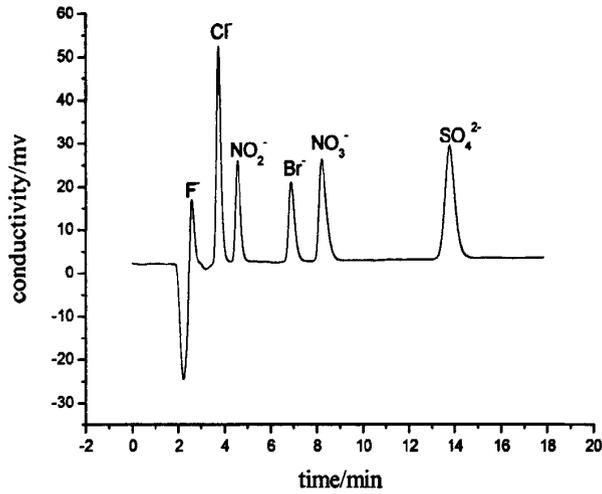


图 3.1 标准样品的离子色谱图

Fig. 3.1 Chromatogram of reference substance solution

$$C_{\text{F}^-}: C_{\text{Cl}^-}: C_{\text{NO}_2^-}: C_{\text{Br}^-}: C_{\text{NO}_3^-}: C_{\text{SO}_4^{2-}} = 2:5:10:15:15:15, C_{\text{F}^-} = 0.2 \text{ mg/L}$$

3.3.2. 样品前处理

考虑到油样品成分复杂，萃取后仍含有部分重金属及有机杂质，直接进样会损坏色谱柱，为延长色谱柱寿命，须消除样品中的有机物和重金属杂质。我们使用 C18 和 H 固相萃取柱处理萃取后的水相。具体操作为：准确量取 4 种油样品 5 mL 各两份，采用 10 mL 去离子水+10 mL 石油醚萃取，超声振荡法搅拌 5min，静置分层后取水相定容至 25 mL，依次通过 H 柱、C18 柱和 0.22 μm 滤膜后注射至仪器分析。图 3.2 为收集到的四种油样品处理前后的照片。

C18 和 H 固相萃取柱在使用前先用 3 mL 甲醇和 3 mL 超纯水活化。

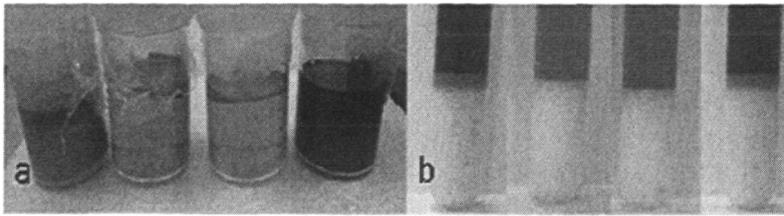


图 3.2 a 收集到的四种油样品，从左至右依次为：煎炸油，花生油，豆油，地沟油；
b 石油醚萃取处理后的煎炸油，花生油，豆油，地沟油

Fig. 3.2 a. Picture of four oil samples: frying oil, peanut oil, swill oil and soybean oil; b. Frying oil, peanut oil, swill oil and soybean oil treated with petroleum

3.3.3. 方法准确性评价

在浓度 0.01~100 mg/L 范围内，配制一系列 F^- , Cl^- , Br^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} 的混合对照品溶液，按照 3.3.1 节的色谱条件进行分析，每个浓度点平行进样 3 次，取平均值。以质量浓度 C (mg/L) 为横坐标，以各浓度点对应的峰面积 Y 为纵坐标，做线性回归分析，被分析物的浓度和峰面积在优化色谱条件下有良好的线性关系，结果见表 3.1。其检出限以三倍信噪比来计算 ($S/N=3$)。

表 3.1 线性方程、线性范围及检出限

Table 3.1 Linear regression equations, linear ranges, corelative coefficient and detection limits of the method

| Anions | Linear regression | Linear ranges (mg/L) | Correlative coefficient | Detection limit (mg/L) |
|-------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|------------------------|
| F^- | $Y= 9.950 C - 0.0912$ | 0.01~50.00 | 0.9969 | 0.009 |
| Cl^- | $Y= 6.956 C - 0.314$ | 0.05~100.00 | 0.9989 | 0.016 |
| Br^- | $Y= 2.554 C - 0.117$ | 0.20~50.00 | 0.9983 | 0.060 |
| NO_2^- | $Y= 3.327 C + 0.143$ | 0.20~50.00 | 0.9989 | 0.035 |
| NO_3^- | $Y= 3.362 C + 0.188$ | 0.10~50.00 | 0.9982 | 0.053 |
| SO_4^{2-} | $Y= 6.122 C - 5.677$ | 0.10~100.00 | 0.9988 | 0.063 |

为测定方法精密度，取标准混合溶液 7 次重复进样分析。所有的结果列于表 3.2。

表 3.2 方法精密度

Table 3.2 Precision of the method and recovery of anions (n=7)

| Anions | RSD _t (%) | RSD _A (%) | Recovery (%) |
|-------------------------------|----------------------|----------------------|--------------|
| F ⁻ | 0.24 | 1.23 | 98.8 |
| Cl ⁻ | 0.35 | 1.19 | 99.5 |
| Br ⁻ | 0.33 | 0.97 | 98.9 |
| NO ₂ ⁻ | 0.47 | 0.99 | 97.2 |
| NO ₃ ⁻ | 0.66 | 1.21 | 99.0 |
| SO ₄ ²⁻ | 0.10 | 1.65 | 102.1 |

3.4. 实际样品分析

从当地收集了 4 种不同油样品进行检测分析。这些样品的前处理和分析方法按上面提出的方法进行操作。图 3.3 是处理后的油样品中阴离子含量图。

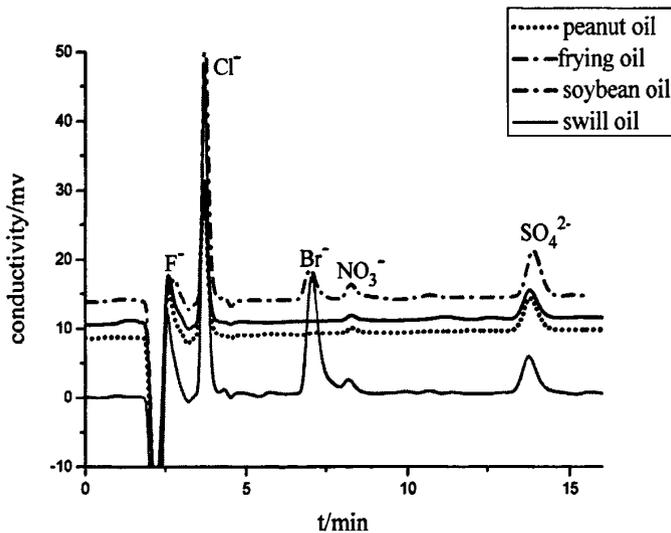


图 3.3 四种油样品中阴离子色谱图

Fig. 3.3 Chromatogram of anions in four oil samples

从图中可以看到花生油 (peanut oil、soybean oil) 谱图比较“干净”，离子种类和含量均较少。4 种样品中各离子的检测结果在表 3.3 中给出。煎炸油和地沟油 (frying oil、swill oil) 均有 Br⁻ 检出，且阴离子总量相对于花生油高出很多，可达花生油阴离子总量的 2-3 倍，此数据对电导率检测方法也是一个验证。

表 3.3 油样品中阴离子检测结果

Table 3.3 Comparison of anions concentration in oil samples (n = 3)

| Anions | soybean | peanut | swill | frying |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | oil($\mu\text{g/mL}$) | oil($\mu\text{g/mL}$) | oil($\mu\text{g/mL}$) | oil($\mu\text{g/mL}$) |
| F^- | 0.841 | 0.857 | 1.532 | 0.667 |
| Cl^- | 0.963 | 0.897 | 2.100 | 1.558 |
| NO_2^- | ND | ND | ND | ND |
| Br^- | ND | ND | 8.901 | 2.262 |
| NO_3^- | 0.198 | 0.205 | 0.390 | 0.588 |
| SO_4^{2-} | 1.231 | 1.137 | 1.676 | 1.847 |
| overall ion concentration | 3.233 | 3.096 | 14.599 | 6.922 |

注 b: ND: not detected.

在花生油中分别掺入的地沟油样品 1%, 2.5%, 10%, 25%, 50% (质量分数), 纯地沟油试样以及对照食用植物油大豆油, 共有 10 组样品。当花生油中掺入含量 2.5% 地沟油时, 从离子色谱图中可明显的观察到 Br^- 的色谱峰, 掺杂 1% 时无法进行鉴别, 因此可认定当食用油样品中 Br^- 含量检出时, 则掺杂了地沟油。

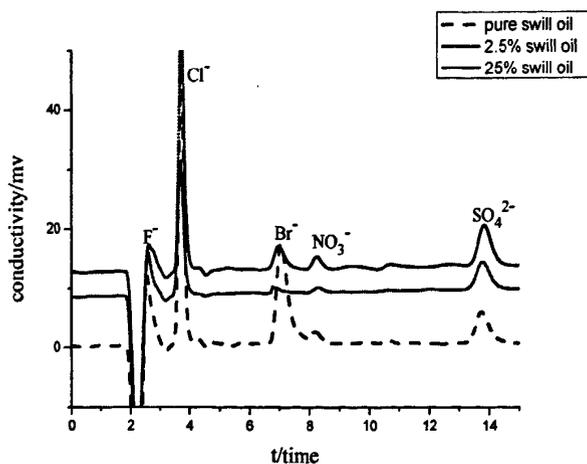


图 3.4 纯地沟油样品及掺杂 2.5%, 25%地沟油的花生油色谱图

Fig.3.4 Chromatogram of pure swill oil, 2.5%and 25% swill oil mixed with peanut oil samples

3.5. 本章小结

本项工作提出了一种低成本、简便、快速检测地沟油的方法，通过分析油样品中阴离子种类及含量辅助确认是否掺杂地沟油。离子色谱图显示，地沟油试样中检出一定量 Br^- ，而合格的食用植物油未检出，已知地沟油加工提炼过程中的发酵脱色降酸和去杂等工艺并不能将其去除，因此利用此法可以作为判断食用油脂是否掺杂地沟油的依据。可以将本法与油样的其他项目指标相结合进行综合判断（例如酸价过氧化值和熔点等），从而更加精确的判定油样中是否掺杂地沟油。

第四章 离子色谱法测定水产品中氟离子含量方法的研究

4.1. 引言

氟是人体所必需的微量元素之一,对人体有着重要的生理功能,是牙齿和骨骼的组成部分。人体的生理需要量为每日 1.0-1.5mg。氟摄入不足,易导致龋齿的形成;但如摄入过量,则引起氟中毒。轻度中毒可造成氟斑牙,重者出现氟骨症,甚至完全丧失劳动和生活自理能力。氟中毒已经成为我国危害最严重的地方性疾病之一,卫生部、发展与改革委员会和财政部联合发布的《全国重点地方病防治规划(2004-2010年)》中提供的数据称,截至 2003 年底,我国流行的各类地方病中,氟中毒患者数量最多,且氟中毒一旦患上即永远成疾,药物只能减缓病情无法根除。

氟摄入以饮食和饮水为主,15 周岁以上成人的总摄氟量允许限量是 3.5 mg/(人·日),食品中氟离子含量是否超标也成为食品安全^[54]方面的一个重要问题。氟离子检测的手段有多种,包括-核磁共振法^[55]、氟离子选择电极^[56-57]、化学探针^[58]等。离子色谱法是 20 世纪 70 年代发展起来的主要用于测定阴离子的一种方法,其用于阴离子的测定具有快速、灵敏、稳定性高、选择性好、样品前处理简单、可同时分析多组分等突出优点,因此在环境分析^[59]、植物^[60-61]药物以及食品^[62]和饮料、漱口剂^[63]分析等学科中已经得到广泛应用,而且目前离子色谱法日益受到重视并作为官方标准方法。以离子色谱法测定氟离子有优势明显,检测限低,结果精确,重现性好,回收率高,尤其是可以避免金属离子存在的干扰。此项工作对多种水产品样品进行了大量的试验,通过优化前处理、净化方法和仪器分析条件,建立了一个高灵敏度、高选择性、快速、准确的水产品中氟离子的测定方法。

4.2. 实验部分

4.2.1. 仪器与试剂

Dinex-500 型离子色谱仪(戴安公司); IonPacAS19、AS11、AS7、AS15 及 AS11-HC (250 mm×4.6 mm i.d.) 阴离子分离柱; 电导检测器; 色谱工作站; 超声波清洗器; 分析天平; 0.22 μm 水性微孔滤膜。

氢氧化钠(优级纯), 实验用水为电阻率 18.0 MΩ·cm 的去离子水。

4.2.2. 色谱条件

流动相为 20 mM NaOH 溶液；流速 1.0 mL/min，等度洗脱；Dionex AS15 (250 mm×4.0 mm i.d.) 阴离子色谱柱；电导检测；抑制电流为 50 mA；进样量 25 μ L；外标法以峰面积定量。

4.2.3. 样品处理

因氟离子易溶于水，可以用纯水作为提取液，超声波提取加快提取速度。将样品打碎加纯水 10 mL，超声波提取 6min，离心分液，用 0.22 μ m 水性微孔滤膜过滤进样分析。

4.3. 结果讨论

4.3.1. 分离条件的选择

提取时间的选择

增加比较了鲫鱼、蛤蜊、鳕鱼样品不同的提取时间 (2-15 min) 的提取效果。如图 4.1，显示了提取时间与浓度关系曲线。结果发现，在 6 min 内随着时间增加，F 量增加，超过 6 min，F 量基本不变，因此确定提取时间为 6 min。

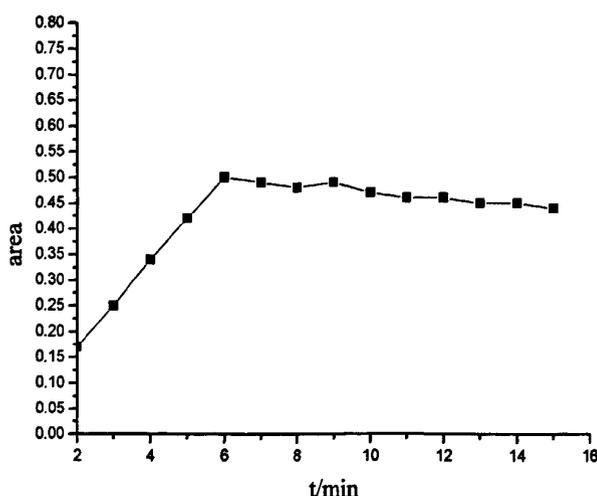


图 4.1 提取时间与浓度关系曲线

Fig.4.1 Curve of extraction time and density

色谱柱的选择

氟离子的出峰时间和一些低分子有机酸接近，较难分离，试验了 AS19、

AS11、AS7、AS15 和 AS11-HC 等分析柱的分离效果，发现 AS15 分析柱的分离效果最好，干扰峰最少，因此选用 AS15 分析柱。

4.3.2. 线性范围及检测限

为了确定本标准适用的线性范围，配制了 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的氟离子标准溶液，按分析步骤测得的线性良好。回归方程： $A=0.00034C+0.4649$ ，相关系数 $r=0.9999$ 。图 4.2 为氟离子的标准工作曲线。

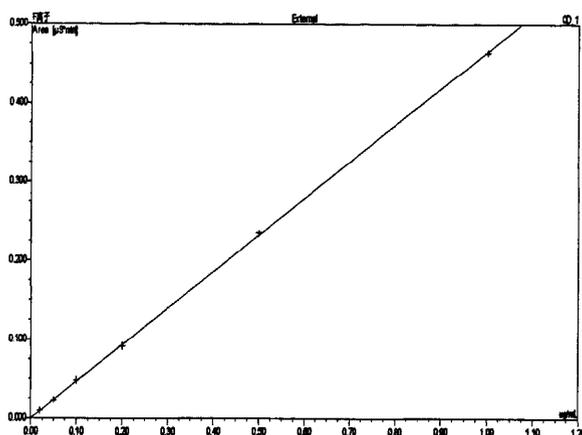


图 4.2 氟离子的标准工作曲线

Fig.4.2 Standard curve of F⁻

4.3.3. 加标回收率及精密度实验

当鳕鱼样品中添加量为 0.5 mg/kg、2.0 mg/kg 时，充分混合样品后，每个添加水平做 10 次平行测定。鳕鱼样品加标回收率在 89.8-92.5%之间。相对标准偏差在 3.1-5.4%。氟离子不同添加水平的鳕鱼样品和空白样品对照图如图 4.3 所示。

同样的方法处理鲫鱼和蛤蜊样品，鲫鱼样品加标回收率 86.4-91.5%，相对标准偏差 4.7-5.0%；蛤蜊样品加标回收率 89.3-92.8%，相对标准偏差在 2.9-4.5%。

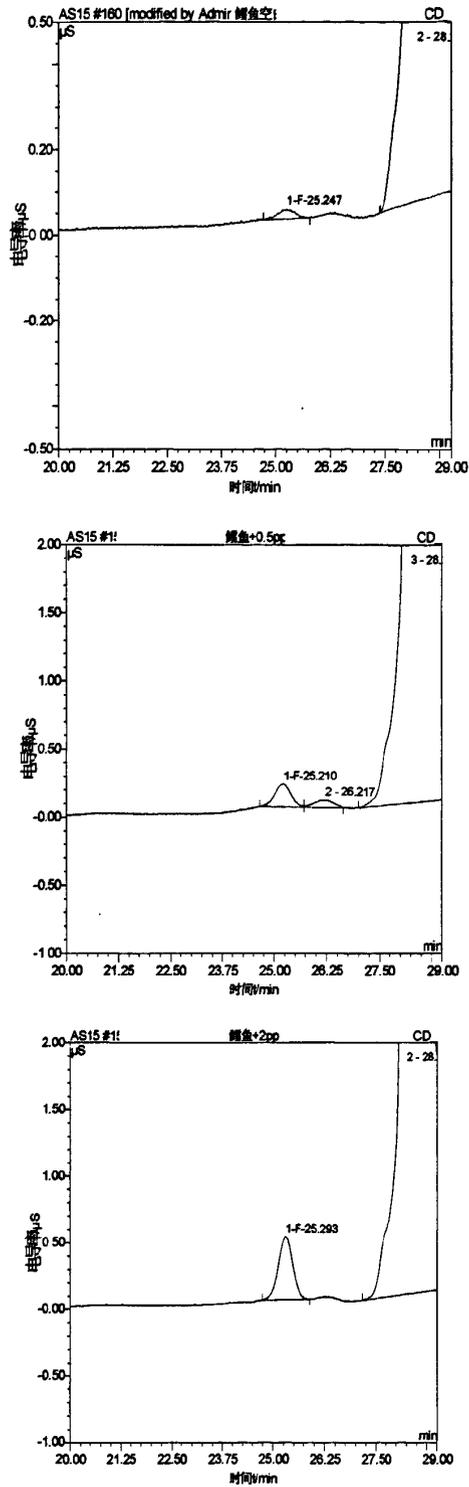


图 4.3 氟离子不同添加水平的鳕鱼样品和空白样品对照图

Fig. 4.3 Chromatograms of different levels of fluoride added and blank samples
三种海产品检测结果及加标回收结果见表 4.1。

表 4.1 三种海产品中氟离子的加标回收数据

Table 4.1 Spike recovery results of fluorine in three samples

| 样品 | 检出量 mg/kg | 添加 0.5mg/kg | 添加 2.0 mg/kg |
|----|-----------|-------------|--------------|
| 鳕鱼 | 0.051 | 0.499 | 1.900 |
| 鲫鱼 | 0.042 | 0.471 | 1.872 |
| 蛤蜊 | 0.038 | 0.502 | 1.823 |

三种海产品检测结果及加标回收率和精密度见表 4.2。表中数据可见，加标回收率较高和精密度 RSD 较小，说明本方法可行性较好。

表 4.2 三种海产品中氟离子的加标回收率和精密度数据

Table 4.2 Recoveries and precision of fluorine in three samples

| 加标($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 鳕鱼 | | 鲫鱼 | | 蛤蜊 | |
|-------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| | 0.5 | 2.0 | 0.5 | 2.0 | 0.5 | 2.0 |
| 回收率(%) | 89.8 | 92.5 | 86.4 | 91.5 | 92.8 | 89.3 |
| RSD (%) (n = 3) | 5.4 | 3.1 | 4.7 | 5.0 | 4.5 | 2.9 |

4.3.4. 检出限 (LOD) 及最低检出量 (LOQ)

在优化的色谱分析条件下,以 3 倍信噪比(S/N=3)计算各离子的检测限(LOD)及最低检出量 (LOQ), 分别为 0.02 mg/kg, 0.076 mg/kg。

4.3.5. 方法验证

本方法对挂面、啤酒和酱油 3 个样品分别进行了 3 个水平的添加回收率和精密度实验, 结果见表 4.3。

表 4.3 挂面、啤酒和酱油样品氟加标回收率和精密度数据

Table 4.3 Recoveries and precision of fluorine in the sample of noodles, beer and soy sauce

| 样品 | Noodles | | Beer | | Soy Sauce | |
|--------------------------------|---------|-------|------|------|-----------|------|
| 添加量($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 1.0 | 10 | 0.1 | 1.0 | 0.5 | 5.0 |
| 回收率(%) | 99.4 | 101.8 | 84.7 | 97.8 | 74.4 | 77.5 |
| RSD (%) (n=3) | 3.5 | 3.4 | 4.5 | 3.0 | 7.2 | 5.9 |

4.4. 本章小结

本实验采用离子色谱,在最佳的色谱条件下,对鲫鱼、蛤蜊、鳕鱼样品中的氟离子进行了检测,并对挂面、啤酒和酱油样品中氟检测进行方法验证,结果证实,该方法简便、快速、准确、检测灵敏度高,是理想分析方法,实际样品检测结果显示,该方法可用于其它食品样品中氟离子检测。

第五章 固相萃取-离子色谱直流安培法检测 乳制品中双酚 A

5.1.引言

BPA 广泛应用于工业中,既可作为合成环氧树脂和碳酸树脂的单体,也常被用作合成聚氯乙烯塑料(PVC)的抗氧化剂^[64-65]。其中环氧树脂通常被用作食品和饮料罐的内部保护涂层,如玻璃罐、瓶子金属盖内层、饮用水储罐等;聚碳酸酯可用于制造塑料食品容器,如婴儿奶瓶、餐具、微波炉烤盘、储存容器等^[66]。PVC,可用于各种产品,包括直接接触到食物的材料,如用于食品包装的保鲜膜。BPA 聚合物产品在生活中被广泛使用,且其酯键在一定条件下会易水解而释放出 BPA,导致了其对环境的广泛污染。

1993 年, BPA 首次被报道出具有雌激素的性质^[67], 对人体健康具有潜在危害。据报道, BPA 占据新西兰的饮食中雌激素总量 34%, 人均摄入量约 4.1-4.8 $\mu\text{g}/\text{d}$ ^[68]。目前, 测定食品^[69-78]、尿^[80]、土壤^[80]、脂肪组织^[81]、血液^[82]、水^[83-86]等样品中的 BPA 已被报导, 涉及方法主要为气相色谱和高效液相色谱。高效液相色谱的检测器包括紫外、荧光、质谱、二极管阵列检测、电化学检测等。紫外吸收和荧光检测器因选择性和灵敏度较低导致使用受到限制, 质谱的使用可以提高学则性, 减少样品的处理, 并提供很高的灵敏度, 但价格昂贵。且对于复杂的样品基质 LC-MS 仍需要繁琐的前处理步骤。BPA 分子中存在酚羟基, 可以电化学作检测器(ED)检测。LC-ED 已经被报道用来检测食品中的 BPA, 而且获得了与质谱相近的灵敏度。然而目前, 还未有报道利用 IC-ED 应用于乳制品样品检测。

石墨烯以其优异的物化性质, 在样品前处理中也具有广阔的应用前景。首先, G 具有超大的比表面积, 因而具有超大的吸附容量; 其次, G 由碳原子六元环构成, 其 π 电子共轭体系和疏水表面非常适合于样品中芳香类物质和非极性物的吸附与萃取; 再次, G 化学稳定性良好, 可应用于各种溶剂条件和各类样品; 最后, G 制备方法多样, 目前已经可以通过简单的化学方法来制备大批量的 G, 非常有利于 G 的广泛应用。这些性质使 G 成为一种优异的固相萃取(SPE)吸附材料用于食品样品中污染物分析。

食品中 BPA 的污染已被广泛关注, 有必要建立一种简单可靠的方法满足食品安全检测需求。本工作以自行制备的石墨烯填充柱用于奶制品前处理, 发掘高效率和高选择性的吸附材料, 并以 IC-ED 方法分析, 通过优化参数以增加 BPA 的响应, 满足了测定乳制品中的 BPA 含量要求。

5.2. 实验部分

5.2.1. 试剂和仪器

BPA 标准品购自德国, 标准储备液以 100 mM NaOH 溶液溶解配成 0.10mg/mL, 4℃冷藏; HPLC 纯度 (99.9+%) 的甲醇、乙腈和丙酮均为韩国 SK 化学试剂厂生产; NaOH (99+%) 购自 Merck Germany 公司; Milli-Q 水处理系统 (Millipore, Bedford, MA, USA)。

膨胀石墨 (青岛恒利得石墨有限公司); 浓 H_2SO_4 (烟台三和化学试剂有限公司); $NaNO_3$ (分析纯, 上海强顺化学试剂有限公司); $KMnO_4$ (分析纯, 莱阳经济技术开发区精细化工厂); 水合肼 (分析纯, 天津市红岩化学试剂厂); 双氧水 (上海强顺化学试剂有限公司)。

戴安 (DX-500) 离子色谱仪, 配有一个 GP50 四元梯度泵, ED40 电化学检测器 (Pt 工作电极, 饱和甘汞 SCE 参比电极); 资生堂 HTS-Z 自动进样器。

5.2.2. 色谱条件

分析柱: 戴安 IonPac AS11-HC (4 mm×250 mm); 保护柱: IonPac AG 11 (4 mm×50 mm); 电极电势: 0.5V; 进样量: 25 μ L; 流动相: 乙腈-水 (40:60, v/v, 流动相 A) 和 240 mM NaOH 溶液 (流动相 B), A:B=75%:25%; 流速: 1.0 mL/min, 室温; 分析时间: 20 min; Pt 电极使用前需在砂纸或皮革纸上撒上铝粉颗粒研磨, 超声清洗后, 晾干。

戴安 Peaknet (5.1) 软件来控制仪器运行、数据采集和分析进程。

5.2.3. 固相萃取柱制备和样品处理过程

GSPE 制备过程

1) 氧化石墨的制备

采用 Hummers 法制备氧化石墨, 在冰水浴中, 将 5 g 膨化石墨和 2.5 g 硝酸钠与 115 mL 的浓硫酸混合均匀, 搅拌中缓慢加入 15 g $KMnO_4$, 保持 2℃以下持续反应 1 h, 将其转移至 35 ℃水浴反应 30 min 逐步加入 250 mL 去离子水, 温度升至 98 ℃, 反应 15 min 后, 观察发现混合物由棕褐色变成亮黄色。缓慢加入质量分数为 30% 的 H_2O_2 溶液来中和未反应的高锰酸钾, 直至无气泡产生。

2) 氧化石墨烯 (GO) 的制备

将上述溶液趁热离心除去大部分的水和强酸, 用 5% 的盐酸洗涤, 再用水洗直至溶液中性, 干燥后, 与水配置成 0.1 mg/mL 的悬浮液, 施以超声处理, 直至无明显颗粒存在, 溶液仍然呈金黄色。静置后, 过滤除去沉降物。

3) G 的制备

取上述 GO 悬浮液 40 mL, 加入 10 mL 水合肼溶液, 密封后置于 110°C 保温箱中 24 h, 并用去离子水洗涤, 干燥。将上述干燥后的 G 在 -50°C 条件下, 在冷冻干燥机中干燥 24 h, 获得的产物就是 G。

4) 装柱

G 固相萃取柱制备是使用一支用过的 C18 固相萃取柱, 将其填料挖空。将空管和垫片用超纯水清洗干净晾干。首先将一个 20 μm 垫片放到空管底部, 准确称量 50 mg G 填料填入空的萃取柱中。将另一垫片放于 G 上方用来固定填料, 压实。

样品处理过程

盒装牛奶、酸奶和罐装婴儿配方食品样品均购自当地超市, 使用前保存在 4°C 的冰箱冷藏。

分别准确称取 3.000 g 牛奶、酸奶以及 0.500 g 的婴儿奶粉样本到 50mL 离心管, 分别加入 9mL 乙腈, 将混合物超声 5min, 然后在 10000 rp/min 的条件下离心 10 分钟。按上述步骤重复操作一次, 合并上层清液, 之后将合并液缓慢通过活化了的 C18、G 前处理柱, 被分析物就留在了萃取柱上, 后用 1 mL 含 10% 乙腈的水溶液淋洗掉萃取柱上弱吸附的杂质, 然后用乙腈将目标物洗脱下来, 滤液用氮气吹干, 再用 100mM NaOH 溶液定容至 1 mL, 进样前用过 0.22 μm 微孔滤膜进入到 IC-ED 检测。

C18、G 固相萃取柱前处理柱活化方法: 先用 3 mL 甲醇, 再用 3 mL 水洗, 然后再用于样品处理。

5.3. 结果讨论

5.3.1. 石墨烯的 TEM 表征

从图 5.1 可以看出 G 层片的轮廓, G 薄膜有着不规则的形态, 其侧面的尺寸从几微米到十微米不等。石墨烯薄片基本上是透明的, 片状结构, 但由于石墨片层的褶皱和弯曲, 在表面往往呈现出不同的亮度。



图 5.1 石墨烯电镜图

Figure 5.1 TEM image of G

5.3.2. 除杂质方法

乳制品是一种复杂样品基质，它包含多种不同的高分子物质，如蛋白质、脂质。这些化合物的存在将会导致分离柱的严重损害和抑制电离。此次研究选乙腈为乳制品的沉淀试剂能有效地去除 90% 以上的蛋白质。为了提高性能，使用 C18、GSPE 柱做目标物吸附处理。

5.3.3. 分析方法的优化

IC-ED 系统的灵敏度非常依赖色谱条件，必须进行参数优化，以使 BPA 的响应达到最大。

流动相和工作电极的选择

研究了 BPA 在不同的工作电极（如金、银、铂电极）以及在不同组成的有机溶剂（乙腈、丙酮）-氢氧化钠流动相中的电化学响应。结果表明，在淋洗液氢氧化钠溶液加入乙腈或丙酮，可增加 BPA 的响应。氢氧化钠的最佳浓度在 50-70mM 范围内。相对于丙酮-NaOH 体系，乙腈-NaOH 体系做流动相时，BPA 响应显著增高，峰型尖锐，分析时间变短。成因分析：BPA 是强极性分子，乙腈是极性溶剂，相似相容导致了其在乙腈流动相中出峰效果良好。图 5.2 给出了 500 ng/mL BPA 标准溶液在两种不同的流动相体系中得到的谱图。

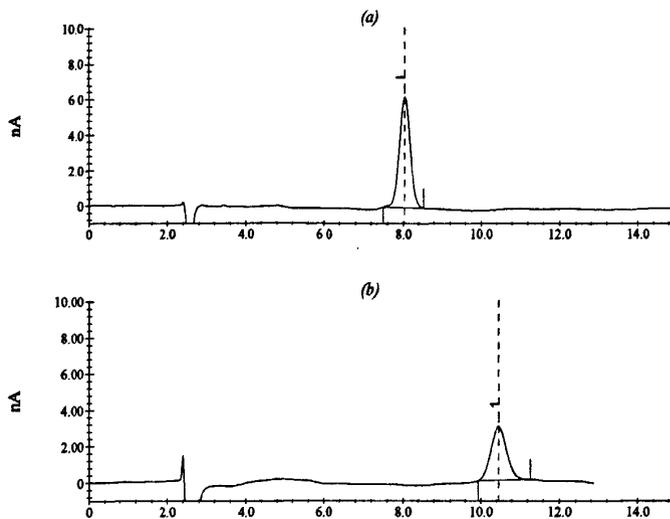


图 5.2 BPA 标准色谱图

流动相条件: (a) 30% 乙腈-60 mM NaOH; (b) 30% 丙酮-60 mM NaOH

Fig. 5.2 Chromatogram of a standard solution of BPA (500 ng/mL). Mobile phase conditions:

(a) 30% acetonitrile-60 mM NaOH; (b) 30% acetone-60 mM NaOH

对流动相的比例与 BPA 信号响应间的关系作了研究 (表 5.1)。BPA 的最优响应的流动相的组成为 30%乙腈的水溶液+60 mM 氢氧化钠溶液。

表 5.1 BPA 在不同乙腈-NaOH 流动相比例条件下响应情况

Table 5.1 The responses of BPA for different proportion of acetonitrile -NaOH mobile phases

| Mobile phase | t_R (min) | Peak area | S/N |
|--------------------------------|-------------|-------------------|-----|
| 10-100 mM NaOH | - | - | - |
| 10% acetonitrile in 60 mM NaOH | 24.7 | 8.3×10^4 | 494 |
| 20% acetonitrile in 60 mM NaOH | 15.6 | 9.2×10^5 | 518 |
| 30% acetonitrile in 60 mM NaOH | 8.0 | 1.3×10^6 | 647 |
| 40% acetonitrile in 60 mM NaOH | 7.3 | 1.4×10^6 | 627 |

注 c: ED 条件: Pt 工作电极; 电压: 0.5 V; $C_{BPA} = 500 \text{ ng/mL}$; 流速: 1.0 mL/min

研究结果显示, 无论如何调整有机溶剂和氢氧化钠配比, BPA 在银电极上无电化学响应, 在金电极上仅具有较低的电化学响应, 而在铂电极上却具有较高的响应。因此, 选择 Pt 电极为工作电极。

工作电位的选择

当电压增至 +0.30 V, 可检测到 BPA 信号, 且随电压增大信号响应增加。当

直流电压超过+ 0.60 V，基线噪声也随之飙升，导致基线非常不稳定。基于此，将直流电压设定为+ 0.50 V，此时基线稳定，重现性好。

SPE 柱的选择

样品吸附试验发现，G SPE 柱比 C18 柱有更好的吸附性，如图 5.3，左至右分别为使用 G、C18 柱吸附处理后的牛奶加标 BPA 500 ng/mL 样品图，对比发现，G 柱吸附 BPA 效果更优。

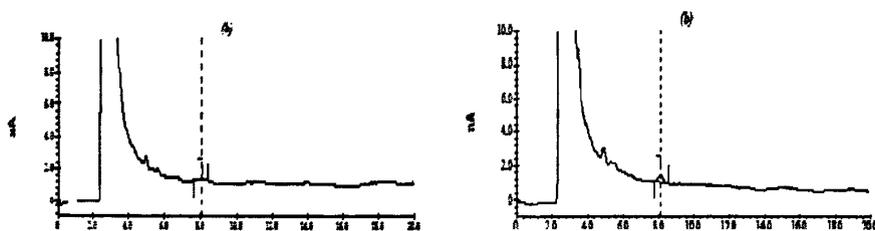


图 5.3 左图：G 柱吸附处理后的牛奶加标 BPA 500 ng/mL；右图：C18 柱吸附处理后的牛奶加标 BPA 500 ng/mL 样品图

Fig.5.3Left: Chromatogram of milk samples spiked with 500 ng/mL BPA processed by G SPE; Right: Chromatogram of milk samples spiked with 500 ng/mL BPA processed by C18 SPE

5.3.4.线性范围、检测限

配置了 10、50、500、1000、10000 ng/mL 一系列标准溶液测定 BPA 含量。BPA 的线性回归方程为 $y = 1177.44x + 7595$ ($R = 0.999$) [x 为 BPA 的浓度 (ng/mL), y 为峰面积]。线性范围：5-20000 ng/mL。S/N=3 的条件下 BPA 的检测限为 1 ng/mL。

标准溶液重复进样 7 次，重现性良好。峰面积和分离时间的相对标准偏差落在 1.7%到 1.1%之间。

5.3.5.样品分析及回收率

用此方法分别检测了实际样品：牛奶、酸奶和婴儿奶粉。图 5.4 给出了三种乳制品样品的色谱图。

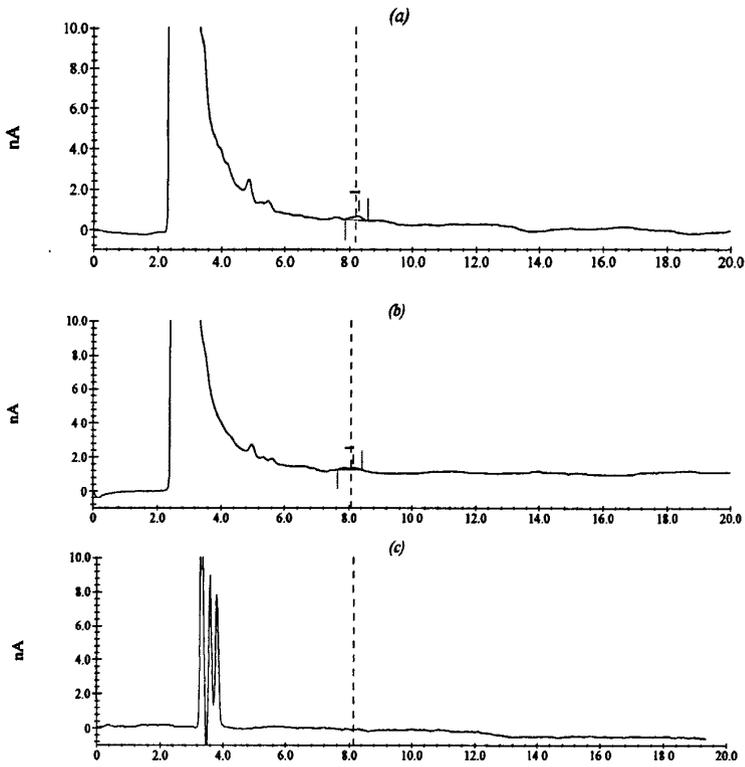


图 5.4 乳制品色谱图, (a) 牛奶 (b) 酸奶 (c) 婴儿奶粉

Fig. 5.4 Chromatogram of dairy products samples (a) milk; (b) yoghurt; (c) infant formula

表 5.4 列出了实际样品中 BPA 的检测结果。结果显示，牛奶、酸奶中 BPA 平均含量分别为 35、26 ng/mL；在婴儿奶粉中，没有检测到 BPA，说明在此种婴儿奶粉中 BPA 的含量低于该方法的检测限。分析成因：可能由于容器中 BPA 释出转移到牛奶和酸奶样品中导致污染。

表 5.2 实际样品中 BPA 的检测结果

Table 5.2 Assay results of BPA in real samples (n = 3)

| Samples | Ingredient | Original amount (ng/mL) | Added amount (ng/mL) | Found (ng/mL) | Recovery (%) | RSD (%) |
|----------------|------------|-------------------------|----------------------|---------------|--------------|---------|
| milk | BPA | 35 | 20 | 56 | 102 | 3.1 |
| | | | 120 | 159 | 102 | 3.7 |
| | | | 200 | 233 | 99 | 2.1 |
| yoghurt | BPA | 26 | 20 | 44 | 96 | 3.9 |
| | | | 120 | 144 | 99 | 4.3 |
| | | | 200 | 233 | 103 | 2.6 |
| infant formula | BPA | ND | 20 | 20 | 100 | 2.7 |
| | | | 120 | 112 | 93 | 1.7 |
| | | | 200 | 206 | 103 | 1.9 |

5.3.6.方法对比

表 5.3 对比了几种牛奶或婴儿配方食品中 BPA 的被报道过的分析方法。可以看出,被建议的方法更有优势来检测乳制品中的 BPA,因为它具有高检测限和较低的 LOD。

表 5.3 已报道的乳制品中 BPA 检测方法同本方法对比

Table 5.3 Comparison of analytical performances of the proposed method with the reported methods in dairy products

| Methods | LOD (ng/mL) | Recovery (%) | RSD (%) | Linear range (ng/mL) | Ref |
|--------------|-------------|--------------|----------|----------------------|-------------|
| LC-APCI-MS | 0.28 | 97 | 8.2-11.4 | 0.1-100 | [69] |
| GC-MS | 0.15 | 81 | 5 | 2-4000 | [63] |
| LC-ESI-MS | 0.7 | 101 | 5 | 5-700 | [71] |
| LC-FL | 0.11 | 96.4-100.2 | 0.9-8.7 | 0.2-5 | [72] |
| LC-ESI-MS/MS | 0.1 | 86-94 | 2.9 | 1-500 | [70] |
| IC-ED | 1 | 93-103 | 1.7-4.3 | 5-20000 | This method |

5.4.本章小结

利用 IC-ED 方法可准确检测商业乳制品中 BPA，且可有效节约时间，降低成本。相对于其它色谱方法，该方法避免了复杂的样品预处理并以其检测范围广准确度高，占有优势。另外，结果表明，IC-ED 可以其高选择性的和准确性检测到实际样品中较低含量的 BPA，预期该方法可用于常规分析。

结论

本文研究了离子色谱方法在常见样品分离分析中的应用,拓展了其在原有使用领域的适用范围。所得结论如下:

一、以离子色谱法测定沙尘暴对青岛市雨水中阴离子的影响研究,异常天气势必对降水中离子种类及含量产生显著影响,此项工作提供了一种简便有效的雨水监测方法,将异常天气对局部地区造成的危害程度量化,该方法简单通用、而且分析速度快、检测灵敏度高、方法准确可靠,且可为我国沿海地区大气环境污染研究以及周边的空气质量监督理论支持。

二、将离子色谱法用于地沟油样品鉴定,通过对某地沟油中阴离子含量及类别进行分析,找到地沟油中特异性离子 Br^- 的存在,将地沟油与食用油掺兑,地沟油含量与 Br^- 含量呈现正相关,据此判断该方法可有效起到鉴定作用,且分析工作 15min 即可完成。该方法将复杂样品地沟油,检测造成的困难降低。本文简单易操作,可用于日常油类监测检测和质量控制。

三、建立了水产品中氟离子的测定方法,相对于核磁共振法、氟离子选择电极、化学探针等方法,将离子色谱法具有快速、灵敏、稳定性高、选择性好、样品前处理简单等突出优点。用于测定多种水产品中氟离子,加标回收率高达 89.8-97.0%,且可用于其它食品样品中氟离子检测,该方法可有效监测食物中氟超标与否,为食品安全提供有力保障。

四、建立了一种简单快速的阴离子交换色谱-电化学(IC-ED)测定奶制品中双酚 A 的方法。双酚 A 以其类激素的特性对人体有诸多潜在危害,有必要建立一种简单易行快速的检测方法满足日常检测需要。通过优化分离分析条件,检出限达 1 ng/mL,加标回收率高,线性范围宽,可以其高选择性的和准确性检测到实际样品中较低含量的 BPA,充分满足了双酚 A 检测需求,成为一种节约环保的环境雌激素检测方式。

参考文献

- [1] 王龙胜, 刘思佳. 论离子色谱在环境监测中的应用[J], 价值工程, 2011, 3: 293.
- [2] 熊文明, 李拥军, 张志军, 潘灿盛. 离子色谱技术在食品检测中的研究进展[J], 广东化工, 2012, 39: 93.
- [3] 李国兴, 施青红, 凌艳艳, 朱岩. 离子色谱在食品和农药残留分析中的应用[J], 分析仪器, 2006, 2: 57-62.
- [4] 俞鹏程, 祝元春. 单柱离子色谱技术在石油化工分析中的一些应用[J], 石油化工, 1994, 23: 105-109.
- [5] 巩东侠, 刘肖, 江海飞, 王凌瑶. 氧弹燃烧-离子色谱法测定电子元器件中的卤素[J], 岩矿测试, 2009, 28: 545-548.
- [6] 陈青川, 牟世芬. 色谱, 2000, 18: 20.
- [7] 陈青川, 牟世芬. 离子色谱法在药物分析中的应用[J]. 药物分析杂志, 1997, 17: 54-58.
- [8] 乔国炜, 钮树芳, 李金梅. 离子色谱法测得尿液中的氟离子[J], 内蒙古石油化工, 2002, 28: 15-16.
- [9] 陈国胜, 徐盈, 张甬元. 单柱离子色谱法测定鱼血样中的钠钾离子及其在生态毒理学上的应用[J], 分析科学学报, 1996, 12: 217-219.
- [10] 邵雪阳, 唐宏兵, 葛志刚. 离子色谱法测定血液匀浆浓缩液中 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} [J], 中国卫生检验杂志, 2006, 16: 1205-1206.
- [11] 颜金良, 王立. 离子色谱法同时测定血清和尿中草酸及枸橼酸含量研究, 中国卫生检验杂志, 2010, 20: 478-480.
- [12] 周政华, 杨元, 洪君蓉, 等. 固相萃取-离子色谱-积分脉冲伏安法测定人血清中游离氨基酸[J], 2007, 35: 1063-1066.
- [13] Ling W, Cai YQ, He B, ed. Determination of estrogens in water by HPLC-UV using cloud point extraction[J], Talanta, 2006, 70: 47-51.
- [14] Wang S, Li Y, Wu X L, ed., Construction of uniformly sized pseudo template imprinted polymers coupled with HPLC-UV for the selective extraction and determination of trace estrogens in chicken tissue samples[J]. Journal of Hazardous Materials 2011, 186: 1513-1519.
- [15] Piwowska J, Radowicki S, Pachecka J, ed. Simultaneous determination of eight estrogens and their metabolites in serum using liquid chromatography with electrochemical detection[J], Talanta, 2010, 81: 275-280.
- [16] Matejcek D, Houserova P, Kuban V, Combined isolation and purification procedures prior to the high-performance liquid chromatographic-ion-trap tandem mass spectrometric determination of estrogens and their conjugates in river sediments[J], Journal of Chromatography A, 2007, 1171: 80-89.

- [17] Wang S, Huang W, Fang G Z, ed., On-line coupling of solid-phase extraction to high-performance liquid chromatography for determination of estrogens in environment[J], *Analytica Chimica Acta*, 2008, 606: 194-201
- [18] Zhao C, Guan X M, Liu X Y, ed. Synthesis of molecularly imprinted polymer using attapulgite as matrix by ultrasonic irradiation for simultaneous on-line solid phase extraction and high performance liquid chromatography determination of four estrogens[J], *Journal of Chromatography A*, 2012, 1229: 72-78
- [19] Nakamura S, Sian T H, Daishima S, Determination of estrogens in river water by gas chromatography-negative-ion chemical-ionization mass spectrometry[J], *Journal of Chromatography A*, 2001, 919: 275-282
- [20] Kawaguchi M, Ishii Y, Sakui N, ed. Stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry in the multi-shot mode for determination of estrogens in river water samples[J], *Journal of Chromatography A*, 2004, 1049: 1-8
- [21] Wang L, Yang P, Li Y X, ed., A flow-injection chemiluminescence method for the determination of some estrogens by enhancement of luminol-hydrogen peroxide-tetrasulfonated manganese phthalocyanine reaction[J], *Talanta*, 2006, 70: 219-224.
- [22] Wang L, Yuan F, Chen HQ, ed., Chemiluminescence of Cd Te nanocrystals catalyzed by sodium hexameta phosphate and its sensitive application for determination of estrogens[J], *Spectrochimica Acta Part A*, 2012, 91: 295-300.
- [23] Pearson J., Gill A., Margison G. P., ed. A rapid receptor-ligand assay determination of estrogens using surface plasmon resonance[J], *Sensors and Actuators B*, 2001, 76: 1-7.
- [24] Lin X Q, Li Y X, A sensitive determination of estrogens with a Pt nanoclusters/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode[J], *Biosensors and Bioelectronics*, 2006, 22: 253-259.
- [25] Zhang Y P, Li H B, Pan L K, et al. Capacitive behavior of graphene-ZnO composite film for supercapacitors[J]. *J Electroanal Chem*, 2009, 634(1): 68-71.
- [26] Williams G, Seger B, Kamat P V. TiO₂-graphene nanocomposites. UV-assisted photocatalytic reduction of graphene oxide [J]. *ACS Nano*, 2008, 2(7): 1487-1491.
- [27] Zhang K, Zang L L, Zhao X S, et al. Graphene/polyaniline nanofiber composites as supercapacitor electrodes [J]. *Chem Mater*, 2010, 22(4): 1392-1401.
- [28] Pang H, Chen T, Zhang G M, et al. An electrically conducting polymer/graphene composite with a very low percolation threshold [J]. *Mater Lett*, 2010, 64(20): 2226-2229.
- [29] Gorte R J, Park S, Vohs J M, et al. Anodes for direct oxidation of dry hydrocarbon in a solid-oxide fuel cell [J]. *Adv Mater*, 2000, 19(12): 1465-1469.

- [30] Tonghao Liu, Yanhui Li, Qiuju Du, et al. Adsorption of methylene blue from aqueous solution by graphene[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2012,90: 197-203.
- [31] J.M. Chen, J. Zou, J.B. Zeng, et al. Preparation and evaluation of graphene-coated solid-phase microextraction fiber, *Anal. Chim. Acta*, 2010, 678 (1): 44-49.
- [32] 徐茜, 赵景波. 新疆沙尘暴活动与气候条件的关系[J]. *干旱区资源与环境*, 2007, 21:116-120.
- [33] 牟世芬, 刘克纳, 丁晓静. 离子色谱方法及应用[M]. (第二版). 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [34] Gros N, Camões M F, Oliveira C, ed. Ionic composition of seawaters and derived saline solutions determined by ion chromatography and its relation to other water quality parameters[J]. *J. Chromatogr A*, 2008, 1210: 92-98.
- [35] 尹丽倩, 袁东星, 郭娟, 等. 离子色谱法测定烟气脱硫海水中的亚硫酸根离子[J]. *色谱*, 2009, 27: 825-828.
- [36] Moul P C, Mohanb S V, Reddy S J. Rainwater chemistry at a regional representative urban site: influence of terrestrial sources on ionic composition [J]. *Atmospheric Environment*, 2005, 39: 999-1008.
- [37] Cheng M C, You C F. Sources of major ions and heavy metals in rainwater associated with typhoon events in southwestern Taiwan[J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2010, 105: 106-116.
- [38] 江伟, 李心清, 曾勇, 等. 贵州省遵义地区降水中低分子有机酸及其来源[J]. *环境科学*, 2008, 29: 2425-2431.
- [39] Hegde P. Major Ionic Composition of Aerosol, Rainwater and its Impact on Surface and Sub-surface Waters, in and Around Mangalore, West Coast of India[J]. *Environ Monit Assess*, 2007, 133: 119-125.
- [40] Krata A, Kontozova-Deutsch V, Bencs L, et al. Single-run ion chromatographic separation of inorganic and low-molecular-mass organic anions under isocratic elution: Application to environmental samples [J]. *Talanta*, 2009, 79: 16-21.
- [41] 夏静芬, 施敏凤, 龚晓芳. 梯度淋洗离子色谱法同时测定雨水中 12 种有机酸和无机阴离子的研究[J]. *中国环境监测*, 2009, 25: 15-17.
- [42] Karthikeyan S, Balasubramanian R. Determination of water-soluble inorganic and organic species in atmospheric fine particulate matter [J]. *Microchemical Journal*, 2006, 82: 49-55.
- [43] 石金辉, 张云, 李瑞芃, 等. 东海大气气溶胶中无机氮组分的分布特征[J]. *环境科学*, 2010, 31: 2835-2843.
- [44] 王真, 郭怀成, 郁亚娟, 等. 离子色谱法-抑制型电导检测城市污水中的高氯酸根[J]. *中国环境监测*, 2009, 25: 31-34.

- [45] 应波, 李淑敏, 岳银玲, 鄂学礼.抑制型电导检测离子色谱法测定饮用水中的痕量溴酸盐[J].色谱, 2006, 24:302-304.
- [46] 冉莉, 周永, 朱俊东, 张乾勇, 糜漫天, 湍水油的急性毒性和遗传毒性研究[J], 第三军医大学学报, 2011, 33:1366-1369
- [47] 吉礼, 车振明, 李明元, 电导率法快速甄别泔水油的研究[J], 中国油脂, 2009, 34:75-77.
- [48] 陈守江, 张庆勇, 浴水油的电导率与其品质关系探讨[J], 安徽技术师范学院学报, 2004, 18:31-33.
- [49] Kardash-Strochkova E., Tur'yan Y. I., Kuselman I., Redox-potentiometric determination of peroxide value in edible oils without titration [J], Talanta. 2001,54 :411-416.
- [50] Fuse T, Kusu F, Takamura K, Determination of acid values of fats and oils by flow injection analysis with electrochemical detection[J], Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 1997, 15: 1515-1519.
- [51] Guillén M D, Uriarte P S.,A very simple, fast, and non-destructive approach to predict the time at which edible oils submitted to high temperature reach the established limits of safety[J]. Food Chemistry 2011, 127: 802-806.
- [52] 赵澎涛. 地沟油的快速检测技术与方法[J], 食品安全导刊, 2010, 5 月刊。
- [53] 梁芳慧, 尹平河, 赵玲, 王耀. 湍水油脱色工艺的研究[J], 中国油脂, 2006,31: 15-17.
- [54] 吴永宁.现代食品安全科学化学工业出版社, 北京, 1996.
- [55] 吴永兰, 杨明生, 黄娟娟, 文茜. 19F-核磁共振法测定甲磺酸帕珠沙星样品中的氟含量[J]. 分析化学, 2006, 34: 898
- [56] 李涛, 姚明娟, 胡明, 魏文国. 标准加入法数据处理的改进及用于测定宜昌茶叶的氟含量[J]. 分析实验室 (增刊), 2008, 27: 1-4.
- [57] 周激, 吴跃焕. 在酸性介质中用氟电极测定氟离子的新方法[J]. 分析实验室, 2006, 25: 82-84.
- [58] 刘淑娟, 赵强, 许文娟, 等. 基于有机硼化合物的氟离子化学探针[J]. 化学进展, 2008, 20: 1708-1715.
- [59] 周会. DX-300 离子色谱测定山地冰川雪冰中的有机酸与无机酸阴离子[J]. 色谱, 2001, 19: 353-355.
- [60] 徐霞, 应兴华, 段彬伍. 植物样品中痕量氟的离子色谱法分析[J].分析测试学报, 2008, 27: 57-59.
- [61] 刘肖, 刘京生, 蔡亚岐, 牟世芬. 离子色谱法检测植物提取液中痕量氟[J]. 分析测试学报, 2007, 26:128-130.
- [62] Rebarry B, Paul P, Ghosh P K. Food Chemistry. 2010, 123: 529-534.
- [63] 章燕珍, 焦霞, 刘丽, 周琰春, 朱岩. 离子色谱测定口腔含漱剂中的多种成分[J]. 化学分析, 2007, 35(7): 1032-1034.

- [64]Burrige E., Bisphenol A: product profile[J], Eur. Chem. News 2003,17: 14-17.
- [65] Scientific Committee on Food, Opinion of the Scientific Committee on Food on Bisphenol A, SCF/CS/PM/3936, Brussel, Amending Directive 2002/72/EC as regards the restriction of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles 2011.
- [66] Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (ACF) on request from the Commission related to 2,2-bis(4-hydroxyphenyl) propane (Bisphenol A). Question number EFSA-Q-2005-100, adopted on 29 November 2006. The EFSA Journal, 2006,428:1.
- [67]Krishnan A.V., Stathis P., Permuth S.F., ed. Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving[J]. Endocrinology.1993,132(6): 2279-2286.
- [68]Vandenberg L.N., Hauser R, Marcus M,ed. Human exposure to bisphenol A (BPA) [J]. Reproductive Toxicology, 2007, 24:139-177.
- [69]Ballesteros-Gomez A, Rubio S, Perez-Bendito D, Analytical methods for the determination of Bisphenol A in food[J], J. Chromatogr. A, 2009,1216: 449-469.
- [70] Casajuana N., Lacorte S., Agric J.New methodology for the determination of phthalate esters, bisphenol A, bisphenol A diglycidyl ether, and nonylphenol in commercial Whole Milk Samples[J], Food Chem. 2004,52: 3702-3707.
- [71] Tan F, Zhao H X, Li X N, ed. Preparation and evaluation of molecularly imprinted solid-phase microextraction fibers for selective extraction of bisphenol A in complex samples[J]. J. Chromatogr. A, 2009,1216(30): 5647-5654.
- [72]Cunha S.C., Fernandes J.O., Quantification of free and total bisphenol A and bisphenol B in human urine by dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) and heart-cutting multidimensional gas chromatography–mass spectrometry (MD-GC/MS)[J], Talanta,2010,83: 117-125.
- [73] Yan W, Li Y, Zhao L X,ed., Determination of estrogens and bisphenol A in bovine milk by automated on-line C30 solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography–mass spectrometry[J], J. Chromatogr. A, 2009,1216: 7539-7545.
- [74] Mohammad R, Yadollah Y, Shahab S, ed. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-UV detection as a very simple, rapid and sensitive method for the determination of bisphenol A in water samples[J],J. Chromatogr. A, 2009,1216: 1511-1514.
- [75] Lázaro Martínez J.M., Leal Denis M.F., Denaday L.R., ed. Development and characterization of a new polyampholyte-surfactant complex applied to the solid phase extraction of bisphenol-A[J], Talanta 2009,80 :789-796.
- [76]Ye X., Kuklennyk Z., Needham L.L., ed. Measuring environmental phenols and chlorinated

organic chemicals in breast milk using automated on-line column-switching-high performance liquid chromatography-isotope dilution tandem mass spectrometry[J], *J. Chromatogr. B* 2006,831: 110-115.

[77] Shao B., Han H., Tun X., ed. Analysis of alkylphenol and bisphenol A in eggs and milk by matrix solid phase dispersion extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J], *J. Chromatogr. B* 2007,850: 412-416.

[78] Maragou N.C., Lampi E.N., Thomaidis N.S., ed. Determination of bisphenol A in milk by solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry[J], *J. Chromatogr. A*,2006,1129: 165-173.

[79]Sun Y., Irie M., Kishikawa N., ed. Determination of bisphenol A in human breast milk by HPLC with column-switching and fluorescence detection[J], *Biomed. Chromatogr.*2004,18: 501-507.

[80]ConsueloS B, Ester M,JoséL T. Determination of tetrabromo bisphenol-A, tetrachloro bisphenol-A and bisphenol-A in soil by ultrasonic assisted extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J],*J. Chromatogr. A*, 2009,1216: 5497-5503.

[81] Fernandez M.F., Arrebola J.P., Taoufiki J., ed. Bisphenol-A and chlorinated derivatives in adipose tissue of women[J], *Reproductive Toxicology* 2007,24 : 259-264.

[82]Sajiki J., Simple and accurate determination of bisphenol A in red blood cells prepared with basic glycine buffer using liquid chromatography-electrochemical detection[J],*J. Chromatogr. B* 2003, 783: 367-375.

[83] Kataoka H., Ise M., Narimatsu S., Automated on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the analysis of bisphenol A, alkylphenols, and phthalate esters in foods contacted with plastics[J],*J. Sep. Sci.* 2002,25: 77-85.

[84] Gallart-Ayala H., Moyano E., Galceran M.T., On-line solid phase extraction fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of bisphenol A and its chlorinated derivatives in water samples[J], *J. Chromatogr. A*, 2010,1217: 3511-3518.

[85] Watabe Y., Kondo T., Imai H., ed. Reducing Bisphenol A Contamination from Analytical Procedures To Determine Ultralow Levels in Environmental Samples Using Automated HPLC Microanalysis[J].*Anal. Chem.* 2004,76: 105-109.

[86] Watabe Y., Kondo T., Morita M., ed. Determination of bisphenol A in environmental water at ultra-low level by high-performance liquid chromatography with an effective on-line pretreatment device[J]. *J. Chromatogr. A.*2004,1032: 45-49.

攻读学位期间的研究成果

在国际和国内学术刊物上发表的论文

- [1] 吕娜娜, 王宗花, 张菲菲, 李延辉, 夏延致. 荧光酮取代基对碳纳米管协同增效作用的影响研究. *分析测试学报*, 2010, 29(7): 658-662.
- [2] 吕娜娜, 王宗花, 张菲菲, 夏建飞, 夏延致, 李延辉, 侯倩慧. 沙尘暴对青岛雨水中阴离子含量的影响, *环境化学*, 2012, 31(2): 256-257.
- [3] Zonghua Wang, Nana Lv, He Cuib, Jianfei Xia, Jianguo Gao, Feifei Zhang, Yanzhi Xia, Guangkun Su. Determination of Bisphenol A in Dairy Products Using Solid Phase Extraction Followed by Ion Chromatography with Constant Potential Detection. *Chromatographia*, jssc:201200282 (in review) .
- [4] Wang Zonghua, Ly Nana, Zhang Feifei, XIA Jianfei, XIA Yanzhi, LI Yanhui, Hou Qianhui. A complementary detection Method to Identify Illegal Cooking Oil *Chromatographia* (in review) .
- [5] 崔鹤, 吕娜娜, 李惠颖, 张惠珍, 苏广坤, 王宗花. 离子色谱法测定水产品中氟离子含量的研究 (投稿中)

在国际和国内会议上发表的论文

- [1] 吕娜娜, 王宗花, 张菲菲, 李延辉, 夏延致. 荧光酮取代基对碳纳米管协同增效作用的影响研究, 青岛市分析测试年会, 中国青岛, 2009年12月
- [2] 吕娜娜, 王宗花, 张菲菲, 夏建飞, 夏延致, 李延辉, 侯倩慧. 沙尘暴对青岛雨水中阴离子含量的影响, 第十三届全国离子色谱学术报告会议, 中国青岛, 2010年9月
- [3] Wang Zonghua, Ly Nana Zhang Feifei, Xia Jianfei, Xia Yanzhi, Li Yanhui, Hou Qianhui. Ion Chromatography Method to Identify Illegal Cooking Oil, The 5th Asia-Pacific Symposium on Ion Analysis. Guilin China, 2011, 11.

主要符号对照表

| | |
|---------|--|
| IC | 离子色谱(Ion Chromatography) |
| GC | 气相色谱 (Gas Chromatography) |
| GC-MS | 气质联用 (Gas Chromatography Mass) |
| HPLC | 高效液相色谱 (High Performance Liquid Chromatography) |
| HPLC-MS | 液质联用 (High Performance Liquid Chromatography mass) |
| CE | 毛细管电泳 (Capillary Electrophoresis) |
| RSD | 相对标准偏差 (Relatively Standard Deviation) |
| AEC | 阴离子交换色谱法 (Anion Exchange Chromatography) |
| SPE | 固相萃取 (Solid phase Extraction) |
| BPA | 双酚 A (Bisphenol A) |

致谢

本论文是在青岛大学王宗花教授指导下完成的。在完成论文的过程中，山东出入境检验检疫局技术中心的崔鹤老师给了很多的帮助与指导。感谢两位老师对我的培养和教诲。两位老师渊博的学识以及对学术前沿敏锐的洞察力、严谨的治学态度以及孜孜不倦的忘我工作精神深深影响了我，这些都将使我受益终生。两位老师在学习、生活中都给予了我无微不至的关怀，使我倍受感动。

感谢张菲菲、夏建飞老师及课题组同学的帮助。感谢课题组周成凤师姐和朱富强同学以及各位同届同学、师弟师妹对我生活和学习中的关怀和宽慰。谨以此文表达对父母、家人、亲友的爱意！

吕娜娜
2012年4月