

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^[1]。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^[2]。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^[3]。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^[4]。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^[5]。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°C 。

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

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

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-甲氧基苯胺；(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 $\text{MDL} = t(n-1099) \times S$ 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 0.125 mg/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,结果的准确与精密性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.