

# 土壤和沉积物中 22 种苯胺类化合物的测定——液相色谱法

钟福生, 廖福然, 舒金科

(重庆新天地环境检测技术有限公司, 重庆 401122)

**摘要** 本研究采用超声波萃取方式高效分离土壤或沉积物中的 22 种苯胺类化合物。利用 C18 固相萃取小柱优化样品的提取、净化与浓缩技术。用液相色谱法分离、紫外检测器测定，并根据保留时间定性检测，用外标法定量分析。该方法检出限范围控制在 0.02 至 0.06mg/kg 之间，平均加标回收率范围为 68.8% 至 117%，相对标准偏差在 3.9% 至 18.9% 之间，具有高灵敏度和精确性，对环境中苯胺类化合物高效监测具有一定的指导意义。

**关键词** 苯胺类; 液相色谱法; 超声; 沉积物

中图分类号:TQ2

文献标识码:A

文章编号:1007-0745(2023)09-0061-03

苯胺类化合物是具有高毒性的化工原料和中间产品，能通过多种形式进入人体，包括接触、吸入等，会对人体神经和心血管系统造成不可修复的伤害。由于苯胺类化合物溶于水，很容易在工业废水中残留并排放进土壤环境中<sup>[1]</sup>。土壤中的微生物很难降解苯胺类化合物，经年累月，该化合物在土壤中富集，破坏土壤结构，给环境带来不可逆转的污染伤害。因此学界一直在探索完善苯胺类化合物的测定方法。

目前，苯胺类化合物的各种测定方法研究介质截然不同，针对土壤和沉积物中苯胺类的测定方法仍然相对稀缺<sup>[2]</sup>。最新的液相色谱-三重四极杆质谱法(HJ1210-2021)标准只能测 15 种苯胺类化合物，且所用仪器价格昂贵，检测成本高，远远不能满足实际检测需求<sup>[3]</sup>。因此，需要探索更加便捷有效的多种苯胺类测定液相色谱法。本研究旨在拓展土壤和沉积物中苯胺类化合物定性、定量检测类型的数量范围<sup>[4]</sup>。通过优化提取和净化的方法，提高样品前处理质量。通过改善液相色谱法分离条件，进行质量控制与保证技术研究来确定 22 种苯胺类化合物检测分析方法的相关参数并进行方法验证。

## 1 实验过程

### 1.1 准备仪器与试剂

本研究所用主要仪器有 KQ-500DV 型超声波清洗器(昆山)、H/T16MM 型离心机(湖南赫西)、EF-AA-DL24-RF 氮吹仪(上海安普)、1260 II 液相色谱仪(安捷伦)。

主要试剂有二氯甲烷、正己烷、丙酮、甲醇、甲酸、氨水、三氯乙酸、五水合硫代硫酸钠等。除了五水合硫代硫酸钠为分析纯，其余试剂均为色谱纯。

### 1.2 色谱条件

本研究选用优化后的色谱柱: AgiLent ZORBAX SB-C18 (4.6mm×50mm×1.8 μm)。该色谱柱适用于高水溶性的弱碱性物质，分析结果显示图谱峰形对称，响应迅速且强烈，说明能较好地分离化合物。

流动相的 pH 值是影响化合物保留时间的重要因素之一，因此选择的流动相在整个梯度洗脱过程中 pH 值要恒定<sup>[5]</sup>。相比于乙腈，甲醇和 0.01% 甲酸溶液的响应值更强。最终的流动相为：甲醇纯试剂溶液，甲酸水溶液 1+10000。

适当的流速控制是影响图谱分析的关键因素。流速太快时，离子化效率会降低；如果流速太慢，则分析时间长，容易出现拖尾问题。经过多次测试，将最佳流速限定在 0.5 至 1.2mL/min 之间。反复比较后确定当流速为 1.0mL/min 时，4- 甲基苯胺、3- 甲基苯胺和 2- 甲基苯胺能有效分离。此时最适宜的柱温为 35℃，紫外波长为 234nm。

梯度洗脱程序见表 1。

### 1.3 样品前处理

本实验所用土壤、水体和海洋沉积物样品的采集分别按照 HJ/T 166、HJ494 和 GB 17378.3 的相关要求进行。将样品脱水冻干研磨至 0.25mm 的颗粒，放置在清洗洁净的聚四氟乙烯棕色玻璃瓶中冷冻保存，并将

表1 梯度洗脱程序

时间(min)	A(%)	B(%)
0.00	32	68
10.00	40	60
20.00	80	20
25.00	80	20
26.00	32	68
30.00	32	68

温度控制在-18℃。

样品提取：称取2g冻干样品至离心管中，加入1g五水合硫酸钠，依次加入10.00mL正己烷-丙酮混合溶剂和100μL氨水，密封旋涡混匀。25℃以下冰浴超声提取30min，6000r/min离心10min，取上清液经0.22μm针式滤器过滤。

样品净化：分别用5mL二氯甲烷和5mL甲醇冲洗、平衡C18固相萃取小柱。溶剂填满小柱后可关闭流速控制阀，使小柱得到充分浸润。5min后缓慢打开控制阀。在此期间将2.00mL过滤后的样品提取液转入柱内，保证移取工作在溶剂流干前完成。废弃多余的流出液后关闭控制阀。最后加入5mL甲醇。等待5min后打开控制阀收集洗脱液。

样品浓缩：将净化后的洗脱液氮吹浓缩至不少于0.8mL，用甲醇定容至1mL。

样品制备：将750μL新鲜去离子水加入250μL浓缩后的净化洗脱液中，并使两者混合均匀。再用0.22μm针式滤器过滤。

## 2 实验结果

### 2.1 标准曲线

由低到高依次配制至少5个浓度点的标准系列，甲醇比例为25%。该方法在0.05~5mg/L范围内正相关线性拟合趋势较好，拟合优度R值均大于99.9%。

### 2.2 标准色谱出峰顺序

出峰顺序：(1) 苯胺；(2) 对硝基苯胺；(3) 联苯胺；(4) 3-硝基苯胺；(5) 2-甲氨基苯胺；(6) 2-甲基苯胺；(7) 3-甲基苯胺；(8) 对甲基苯胺；(9) 对氯苯胺；(10) 4-溴苯胺；(11) 2,6-二甲基苯胺；(12) 2,6-二甲基苯胺；(13) 2-萘胺；(14) 2,4-二甲基苯胺；(15) 6-氯-2,4-二硝基苯胺；(16) 2-溴-6-氯-4-硝基苯胺；(17) 邻硝基对氯苯胺；(18) 3,3-二氯联苯胺；(19) 2-溴-4,6-二硝基苯胺；(20) 2,

6-二溴-4-硝基苯胺；(21) N-亚硝基二苯胺；(22) 2,4,6-三氯苯胺。

### 2.3 检出限与测定下限

采用外标定量模式，分别计算实验室内检出限与测定下限。选择空白石英砂样品进行加标实验。目标化合物和不同土质会产生差异化的基质效应，因此要采用不同等级的异质性加标浓度。空白石英砂的加标浓度为0.125mg/kg、0.75mg/kg、1.25mg/kg，进行7次平行测定。称取空白石英砂2g共7份至离心管中，加入适量的浓度为5.0mg/L苯胺类混合标准使用液。其余按照样品预处理的步骤进行平行测定。依据公式MDL=t(n-1099)×S可知，当置信度为99%，平行测定7个样品时，t(6099)=3.143。测定下限为4倍检出限。

得到的检出限中，13种化合物的测定均值在3~5倍计算出的方法检出限的范围内，其余9种化合物的测定均值在1~10倍计算出的方法检出限的范围内。本实验室的方法检出限的确定方法与结果满足HJ168-2020技术准则的要求。

### 2.4 精密度

相关精密度与准确度测试数据结果表示，采用空白加标的方式，各添加浓度样品的相对标准偏差范围控制在3.9%至18.9%，具有良好的精密度与准确度。平均加标回收率在68.8%至117%之间波动，回收效果良好。

### 2.5 实际样本准确度与加标回收率

选择土壤和沉积物实际样品进行加标实验。以0.125mg/kg的加标浓度进行7次平行测定。结果显示，土壤和沉积物样品的平均加标回收率在72.0%~104%之间，相对标准偏差在5.3%~16.3%之间，具有良好的准确度与回收率。

## 3 结论

本研究成功建立了一种能同时测定土壤和沉积物中22种苯胺类化合物的液相色谱方法，创新点有两方

表 2 土壤和沉积物加标 0.125mg/kg 的准确度与回收率

化合物名称	土壤			沉积物		
	平均值 (mg/kg)	相对标准偏差 RSD(%)	回收率 P(%)	平均值 (mg/kg)	相对标准偏差 RSD(%)	回收率 P(%)
苯胺	0.10	9.8	80.0	0.10	6.9	80.0
对硝基苯胺	0.10	9.5	80.0	0.10	9.0	80.0
联苯胺	0.11	8.9	88.0	0.11	8.9	88.0
3- 硝基苯胺	0.10	11.3	80.0	0.10	9.0	80.0
2- 甲氧基苯胺	0.09	9.1	72.0	0.09	10.0	72.0
2- 甲基苯胺	0.09	7.7	72.0	0.10	9.8	80.0
3- 甲基苯胺	0.10	5.3	80.0	0.11	8.9	88.0
对甲基苯胺	0.11	6.3	88.0	0.11	8.9	88.0
对氯苯胺	0.09	13.9	72.0	0.09	10.9	72.0
3- 氯苯胺	0.12	9.4	96.0	0.13	7.3	104
4- 溴苯胺	0.10	13.8	80.0	0.10	13.5	80.0
2, 6- 二甲基苯胺	0.10	15.1	80.0	0.11	12.3	88.0
2- 萘胺	0.10	7.6	80.0	0.10	13.8	80.0
2, 4- 二甲基苯胺	0.10	11.1	80.0	0.11	11.5	88.0
6- 氯 -2, 4- 二硝基苯胺	0.11	5.3	88.0	0.11	8.2	88.0
2- 溴 -6- 氯 -4- 硝基苯胺	0.11	10.1	88.0	0.11	13.9	88.0
邻硝基对氯苯胺	0.10	12.1	80.0	0.11	8.9	88.0
3, 3- 二氯联苯胺	0.12	16.3	96.0	0.12	14.8	96.0
2- 溴 -4, 6- 二硝基苯胺	0.11	16.1	88.0	0.11	10.1	88.0
2, 6- 二溴 -4- 硝基苯胺	0.13	9.3	104	0.13	6.3	104
N- 亚硝基二苯胺	0.09	13.4	72.0	0.12	6.3	96.0
2, 4, 6- 三氯苯胺	0.13	10.6	104	0.12	8.2	96.0

面。第一，成功利用超声萃取方法高效分离了 22 种苯胺类化合物，在前处理抗干扰关键环节取得突破。采用正己烷：丙酮（1:1）萃取溶剂，C18 固相萃取小柱净化，用甲醇溶液洗脱，氮吹浓缩定容。第二，成功完成 22 种苯胺类化合物的方法验证。利用高效液相色谱色谱仪分离测定，外标法定量，检出限范围在 0.02~0.06mg/kg，平均加标回收率在 68.8%~117% 之间，相对标准偏差在 3.9%~18.9% 之间，结果的准确与精密度均达到了各项技术标准要求。本研究成果具有一定推广普及意义，利于土壤和沉积物中苯胺类化合物监测的全面实施。

#### 参考文献：

- [1] 牛静琪, 张雪松, 刘悦含, 等. 高效液相色谱法测定水果中 21 种多酚物质 [J]. 卫生研究, 2023, 52(03):474-482.
- [2] 董子豪. 高效液相色谱法测定 PTA 循环水中微量乙酸含量 [J]. 聚酯工业, 2023, 36(03):20-22.
- [3] 毕建玲, 郝杰, 孙鹏飞, 等. 气相色谱质谱法测定土壤中 13 种苯胺类化合物 [J]. 山东化工, 2022, 51(09):104-107.
- [4] 陈平钦. 土壤和沉积物中 5 种苯胺类化合物的测定——超高效液相色谱 - 串联质谱法 [J]. 福建分析测试, 2020, 29(01):31-35.
- [5] 马亚娟, 邵旭. 土壤和沉积物中 3,3'- 二氯联苯胺的测定研究 [J]. 环境科学与管理, 2022, 47(06):149-152.