

亚临界水萃取在分析化学中的应用

吴仁铭

(上海环境监测中心 上海 200030)

摘 要 亚临界水的介电常数 ϵ 随温度增加而减少, 在 250 °C 时 ϵ 值只有 27 (介于甲醇与乙醇之间), 比常温常压下水的介电常数 $\epsilon = 80$ 下降了许多。亚临界水极性的减弱, 使它对中极性和非极性有机化合物的溶解度大大增加, 可以定量萃取出固体试样中的多环芳烃和多氯联苯化合物。另外, 亚临界水也可以作为反相高效液相色谱的洗脱液。

关键词 亚临界水 萃取 洗脱液

中图分类号: O 652.16 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-2281X (2002) 01-0032-05

Application of Subcritical Water Extraction in Analytical Chemistry

Wu Renming

(Shanghai Environment Monitoring Centre, Shanghai 200030, China)

Abstract At ambient temperature and pressure water has a dielectric constant $\epsilon = 80$. However, the dielectric constant of subcritical water can be lowered by raising the temperature of the water under moderate pressure. Subcritical water at 250 °C and 5 MPa has $\epsilon = 27$, which is similar to those of ethanol ($\epsilon = 24$) and methanol ($\epsilon = 33$). Thus, the solubilities of low polarity organics such as PAHs and PCBs can be increased by heating the water under moderate pressure. Furthermore, subcritical water has been shown to be a feasible medium polarity replacement for methanol/water or acetonitrile/water mixture as an eluent for reversed-phase HPLC.

Key words subcritical water; extraction; eluents

一、引 言

试样进行分析测试时, 前处理是至关重要的一步。目前大多数实验室仍使用索氏萃取和超声萃取, 每个样品要消耗几百毫升有机溶剂, 萃取时间也长达 12—24 h。这些有机溶剂不但价格贵, 而且有一定的毒性和易燃性, 还会污染环境。近 10 多年来, 发展了微波溶剂萃取^[1, 2], 加速溶剂萃取^[3, 4]和超临界流体萃取^[5, 6]技术, 这些技术一是大大缩短了操作时间, 一般在 1 h 内能完成全部操作 (有的方法只要十几分钟); 二是萃取效率不低于经典的索氏萃取技术; 三是有机溶剂的使用量大大减少了。超临界流体萃取技术, 在大多数情况下是用 CO₂ 作为萃取剂,

不用或很少用有机溶剂, CO₂ 是对环境无害的溶剂, 所以这项技术得到快速发展, 并已应用到工业提取和分析试样的各个领域。但是 CO₂ 作为萃取剂由于它的极性太低 (介电常数仅为 1), 也会使萃取效率受损, 解决的办法是可以加入一些改性剂 (如甲醇), 来增强它对中等极性化合物的萃取效率。

水, 也是一个对环境无害的萃取剂, 常温常压下水是极性很大的溶剂 ($\epsilon = 80$), 它能很好地溶解极性有机化合物, 如酚的溶解度达到 80 g/L, 但对中极性和非极性有机化合物溶解度非常小, 拿多环芳烃类化合物来说, 它们的溶解度都很小, 并随分子量增大变得更小, 萘为 32 mg/L, 菲为 113 mg/L, 芘为 0.141 mg/L。然而, 水在超临界状态下 ($T > 374$ °C, P

> 2211 M Pa) 极性下降, E 为 5—15 (与温度、压力有关), 对中极性和非极性有机物的溶解度也增大了, 可以成为有机物有效的萃取剂。由于超临界水产生的实验条件比较苛刻, 以及超临界水具有腐蚀性, 会使一些有机化合物分解, 因此它无法在分析实验室当作一种萃取剂使用。

在适度的压力下, 只要水保持为液体, 这种液体水的极性会随温度变化而改变, 这种水称为亚临界水 (subcritical water)^[7], 在文献中也有称它为超热水和高温水。亚临界水与常温常压下的水在性质上有较大差别, 它更类似于有机溶剂, 这为它的应用开辟了一个新的领域。本文综述 1994 年以来亚临界水作为样品前处理的萃取剂和作为反相高效液体色谱洗脱剂方面的应用。

二、亚临界水萃取技术

根据液体水的物理性质, 在一定的压力下水的极性随温度的升高而降低, 与压力的变化基本无关^[8—11]。表 1 列出了几种有机溶剂在常温常压下的介电常数和 水在不同温度下的介电常数。从表 1 可以看出水在 250 时介电常数为 27, 介于常温常压下乙醇 (E= 24) 和甲醇 (E= 33) 之间, 这表明亚临界水应对中极性和非极性有机物具有一定的溶解能力。表 2^[11]列出了不同温度下苯并[a]芘、百菌清和丙唑啉在水中的溶解度, 可以看到, 当温度从室温增加到 250 时, 这些有机化合物的溶解度成万倍地增加。

表 1 水和有机溶剂的介电常数

Table 1 Dielectric constants of water and organic solvents

溶剂	介电常数 E (常温常压)	温度	水的介电常数 E (P= 5 M Pa)
正己烷	1. 89	50	71
环己烷	2. 02	100	56
苯	2. 27	150	45
二氯甲烷	8. 93	200	35
甲基乙基酮	18. 51	250	27
丙酮	20. 7	300	22
乙醇	24	400	8
甲醇	33	超临界水	
乙腈	37. 5	(T> 374 , P> 22. 1 M Pa)	5—15
水	80		

1994 年 Haw thorne 等人^[8, 9, 12]根据上述性质制作了一套亚临界水萃取装置, 它由四部分组成。第一部分是高压注射泵, 即一般高压液体色谱用的泵, 它

表 2 不同温度下苯并[a]芘、百菌清和丙唑啉在水中的溶解度 (mg/L, 压力 6—7 M Pa)

Table 2 Solubility of benzo[a]pyrene, chlorothalonil and propazine in water at different temperature

温度 ()	溶 解 度		
	苯并[a]芘	百菌清	丙唑啉
25	0. 004	0. 18±0. 01	6. 3±0. 15
50		0. 80±0. 06	13. 7±0. 8
100	0. 004±0. 01	28±2	106±3
150	6. 5±0. 4	950±23	2 560±11
200	63. 1±1. 0	23 400±720	26 800±3 600
250	1 095±41		

的作用是给水加压; 第二部分是气相色谱仪的柱箱, 它的作用是给水和样品加热, 从注射泵泵入的水 (纯水, 用高纯氮脱除氧气 1—2 h) 先经过一个 4 m 长的预热圈进行加热, 然后才进入萃取柱; 第三部分是萃取柱, 可用高压液体色谱的柱子作为萃取柱, 样品装在柱内, 垂直地安装在柱箱内, 水从上而下流经萃取柱, 最后输出柱箱, 水的流量控制在 1 mL/min 左右; 第四部分是萃取柱流出亚临界水的接收装置, 由于亚临界水流出柱箱后即进入常温常压状态, 有机物的溶解度也就变小, 为了不使已提取出的有机物流失, 要再次把亚临界水中的有机物萃取出来。目前这种萃取接受装置可分为三类, 即液液萃取, 固相萃取和固相微萃取接收装置。下面分别叙述这三类接收装置。

1.1 液液萃取接收装置

亚临界水经萃取柱流出柱箱后, 进入冷却圈冷却, 通过针形阀到达吸收瓶, 吸收瓶内装有溶剂 (如二氯甲烷), 水通过溶剂后才进入水相, 使有机物都能转移到有机溶剂中, 经分离、浓缩后即可测定。Haw thorne 等人^[8]测定了美国 EPA AQ 103 高含量多环芳烃 (PAHs) 土壤样品和 N IST SRM 1649 低含量 PAHs 的城市大气颗粒物样品, 在压力为 5 M Pa, 温度为 250 时, 以流速为 1 mL/min, 用亚临界水萃取 15 min, 对土壤样品来说 PAHs 回收率都很高, 部分实测值比给出值还高。对大气颗粒物样品来说, 除了分子量较大的茚并[1, 2, 3cd]芘和苯并[g, h, i]芘的回收率 (57% 和 68%) 偏低外, 其它 PAHs 的回收率都很好。

Yang 等人^[9]在压力为 5 M Pa, 温度为 250 , 流速为 1 mL/min 情况下, 用亚临界水萃取比利时工业土壤样品 CRM 481 和美国 N IST 河流沉积物

样品 SRM 1939 中的多氯联苯 (PCBs), 萃取 15 min, 大部分 PCBs 回收率都很高, 除了部分分子量较大的六氯联苯和七氯联苯回收率偏低(但仍大于 70%), 若再提高温度达 300 形成过热蒸汽, 回收率能全部达到 90% 以上。他们^[12]还在不同温度下用亚临界水萃取土壤和污泥中不同类别的有机污染物, 在 50—150 时可定量萃取出酚、苯、甲苯、乙苯和二甲苯, 而 PAHs 不被萃取出, 当温度升高到 250—300 时可定量萃取出 PAHs, 而高分子量烷烃(> C₂₀) 仍不被萃取出, 这样达到逐级分离的目的。

21 固相萃取接收装置

另一种方法是亚临界水从萃取柱流出后直接与一个固相萃取柱相连接, 水中的有机物都可转移到固相吸附剂上去。Yang 等人^[13]用一根长 20 mm 内径 4 mm 的 ODS 柱放在冰水浴中直接耦合到萃取柱的出口, 亚临界水中有有机物转移到固相吸附剂柱后, 再把吸附剂柱连接到装有六通阀的 HPLC 上, 分离并测定有机物含量。他们在 10 MPa, 100 下用 5 mL 水(恒流速 0.16 mL/min) 萃取土样中苯、甲苯、乙苯和二甲苯, 测得的浓度与用超声萃取法的结果完全一致, 并且色谱峰形与标样一致, 没有展宽现象产生。在 10 MPa, 250 下用 15 mL 水(恒流速 0.16 mL/min) 萃取土样中 PAHs, 结果也与超声萃取法基本一致。Crescenzi 等人^[14]用 CarboGraph4 柱子吸附亚临界水萃取土壤中多种除草剂残留, 用 LC-MS 测定, 从 5 种土壤样品中得到回收率都比索氏萃取和超声萃取法高, 检测限达到 117—10 ng/g。最近 Li 等人^[15]把亚临界水萃取装置, 通过固相萃取柱和几个截止阀直接与 HPLC 联机, 在分离测定多氯酚、咖啡因、硝基甲苯和 PCBs 时得到满意的结果。

31 固相微萃取接收装置

当样品中的有机物被亚临界水萃取到水相后, 很容易联想到若把有机物再进一步转移到固相微萃取器的涂渍固定相的石英纤维上, 那么就可以达到在样品萃取全过程中完全不用有机溶剂。按这个想法 Diamon 和 Pawliszyn^[16]设计了用动态法和静态法来完成亚临界水萃取和固相微萃取相结合的方法。

(1) 动态法 亚临界水从萃取柱流出来后直接流入收集瓶内, 在容积为 40 mL 的收集瓶内预先装有 10 mL 水和搅拌棒, 收集瓶上方安装固相微萃取器, 纤维头插入水中, 当亚临界水不断进入收集瓶时, 搅拌器不停地搅动, 使水中的有机物转移到纤维

头上, 70 min 后, 达到两相分配平衡, 取下固相微萃取器用 GC-MS 法测定。动态法可用外标进行定量。

(2) 静态法 在一个 20 mL 不锈钢高压容器里, 加入 50 mg 样品和 18 mL 水, 上端插入固相微萃取器, 在保证容器密闭情况下用电热板加热到 270 (容器内的水达到亚临界状态), 保持 120 min, 使分析物从基体中溶出, 冷却 120 min 后拔出固相微萃取器, 用 GC-MS 测定。静态法要用内标法定量。

Diamon 和 Pawliszyn 用这两种方法测定 NIST SRM 1649 大气颗粒物样品中的 PAHs, 除了苯并[a]芘回收率偏低(但仍大于 70%) 外, 其它 PAHs 回收率较好。静态法比动态法更优越是因为它又省了一套产生亚临界水的装置。

Hageman 等人^[17]也用静态法测定了环境固体试样中半挥发性有机污染物。

亚临界水萃取与其它萃取分离技术的比较最近也有报道, Pross^[18]等人用超临界 CO₂ 流体、超临界 SF₆ 流体和亚临界水分别萃取土壤中含不同氯原子数的多氯联苯, 综合比较其结果, 认为用亚临界水萃取多氯联苯效果最好。

Hawthorne^[19]等人对土壤样品中的 PAHs 用索氏萃取、加压有机溶剂萃取、超临界 CO₂ 萃取和亚临界水萃取进行测试比较, 他们得到这 4 种萃取技术的回收率都是好的, 但超临界 CO₂ 萃取和亚临界水萃取(250 , 5 MPa) 对分子量大于 252 的多环芳烃萃取能力较低, 只有当把亚临界水的温度提高到 300 时, 大分子量的多环芳烃才能萃取完全。这 4 种方法得到萃取物的颜色分别是棕黑色、棕色、浅黄色和桔黄色。在索氏萃取和加压有机溶剂萃取的深色萃取物中夹杂着从基体中萃取出的许多其它有机物, 若不进行净化, 很难测定多环芳烃。在对大气颗粒物的分析中, 索氏萃取的萃取物色谱图中大量的烷烃峰(C₁₈—C₃₀) 把多环芳烃峰淹没在其中。超临界 CO₂ 萃取虽然在 20 MPa, 50 能先大量萃取出烷烃, 再在 40 MPa, 150 萃取出多环芳烃, 它的多环芳烃色谱图没有干扰, 但因在烷烃馏分中带出部分低分子量多环芳烃产生损失, 所以也有缺陷。亚临界水由于它有一定的极性对烷烃的萃取较少, 其萃取物可得到一张干扰较少的多环芳烃色谱图。

三、亚临界水作为反相液体色谱的洗脱液

通常水与甲醇、乙腈等有机溶剂以不同配比混合可作为反相液体色谱的洗脱液。甲醇、乙腈加进水

后可以改变水的极性、粘度和表面张力。极性的下降可以增加中、低极性有机物的溶解度, 会使保留因子减少。水在一定的压力下升高温度, 介电常数 ϵ 也会随之减小, 这与水-甲醇、水-乙腈体系在常温下随着甲醇和乙腈的配比增加 ϵ 也会减小的趋势是一致的^[7]。另外, 水在高温下粘度和表面张力也会下降。在 250 °C 时它的数值已与甲醇和乙腈相接近^[7]。因此, 用提高水温的办法, 亚临界水也可作为反相液相色谱的洗脱液, 而且水的程序升温能起到与液相色谱梯度淋洗相类似的作用。

Smith 和 Burgess^[20, 21] 用聚苯乙烯-二乙烯基苯 (PS-DVB) 的 HPLC 柱子 (长 15 cm, 内径 4.16 mm) 和 UV-Vis 检测器, 在不同温度下用亚临界水洗脱液测定得到酚、间-2-甲氧基酚和间-2-甲酚的保留因子随温度增加而减小, 见表 3^[20]。在 180 °C 时的分离情况与同样柱子用乙腈-水比例为 20 : 80 的结果相当。

表 3 不同温度下亚临界水在 PS-DVB 柱子上洗脱酚类的保留因子

Table 3 Retention factors of phenols on a PS-DVB column on elution with subcritical water (1 mL min⁻¹) at increasing temperatures

化合物	保留因子			
	150	160	170	180
酚	3.20	2.59	2.01	1.68
间-2-甲氧基酚	5.15	3.98	2.98	2.39
间-2-甲酚	9.32	7.09	5.33	4.21

Miller 和 Hawthorne^[22] 控制亚临界水洗脱液的流速在 200 mL min⁻¹ 之内, 用气相色谱的火焰离子检测器 (FID) 作为反相液相色谱检测器, 检测限可达到几个纳克。实验在一个气相色谱柱箱内进行, 一根长 15 cm 内径 2 mm 的 HPLC-PRP21 柱置于柱箱内, 柱子的进口有亚临界水流入, 柱子的出口连接一根不锈钢限流毛细管 (内径 57 μ m)。压力为 2 MPa 时, 流速为 20 mL min⁻¹。压力为 6.15 MPa 时, 流速为 200 mL min⁻¹。限流毛细管的另一端连接到 FID 上, 由于水在 FID 上没有响应, 所以用亚临界水洗脱液不会对测定有影响。他们分离了 7 种低级醇类 (甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、正丁醇、仲丁醇和叔丁醇)。在温度 40 °C 时, 用 50 min 时间 7 个组分的峰还出不全; 在 80 °C 时, 30 min 内 7 个峰能出全, 但丁醇的三个峰的峰形较宽并有拖尾, 在 140 °C 时, 10 min 内 7 个峰出齐, 峰形很好, 但正丙醇和异丙醇还不能完全分离, 只有用程序升温 (在 120 °C 维持 3 min, 然

后以 150 °C 分速上升到 150 °C 并维持不变), 这 7 个醇类才能完全分离, 且峰形很好。所以提高水的温度不但减小保留因子, 而且色谱峰形也变好, 而用程序升温的办法还可以进一步改善分离性能。

Ingelse 等人^[23] 在 PRP1 柱子上, 用亚临界水洗脱液 (流速为 50 mL min⁻¹), 在 175 °C 下用 FID 作检测器分离并测定了几个醛类化合物。这种以亚临界水作洗脱液, 用 FID 作检测器的方法, 为 HPLC 提供了一个通用灵敏的检测器, 它适合于分离和检测极性和中等极性化合物, 如醇类和醛类, 并且检测限降低到 10^{-9} g mL⁻¹ 量级。

亚临界水在分析测试中的应用已初见成效。Kipp 等人^[24] 认为由于亚临界水萃取装置结构简单体积小, 可以装在厢式货车上, 只要配备小型发电机, 完全可以野外处理土样, 土壤的湿度不影响萃取效率, 他们用亚临界水萃取与酶免疫测定相结合的方法, 短时间内测定出表层土壤和沉积物中的 PAHs, 有利于土壤污染的快速筛选和评价。

Hawthorne 等人^[25] 最近报道用静态法把土壤水和固体吸附盘 (苯乙烯-二乙烯基苯) 放在一个密闭的萃取池中加热到 250 °C, 15—60 min, 使土壤中的 PAHs 全部转移到吸附盘上, 冷却后用丙酮-二氯甲烷洗脱, 测得分子量从 178—276 的 PAHs 的回收率都大于 90%。他们也认为这种分离方法非常适合野外运作。

目前国内还未见有关亚临界水萃取的报道, 由于这项研究所需的实验条件比较简单, 应在下面几个领域开展工作。

(1) 利用亚临界水萃取技术开展环境样品测定的研究工作, 如测定固体废弃物、土壤、沉积物和大气颗粒物中的有机污染物。

(2) 亚临界水在食品工业中既是一种溶剂也是反应剂 (如水解反应), Holliday 等人^[26] 用亚临界水对豆油、亚麻子油和椰子油的水解做了研究, 亚临界水在工业领域中的应用应该拓展。

(3) 利用亚临界水萃取中草药 (天然药物) 的有效成分, 这种提取方法比用有机溶剂提取更接近于实际 (中国传统的方法是用水煎熬中草药)。亚临界水萃取还可通过调节温度提取不同种类的成分。目前已有报道^[27, 28] 用亚临界水萃取药用植物小茴香的精油, 作者认为该法快速、有效, 可通过改变萃取参量选择萃取成分, 并可为药物生产自动化作出新的贡献。

(4) 利用亚临界水技术处理污水和污染的土

壤^[29,30], 有些污染物如农药、炸药、高分子量的 PAHs 等在一定的温度下被亚临界水分解, 因此它在环境治理中也将作为新的处理方法而得到应用。

参 考 文 献

- [1] Hasty E, Revesz R. Amer. Lab., 1995, 27(4): 66
- [2] 陈猛(Chen M), 袁东星(Yuan D X), 许鹏翔(Xu P X). 分析测试学报(J. Instrum. Anal.), 1997, 18(2): 82—85
- [3] Richter B E, Jones B A, Ezzell J L, et al. Anal. Chem., 1996, 68(6): 1033—1039
- [4] 牟世芬(Mou S F), 刘克纳(Liu K N), 阎炎(Yan Y)等. 环境化学(J. Environ. Chem.), 1997, 16(4): 387—391
- [5] Janda V, Fanta J, Vejrosta J. J. High. Resol. Chromatogr., 1996, 19: 588—590
- [6] 游静(You J), 王国俊(Wang G J), 俞惟乐(Yu W L). 色谱(Chin. J. Chromatogr.), 1999, 17(1): 30—34
- [7] Yang Y, Belghazi M, Lagdec A, et al. J. Chromatogr. A, 1998, 810: 149—151
- [8] Hawthorne S B, Yang Y, Miller D J. Anal. Chem., 1994, 66(18): 2912—2921
- [9] Yang Y, Bowadt S, Hawthorne S B, et al. Anal. Chem., 1995, 67(24): 4571—4576
- [10] Miller D J, Hawthorne S B. J. Chem. Eng. Data, 2000, 45(1): 78—81
- [11] Miller D J, Hawthorne S B. Anal. Chem., 1998, 70(8): 1618—1621
- [12] Yang Y, Hawthorne S B, Miller D J. Environ. Sci. Technol., 1997, 31(2): 430—437
- [13] Yang Y, Li B. Anal. Chem., 1999, 71(8): 1491—1495
- [14] Crescenzi C, D'Ascenzo G, Corcia A D. Anal. Chem., 1999, 71(11): 2157—2163
- [15] Li B, Yang Y, Gan Y, et al. J. Chromatogr. A, 2000, 873: 175—184
- [16] Daimon H, Pawliszyn J. Anal. Commun., 1996, 33: 421—424
- [17] Hageman K J, Mazeas L, Grabanski C B. Anal. Chem., 1996, 68(22): 3892—3898
- [18] Pross S, Gau W, Wenclawick B W, Fresenius J. Anal. Chem., 2000, 367: 89—90
- [19] Hawthorne S B, Grabanski C B, Martin E, et al. J. Chromatogr. A, 2000, 892: 421—433
- [20] Smith R M, Burgess R J. Anal. Commun., 1996, 33: 327—329
- [21] Smith R M, Burgess R J. J. Chromatogr. A, 1997, 785: 49—55
- [22] Miller D J, Hawthorne S B. Anal. Chem., 1997, 69(4): 623—627
- [23] Ingelse B A, Janssen H G, Cramers C A. J. High. Resol. Chromatogr., 1998, 21(11): 613—616
- [24] Kipp S, Peyrer H, Kleibohmer W. Talanta, 1998, 46: 385—393
- [25] Hawthorne S B, Trembley S, Moniot C L, et al. J. Chromatogr. A, 2000, 886: 237—244
- [26] Holliday R L, King J W, List G R. Ind. Eng. Chem. Res., 1997, 36: 932—935
- [27] Gamiz-Gracia L, Castro M D. Talanta, 2000, 51: 1179—1185
- [28] Fernandez-Perez V, Jimenez-Camona M M, Castro M D. Analyst, 2000, 125: 481—485
- [29] Lagadec A J M, Miller D J, Lilka A V, et al. Environ. Sci. Technol., 2000, 34: 1542—1548
- [30] Hawthorne S B, Lagadec A J M, Kalderis D, et al. Environ. Sci. Technol., 2000, 34: 3224—3228