

分散液液微萃取-衍生化高效液相色谱-荧光检测法 测定环境水样中4种酚类内分泌干扰物

王晓燕¹, 亓伟梅², 赵先恩^{1*}, 吕涛¹, 王西亚¹,
郑龙芳¹, 闫业浩¹, 尤进茂^{1,3*}

(1. 山东省生命有机分析重点实验室, 曲阜师范大学化学与化工学院, 山东 曲阜 273165;

2. 莱芜职业技术学院化工教研室, 山东 莱芜 271100; 3. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001)

摘要:为实现小体积环境水样中酚类化合物的准确、快速、高灵敏测定,通过分散液液微萃取(DLLME)和荧光衍生化的结合,建立了高效液相色谱-荧光检测(HPLC-FLD)双酚A、壬基酚、辛基酚和对特辛基酚的分析方法。考察并优化了DLLME和衍生化条件,结果表明,最优的DLLME条件为萃取剂氯仿用量70 μL,分散剂乙腈用量400 μL,漩涡振荡3 min,高速离心2 min。以2-[2-(7H-二苯并[a,g]咔唑-乙氧基)]-乙基氯甲酸酯(DBCEC-Cl)为柱前衍生试剂,在pH 10.5的Na₂CO₃-NaHCO₃缓冲液/乙腈溶液,50℃下衍生反应3 min得到稳定的衍生产物,于10 min内实现了4种酚衍生物的分离。方法的检出限为0.9~1.6 ng/L,定量限为3.8~7.1 ng/L,具有良好的线性、精密度和回收率,与以往报道的方法相比具有一定的优势和实用性,可用于造纸厂废水、湖水、生活废水、自来水中4种酚类内分泌干扰物的测定。

关键词:分散液液微萃取;衍生化;高效液相色谱;荧光检测;酚类化合物;内分泌干扰物;环境水样

中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1000-8713(2014)06-0623-06

Determination of four phenolic endocrine disruptors in environmental water samples by high performance liquid chromatography-fluorescence detection using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with derivatization

WANG Xiaoyan¹, QI Weimei², ZHAO Xian'en^{1*}, LÜ Tao¹, WANG Xiya¹,
ZHENG Longfang¹, YAN Yehao¹, YOU Jinmao^{1,3*}

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Life-Organic Analysis, College of Chemistry and
Chemical Engineering, Qufu Normal University, Qufu 273165, China; 2. Department of
Chemical Engineering, Laiwu Vocational and Technical College, Laiwu 271100, China;

3. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

Abstract: To achieve accurate, fast and sensitive detection of phenolic endocrine disruptors in small volume of environmental water samples, a method of dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) coupled with fluorescent derivatization was developed for the determination of bisphenol A, nonylphenol, octylphenol and 4-tert-octylphenol in environmental water samples by high performance liquid chromatography-fluorescence detection (HPLC-FLD). The DLLME and derivatization conditions were investigated, and the optimized DLLME conditions for small volume of environmental water samples (pH 4.0) at room temperature were as follows: 70 μL chloroform as extraction solvent, 400 μL acetonitrile as dispersing solvent, vortex mixing for 3 min, and then high-speed centrifugation for 2 min. Using 2-[2-(7H-dibenzo[a,g]carbazol-7-yl)-ethoxy] ethyl chloroformate (DBCEC-Cl) as precolumn derivatization reagent, the stable derivatives of the four phe-

* 通讯联系人. Tel: (0537)4458501, E-mail: xianenzhao@163.com(赵先恩); E-mail: jmyou6304@163.com(尤进茂).

基金项目: 国家自然科学基金项目(81303179); 曲阜师范大学科研启动基金项目(BSQD2012019).

收稿日期: 2014-02-17

nolic endocrine disruptors were obtained in pH 10.5 Na_2CO_3 - NaHCO_3 buffer/acetonitrile at 50 °C for 3 min, and then separated within 10 min by HPLC-FLD. The limits of detection (LODs) were in the range of 0.9–1.6 ng/L, and the limits of quantification (LOQs) were in the range of 3.8–7.1 ng/L. This method had perfect linearity, precision and recovery results, and showed obvious advantages and practicality comparing to the previously reported methods. It is a convenient and validated method for the routine analysis of phenolic endocrine disruptors in waste water of paper mill, lake water, domestic wastewater, tap water, etc.

Key words: dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME); derivatization; high performance liquid chromatography (HPLC); fluorescence detection (FLD); phenols; endocrine disruptors; environmental water samples

双酚 A(BPA)、辛基酚(OP)、壬基酚(NP)和对特辛基酚(POP)等酚类环境污染物是典型的内分泌干扰物,极微量就能严重干扰人的内分泌功能,对人类健康和生态环境构成巨大威胁。因此建立该类毒物快速灵敏的检测方法在环境分析和食品分析领域具有重要意义^[1-3]。

水中酚类化合物的提取方法常用液液萃取法(LLE)^[4]和固相萃取法(SPE)^[5,6],但存在萃取率低、有机溶剂消耗大、操作繁琐等缺点。自 2006 年 Assadi 等^[7]首次报道分散液液微萃取(dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)以来,因其所需萃取溶剂量少、萃取速度快、萃取效率和富集倍数高、操作简便和环境友好等优点,已逐渐成为一种极具潜力的分离富集技术^[8], DLLME 已被应用于多种酚类化合物的萃取^[9,10]。

酚类内分泌干扰物的检测方法主要包括 GC、GC-MS、HPLC、HPLC-MS、CE 等^[4,5,11,12]。HPLC-直接紫外或荧光检测的灵敏度差、基质干扰严重,往往无法实现实际样品的准确检测。GC 和 GC-MS 法对样品前处理条件要求苛刻,重复性不够理想,且 GC-MS、HPLC-MS 仪器昂贵。CE 具有样品用量少、分离能力强和分离速度快等优点,但其样品前处理要求高,在环境科学领域的应用有限。柱前衍生化通过分子标记技术,将衍生化试剂含有的色谱或质谱增敏的功能基团引入到检测物中,能够显著提高分析物的灵敏度、选择性和准确度等^[13],具有显著优势。最近, DLLME 技术结合柱前衍生的样品前处理方法已开始 HPLC 分析中得到应用^[14],与传统方法相比优势显著。

本研究采用 DLLME 法对环境水样中 4 种酚类污染物进行快速萃取,结合柱前衍生技术^[15],建立了酚类毒物的高灵敏 HPLC-FLD 方法,具有水样用量少、准确、快速、方便的优势。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪,配备四元梯度泵、在线真空脱气机、荧光检测器、自动进样器、恒温柱温箱(Agilent 公司); XW-80A 漩涡混匀器(上海精科实业有限公司); 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

BPA 和 POP 购自百灵威科技有限公司, NP 购自 Alfa Aesar 公司, OP 购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司。乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯(Sigma 公司); 碳酸钠、碳酸氢钠和其他试剂均为分析纯(天津广成化学试剂有限公司); 衍生化试剂 2-[2-(7H-二苯并[a, g] 咪唑-乙氧基)]-乙基氯甲酸酯(DBCEC-Cl, 纯度 99%)为本实验室合成^[15]。水由 Millipore 公司纯水器制备。

1.2 溶液配制与环境水样

分别称取适量的烷基酚标准品并溶解于乙腈中,浓度为 0.01 mol/L,相应低浓度的标准溶液用乙腈稀释而成。取等体积的 4 种酚类单标准溶液(1.0×10^{-4} mol/L)配制混合标准溶液(均为 2.5×10^{-5} mol/L)。称取 34.7 mg DBCEC-Cl 用乙腈定容于 10 mL 容量瓶中,浓度为 0.01 mol/L,相应低浓度的衍生试剂用乙腈稀释而成。

造纸厂废水取自济宁市某造纸厂,湖水取自曲阜师范大学图书馆前的湖中,生活废水取自护城河排水口;水样过 0.45 μm 滤膜待用。自来水为城市自来水厂供应。

1.3 样品前处理方法

吸取 5 mL 环境水样于尖底离心试管中,加入 400 μL 乙腈作为分散剂,70 μL 氯仿作为萃取剂,室温下漩涡振荡萃取 3 min,高速(12 000 r/min)离心 2 min,精确吸取下层有机相 50 μL ,氮吹至干,用乙腈复溶后待衍生化。

传统的液液萃取方法参照文献^[4]进行。

1.4 衍生化方法

安培瓶中加入 200 μL 乙腈、适量的混合标准溶液(或环境水样 DLLME 萃取物,氮吹至干复溶物)、180 μL 衍生试剂(1 mmol/L)和 100 μL 碳酸钠-碳

酸氢钠缓冲液(pH 10.5),封口后涡旋混匀 10 s,于 50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中反应 3 min,加入 10 μL 25%(v/v,下同)甲酸水溶液调节 pH 3~5,过 0.45 μm 滤膜后进样 10 μL 分析。衍生化反应示意图见图 1。

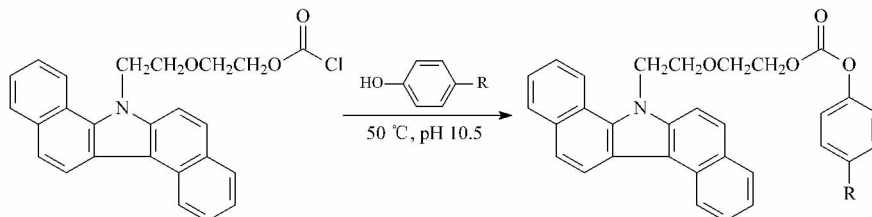


图 1 2-[2-(7H-二苯并[a,g]吡唑-乙氧基)]-乙基氯甲酸酯(DBCEC-Cl)与酚类化合物的衍生化反应
Fig. 1 Derivatization reaction between DBCEC-Cl and phenolic endocrine disruptors

1.5 HPLC 条件

色谱柱: Hypersil BDS C18 柱(200 mm \times 4.6 mm, 5 μm ;大连依利特分析仪器有限公司)。流动相:A 相为 20% 乙腈水溶液(含 0.1% 甲酸), B 相为乙腈(含 0.1% 甲酸)。梯度洗脱程序:0~7 min, 90% B 线性变化到 100% B; 7~12 min, 100% B。流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL ;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$ 。荧光激发波长(λ_{ex})和发射波长(λ_{em})分别为 300 nm 和 395 nm。

2 结果与讨论

2.1 衍生条件的优化

DBCEC-Cl 是典型的碳酰氯类衍生试剂,在适当的碱性水/乙腈溶液中,对酚羟基的衍生速率较快。衍生溶液的 pH 对衍生反应影响非常明显,本文首先考察了该因素。对比 pH 7.0~11.0 之间的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液,发现 pH 为 7.0~8.5 时衍生反应几乎不发生;当 pH 大于 9.0 后,4 种酚衍生物的峰面积随 pH 增大而显著增高,在 pH 10.5 时达到最大值;再增大 pH,其峰面积显著下降。这归因于接近 pH 11.0 的强碱性导致了衍生试剂和衍生物的分解。因此选择在 pH 10.5 的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液中进行衍生化反应。

同时考察了 4 种酚衍生物的峰面积随衍生试剂用量、缓冲液用量、衍生时间、温度的变化规律。对衍生试剂用量的考察结果表明:随衍生试剂用量的增大,衍生物的峰面积逐渐增大,当衍生试剂用量为 4 种酚总的物质的量的 15 倍时衍生物的峰面积最大;进一步增加衍生试剂用量未见峰面积继续增大,因此选用衍生试剂用量为 15 倍于分析物的物质的量(图 2a)。对 pH 10.5 的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液用量的考察结果表明:缓冲溶液超过 100 μL

时,BPA 的峰面积开始下降;缓冲溶液超过 150 μL 时,POP、OP、NP 的峰面积下降明显,可能因为衍生体系含碱性水溶液过多导致竞争性的衍生试剂水解反应加快,因此实验选用 100 μL 缓冲溶液(图 2b)。对衍生时间和温度的考察结果表明:衍生时间 3 min、温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 时衍生物的峰面积最大;继续增加反应时间和提高温度(超过 10 min,超过 50 $^{\circ}\text{C}$),并未见衍生物的峰面积增加,反而会导致一定程度的降低(图 2c 和 2d),可能是由于时间过长、温度过高导致衍生物分解,因此最终选用 3 min、50 $^{\circ}\text{C}$ 作为最佳条件。

2.2 DLLME 条件的优化

本研究的目标是通过 DLLME 和荧光衍生化的有效结合,实现室温下小体积环境水样中 4 种酚类污染物的快速、简便、高效萃取,为环境分析工作提供有效途径。由于在酸性条件下酚类化合物才完全以分子形式存在,有利于有机溶剂萃取,因此本研究用稀盐酸将水样 pH 调至 4.0 再进行萃取。以 HPLC-FLD 测定的峰面积为参照,用同一份加标水样对比优化 DLLME 参数。

在 DLLME 中,萃取剂和分散剂的种类及用量是影响萃取效率的重要因素。对 4 种萃取剂(二氯甲烷、氯仿、四氯化碳和辛醇)和 4 种分散剂(乙腈、甲醇、乙醇和丙酮)分别组合考察。结果发现,氯仿与乙腈组合时,不但能够形成稳定的两相,而且 HPLC 响应值最高,干扰物少,且回收率稳定。因此实验选定氯仿作为萃取剂,乙腈作为分散剂。考察了萃取剂和分散剂的用量,发现萃取剂氯仿用量为 70 μL (图 3a)、分散剂乙腈用量为 400 μL (图 3b)时,萃取效率最高。为建立快速微萃取方法,在上述最佳条件下优化了萃取时间,发现在漩涡混匀器上剧烈振荡 3 min 即可获得最高的 HPLC 响应值。

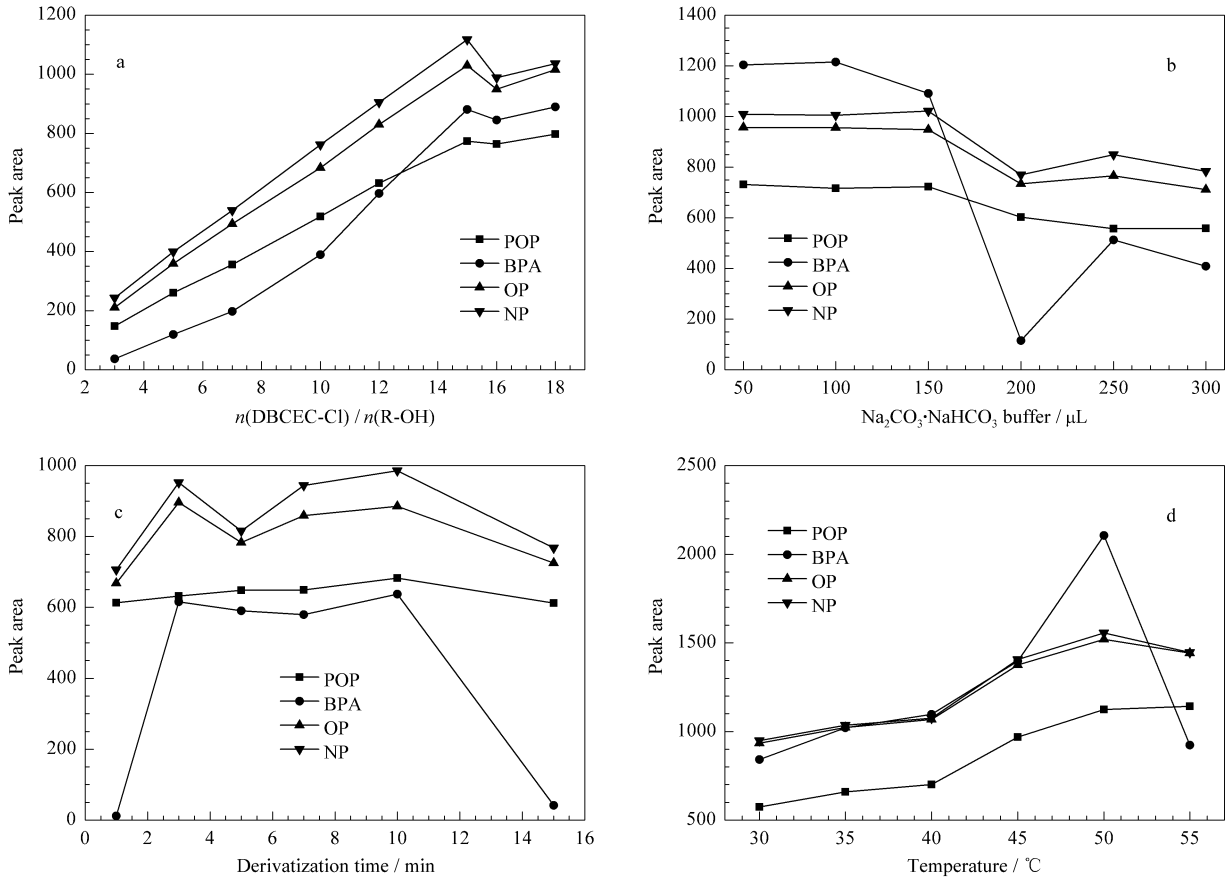


图 2 (a) 衍生试剂用量、(b) $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$ 缓冲液用量、(c) 衍生时间、(d) 衍生温度对 4 种酚衍生物峰面积的影响

Fig. 2 Effects of (a) molar ratio of derivatization reagent, (b) volume of $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$ buffer, (c) derivatization time, (d) derivatization temperature on the peak area of the four phenol derivatives

BPA: bisphenol A; NP: nonylphenol; OP: octylphenol; POP: 4-*tert*-octylphenol. Derivatization reagent; DBCEC-Cl (1 mmol/L); buff-er; 0.1 mol/L $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$ (pH 10.5). Derivatization conditions were optimized using single factor experiments.

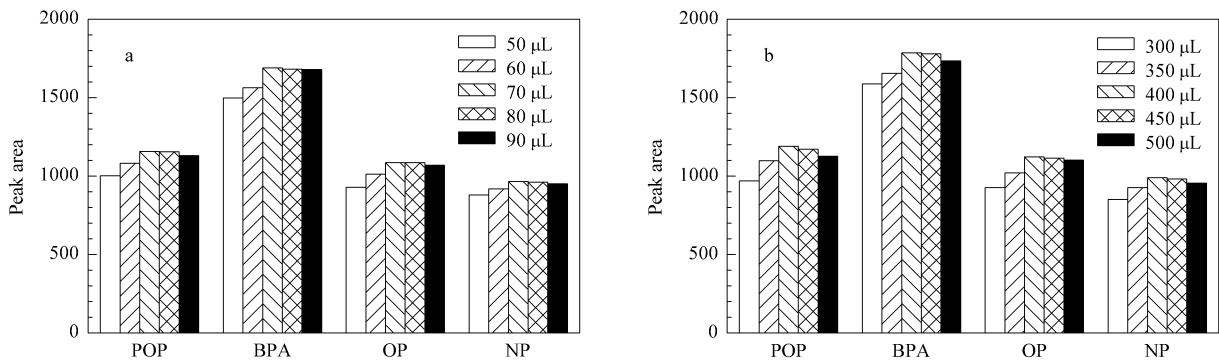


图 3 (a) 萃取剂氯仿用量和 (b) 分散剂乙腈用量对 4 种酚衍生物峰面积的影响

Fig. 3 Effects of (a) volume of extraction solvent chloroform and (b) volume of dispersing solvent acetonitrile on the peak area of the four phenol derivatives

采用上述最优化条件进行一次 DLLME 后, 完全吸取下层有机相, 再对该水样进行一次 DLLME 提取并衍生化后进行 HPLC-FLD 测定, 未见 4 种酚被检出。该结果表明所建立的 DLLME 条件对酚类污染物的萃取率高。

传统的有机溶剂液液萃取法^[4], 操作繁琐、费时、费力, 应用该方法进行提取, 3 次测定的加标回

收率均低于 70%。DLLME 法与其相比, 具有有机溶剂用量少、快速、简便、萃取效率高等优点。

2.3 方法评价

2.3.1 HPLC 条件优化

既要快速分离又要使 4 种酚衍生物有足够的分离度, 以避免环境水样的基质干扰。通过对比不同色谱柱 (Hypersil BDS 和 ODS 不同品牌和规格的

色谱柱)、调整梯度洗脱程序及流动相的 pH 值,最终确定了 1.5 节所述的分离条件。在 10 min 内实现了 4 种酚类衍生物的基线分离, HPLC-FLD 谱图见图 4。由于 DBCEC 荧光发色基团中含有一个弱碱性的氮原子,用 0.1% 甲酸控制流动相的 pH 值能够实现快速洗脱,并且改善分离度和峰形。

采用 Agilent 1100 HPLC-FLD 仪器的在线荧光光谱扫描功能,结合荧光分光光度计扫描,确定 4 种酚衍生物 HPLC 检测的最佳激发和发射波长分别为 300 nm 和 395 nm。

2.3.2 线性回归方程、检出限和定量限

在空白基质中添加标准样品,按照 DLLME 和衍生化方法进行处理,进样量在 20.9 pmol~16.3 fmol 范围内,依据峰面积 Y 和实际进样量 X 进行线性回归,所得各酚衍生物的线性回归方程、相关系数、检出限 ($S/N=3$) 和定量限 ($S/N=10$) 见表 1,可见线性相关系数均不小于 0.997,检出限在 0.9~1.6 ng/L 之间,定量限在 3.8~7.1 ng/L 之间。

表 1 4 种酚衍生物的线性回归方程、相关系数、检出限、定量限与精密度 ($n=6$)

Table 1 Linear regression equations, correlation coefficients (R), LODs, LOQs and precisions of the four phenol derivatives ($n=6$)

Phenol derivative	Linear regression equation	R	LOD/(ng/L)	LOQ/(ng/L)	RSDs/%	
					Retention time	Peak area
POP	$Y=31.02X-4.31$	0.997	1.6	7.1	0.42	1.93
BPA	$Y=47.36X+5.35$	0.999	0.9	3.8	0.30	1.77
OP	$Y=30.27X-5.57$	0.998	1.4	5.7	0.28	1.24
NP	$Y=31.18X-5.23$	0.998	1.6	6.6	0.26	1.31

Y : peak area; X : injection amount, pmol.

2.3.3 稳定性和精密度

取新制备的一份加标环境水样衍生液,分别在室温下放置 0、1、2、4、8、12、24 和 72 h 后进行色谱分析,各时间点 4 种酚衍生物峰面积的 RSD 均小于 4.0%,表明 4 种酚的 DBCEC-Cl 衍生物稳定性良好。

在相同实验条件下,取新制备的一份加标环境

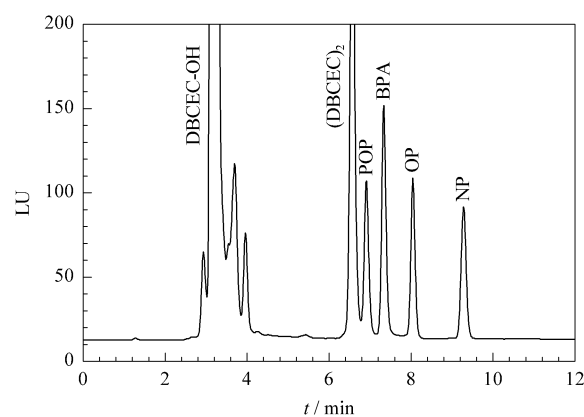


图 4 4 种酚衍生物的 HPLC-FLD 谱图

Fig. 4 Chromatogram of the four standard phenol derivatives with DBCEC-Cl by HPLC-FLD

HPLC-FLD conditions: Hypersil BDS C18 column (200 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); flow rate, 1.0 mL/min; injection volume, 10 μ L; column temperature, 30 $^{\circ}$ C; fluorescence detection, $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ = 300 nm/395 nm.

DBCEC-OH and (DBCEC)₂ were the main decomposition products of derivatization reagent DBCEC-Cl.

水样衍生液,平行 6 次进样分析,保留时间和峰面积的精密度见表 1,结果表明方法的精密度良好。

2.3.4 与文献方法的比较

对比了本研究方法与以往相关研究在检出限、水样体积、分离时间、检测方法、衍生化(或直接检测)等方面的优缺点(见表 2)。在检出限方面,本方法的检出限仅为不经衍生化的直接 HPLC-UV 或

表 2 本研究方法与文献方法的比较

Table 2 Comparison of this method with the reported methods

Method	Derivatization reagent	Temperature/ $^{\circ}$ C	Time/min	Detection wavelength/nm	Separation time/min	Sample volume/mL	LODs/(ng/L)				Ref.
							BPA	OP	NP	POP	
SPE-GC-MS	MSTFA	75	90	—	35	500	1.1	1.2	2.4	—	[5]
SPE-HPLC-FLD	EASC	60	5	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}=262/430$	20	500	0.3	0.5	0.7	—	[6]
DLLME-HPLC-FLD	PNBC	60	30	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}=230/315$	18	7.0	7	—	—	—	[9]
GC-MS	BSTFA	65	20	—	21	100	140	—	30	—	[18]
SPE-HPLC-FLD	—	—	—	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}=228/305$	44	—	1200	—	1900	—	[16]
SPE-DLLME-HPLC-FLD	PNBC	40	25	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}=230/315$	15	210	3.3	—	—	—	[17]
DLLME-HPLC-UV	—	—	—	UV $\lambda_{max}=228$	17	5.0	700	800	1600	—	[10]
DLLME-HPLC-FLD	DBCEC-Cl	50	3	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}=300/395$	12	5.0	0.9	1.4	1.6	1.6	this method

MSTFA: *N*-methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide; EASC: 10-ethyl-acridone-3-sulfonyl chloride; PNBC: *p*-nitrobenzoyl chloride; BSTFA: bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide. —: not reported.

HPLC-FLD 的检出限的几百之一或千分之一^[10,16]；与经 SPE 或 DLLME 的 HPLC-FLD 的检出限相当或为其几分之一，但同时考虑到方法检出限所对应的水样体积^[6,9,17]，本方法具有明显的优势；与 GC-MS 的检出限相当或为其几十分之一^[5,18]。因此本方法具有一定的优势和显著的实用性。这一方面得益于 DLLME 技术，另一方面与本方法所采用的衍生化试剂结构相关。DBCEC-Cl 具有双苯并吡唑结构，分子共轭体系大，摩尔吸光系数 $\epsilon = 5.30 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ ^[15]。另外，DBCEC-Cl 衍生化方法条件温和、快速，HPLC 分离时间短，荧光检测灵敏度

高，检测器便宜，容易普及。总之，DLLME 技术与 DBCEC-Cl 衍生化方法的有益结合，为本方法带来了多方面的优势。

2.4 环境水样分析及回收率测定

采用上述最优化的实验条件，对 4 种环境水样中 4 种酚类化合物进行了含量和加标回收率测定，加标量为 4 种酚混合标准溶液 $10 \mu\text{L}$ （各酚浓度为 $2.5 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ ），平行测定 3 次，取平均值。检测结果（见表 3）显示，工业废水、生活废水中含有一定量的酚类内分泌干扰物。其中加标的生活废水样品的色谱图见图 5。

表 3 4 种环境水样中酚类化合物的含量及加标回收率 ($n=3$)

Table 3 Contents and spiked recoveries of the phenols in four environmental water samples ($n=3$)

Phenol	Waste water of paper mill		Lake water		Domestic wastewater		Tap water	
	Content/(ng/L)	Recovery/%	Content/(ng/L)	Recovery/%	Content/(ng/L)	Recovery/%	Content/(ng/L)	Recovery/%
POP	13.5	87.5	ND	94.2	ND	91.4	ND	102.3
BPA	69.7	94.0	15.1	94.9	20.4	98.3	ND	91.6
OP	41.9	88.3	17.4	101.0	29.4	92.0	6.2	96.2
NP	48.5	97.1	11.5	92.9	22.4	105.6	ND	93.7

ND: not detected.

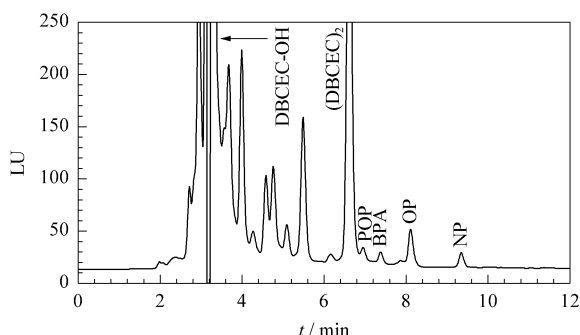


图 5 加标的生活废水中 4 种酚衍生物的色谱图

Fig. 5 Chromatogram of the four phenol derivatives spiked in domestic wastewater sample

Chromatographic conditions are the same as in Fig. 4.

3 结论

利用 DLLME 技术与高灵敏荧光衍生化相结合的策略，建立了 4 种酚类污染物的 HPLC-FLD 测定方法。该方法具有操作简便、高灵敏、快速、准确、环境友好等特点，且具有一定的实用性。检测结果显示，工业废水、生活废水中含有一定量的酚类内分泌干扰物，需进行水处理和监控，以减少对生态系统和饮用水的污染。

参考文献：

[1] Asimakopoulos A G, Thomaidis N S, Koupparis M A. *Toxicol Lett*, 2012, 210(2): 141
 [2] Wang J C, Xiong L, Zhang H J, et al. *Chinese Journal of Chromatography* (王金成, 熊力, 张海军, 等. 色谱), 2011, 29(12): 1160
 [3] Xiao J, Shao B, Wu X Y, et al. *Biomed Environ Sci*, 2011, 24

(1): 40
 [4] Sun X W, Zhang Y B, Lin H, et al. *Chinese Journal of Analytical Science* (孙秀武, 张元标, 林辉, 等. 分析科学学报), 2013, 29(2): 149
 [5] Liao T, Wu X C, Wang S H, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (廖涛, 吴晓翠, 王少华, 等. 分析化学), 2013, 41(3): 422
 [6] Zhang S J, You J M, Sun Z W, et al. *Microchem J*, 2012, 103: 90
 [7] Rezaee M, Assadi Y, Hosseini M M, et al. *J Chromatogr A*, 2006, 1116: 1
 [8] Ma Y L, Chen L X, Ding Y J, et al. *Chinese Journal of Chromatography* (马燕玲, 陈令新, 丁养军, 等. 色谱), 2013, 31(2): 155
 [9] Li Y, Liu J L, Jian Y H. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (李鱼, 刘建林, 翦英红. 分析化学), 2009, 37(10): 1484
 [10] López-Darias J, Germán-Hernández M, Pino V, et al. *Talanta*, 2010, 80(5): 1611
 [11] Huang S C, Hang Y P. *Chinese Journal of Chromatography* (黄少婵, 杭义萍. 色谱), 2010, 28(9): 863
 [12] Dong Y L, Chen X J, Hu J, et al. *Chinese Journal of Chromatography* (董亚蕾, 陈晓姣, 胡敬, 等. 色谱), 2012, 30(11): 1117
 [13] Escrig-Doménech A, Simó-Alfonso E F, Herrero-Martínez J M, et al. *J Chromatogr A*, 2013, 1296: 140
 [14] Nuhu A A, Basheer C, Saad B. *J Chromatogr B*, 2011, 879: 1180
 [15] Yan T, Sun X J, Zhao H X, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (闫涛, 孙学军, 赵怀鑫, 等. 分析化学), 2009, 37(6): 788
 [16] Wang X D, Zhao X H, Zhang X B. *Chinese Journal of Analysis Laboratory* (王晓东, 赵新华, 张新波, 等. 分析实验室), 2006, 25(9): 27
 [17] Li Y, Liu J L, Zhang C. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (李鱼, 刘建林, 张琛, 等. 分析化学), 2012, 40(1): 107
 [18] Gatidou G, Thomaidis N S, Stasinakis A S, et al. *J Chromatogr A*, 2007, 1138: 32