

实验技术与方法

固相萃取-高效液相色谱法双检测器同时测定水中莠去津和苯并(a)芘

雍宗锋,徐晋然,张以春

(江苏省宿迁市疾病预防控制中心,江苏 宿迁 223800)

摘要:目的 建立固相萃取-高效液相色谱法双检测器同时测定水中莠去津和苯并(a)芘分析方法。方法 用大体积固相萃取柱富集莠去津和苯并(a)芘,二氯甲烷洗脱,使用 Eclipse XDB-C₁₈分析柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),采用乙腈-水体系作为流动相,梯度洗脱,二极管阵列检测器(DAD)和荧光检测器(FLD)检测。结果 方法线性范围莠去津和苯并(a)芘分别为 50 ~ 800 μg/L、5.19 ~ 83.04 μg/L, r 均 > 0.999;方法检出限分别为 0.01、0.000 5 μg/L;定量限为 0.03、0.001 5 μg/L;莠去津和苯并(a)芘在水中平均回收率分别为 88.9% 和 90.4%;RSD 均 < 6.8%。结论 该方法准确灵敏、精密度好,适用于水样中莠去津和苯并(a)芘测定。

关键词:高效液相色谱;固相萃取;水;双检测器;莠去津;苯并(a)芘;食品安全

中图分类号:R155.5;S482.4;O657.7 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)01-0038-03

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.01.010

Simultaneous determination of atrazine and benzo(a) pyrene in water by solid phase extraction-high performance liquid chromatography with double detector

YONG Zong-feng, XU Jin-ran, ZHANG Yi-chun

(Suqian Centers for Disease Control and Prevention, Jiangsu Suqian 223800, China)

Abstract: Objective Establish a solid phase extraction-high performance liquid chromatography (HPLC) analysis method with double detector to simultaneously determine atrazine and benzo(a) pyrene in water. **Methods** Atrazine and benzo(a) pyrene. In was enriched by large volume solid-phase extraction column and eluted by methylene chloride. Gradient elution was performed on Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) analytical column with acetonitrile-water as mobile phase. The products were then determined by diode array detector (DAD) and fluorescence detector (FLD). **Results** The linear range of the method of atrazine and benzo(a) pyrene was 50-800 μg/L and 5.19-83.04 μg/L, respectively. The correlation coefficients (r) were both over 0.999. The limits of detection were 0.01 and 0.000 5 μg/L, the limits of quantification were 0.03 and 0.001 5 μg/L, and the average recoveries of atrazine and benzo(a) pyrene in water were 88.9% and 90.4%, respectively. The relative standard deviation was less than 6.8%. **Conclusion** This method was accurate, sensitive and applicable for determining atrazine and benzo(a) pyrene in water samples.

Key words: High performance liquid chromatography; solid phase extraction; water; double detector; atrazine; benzo(a) pyrene; food safety

莠去津是一种三嗪类除草剂,使用广泛,在自然界中不易分解。在低浓度长期暴露下会引起生物荷尔蒙失调,进而使动物在遗传组成方面发育成错误性别^[1]。苯并(a)芘属于多环芳烃,是一种强致癌物^[2],主要来源于煤、石油等燃烧,地表水中苯并(a)芘主要来源于工业排污和雨水。

目前针对水中莠去津、苯并(a)芘检测方法有很多^[3-10],所用仪器方法有气相色谱串联质谱法、高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱串联质谱法,均是莠去津、苯并(a)芘分开单独处理检测,

费时费力。本试验建立了一种结合固相萃取前处理技术的高效液相色谱双检测器分析方法,将二极管阵列检测器(DAD)和荧光检测器(FLD)串联。样品通过 C₁₈固相萃取柱富集,一次进样分析,同时检测莠去津、苯并(a)芘。DAD和FLD联用具有较强定性能力。重现性好,灵敏度高,可应用于水中莠去津、苯并(a)芘监测。

1 材料与amp;方法

1.1 主要仪器与试剂

1100 高效液相色谱仪[包括二元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列(DAD)检测器、1260 荧光(FLD)检测器,美国 Agilent]、SPE-D6 大体积水处理

收稿日期:2013-09-25

作者简介:雍宗锋 男 副主任技师 研究方向为卫生理化检验

E-mail:sqcdc@qq.com

固相萃取装置(天津博纳艾杰尔科技)、氮吹仪。

乙腈、甲醇、二氯甲烷(均为色谱纯),Cleanert LDC AQ C₁₈大体积水处理柱(天津博纳艾杰尔科技)。莠去津标准品(201306,100 μg/ml,溶剂为丙酮,农业部环境保护科研监测所),苯并(a)芘标准品(12001,5.19 μg/ml,溶剂为甲醇,中国计量科学研究院),其他试剂为优级纯,试验用水为高纯水。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液配制

将莠去津标准用乙腈分别配制成浓度50、100、200、400、800 μg/L;苯并(a)芘标准用乙腈分别配制成浓度5.19、10.38、20.76、41.52、83.04 μg/L的工作溶液,现配现用。

1.2.2 样品处理

C₁₈固相萃取柱依次用5 ml二氯甲烷、10 ml甲醇、10 ml水活化,在活化过程中不能让柱干涸。取1 L水加入到大体积水处理固相萃取装置中富集,控制水样流速为50 ml/min,富集完毕后,真空抽滤10 min。用10 ml二氯甲烷分2次洗脱,洗脱液用无水硫酸钠干燥后,于45℃氮吹浓缩至近干,加入2 ml乙腈氮吹近干,用乙腈定容至1 ml,过0.22 μg/L微孔滤膜进色谱分析。

1.2.3 仪器条件

Eclipse XDB-C₁₈色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相梯度见表1,柱温35℃,DAD和FLD检测器波长分别为254和303 nm,发射波长为425 nm,进样体积10 μl。

表1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

时间/min	乙腈/%	水/%	流速/(ml/min)
0.0	80	20	0.8
3.5	80	20	0.8
3.6	90	10	1.8
8.5	90	10	1.8

2 结果与分析

2.1 固相萃取条件优化

莠去津和苯并(a)芘在水中含量非常低,通过对不同萃取装置及萃取柱比较,发现SPE-D6大体积水处理固相萃取装置及配套的大体积萃取柱对大体积、大批量水样富集提取比较合适。活化萃取柱可以将萃取装置阀门关闭,使溶剂浸泡活化萃取柱1 min。水样全部通过萃取柱后,抽真空干燥萃取柱,10 min基本达到干燥萃取柱目的。二氯甲烷加入固相萃取柱洗脱目标物,将阀门关闭浸泡萃取柱1、5、10 min,发现浸泡10 min二氯甲烷损失很大,浸泡5 min和浸

泡1 min加标回收率基本相同,结果见表2。故从分析时间考虑选择浸泡1 min。

表2 浸泡时间回收率(n=5)

Table 2 Soak time recoveries

样品	本底值 /(μg/L)	加标值 /(μg/L)	实测值 /(μg/L)	平均回收率/%	
				1 min	5 min
莠去津	—	50.00	42.7~45.7	88.3	88.6
苯并(a)芘	—	5.19	4.5~4.8	89.7	89.3

注:—表示未检出

2.2 色谱分析条件的选择

通过二极管阵列检测器对莠去津标准样品进行全波扫描,发现在波长220、254 nm处均有较大吸收,考虑到短波长处容易产生干扰,采用254 nm波长作为检测波长。通过荧光检测器对苯并(a)芘标准样品波长扫描和样品试验,选择激发波长303 nm,发射波长425 nm,此条件下灵敏度高,色谱杂峰少。

根据参考文献[3-5,8-10]选择乙腈-水为流动相,通过改变乙腈和水的配比及流动相流速,考察莠去津在DAD出峰时间和苯并(a)芘在FLD出峰时间,经过反复试验最终确定以表1为洗脱方式。莠去津标准溶液在DAD出峰时间为2.077 min,苯并(a)芘标准溶液FLD出峰时间为6.959 min。同时莠去津在FLD,苯并(a)芘在DAD上的对应时间有响应,可以做为定性依据。

2.3 标准曲线及检出限

进样10 μl,以质量浓度(ng/ml)为横坐标(x),以峰面积为纵坐标(y),校正得到莠去津、苯并(a)芘的线性回归方程,莠去津: $y = 1.00717x + 3.91738$, $r = 0.9999$;苯并(a)芘: $y = 0.275779x + 0.303293$, $r = 0.9998$ 。结果表明,莠去津在50~800 μg/L、苯并(a)芘在5.19~83.04 μg/L范围内线性良好。以空白样品基线信噪比(S/N)≥3为检出限,当取样体积在1 L时,莠去津、苯并(a)芘的方法检出限为0.01、0.0005 μg/L,定量限为0.03、0.0015 μg/L。莠去津和苯并(a)芘标准溶液色谱图见图1。

2.4 精密度与准确度试验

分别取1 L水样,配制成莠去津为100、500 ng/L,苯并(a)芘为10.38、51.9 ng/L的加标样,每样6份,按照1.2.2进行样品处理,结果见表3。莠去津和苯并(a)芘的平均回收率分别为88.9%和90.4%,RSD均<6.8%,均具有较好的准确度和精密度。水样加标色谱图见图2。

2.5 实际样品测定

采用本试验方法对宿迁市31家市区、农村水厂进行莠去津、苯并(a)芘检测,均未检出莠去津、苯并(a)芘残留。某农村水厂水样色谱图见图3。

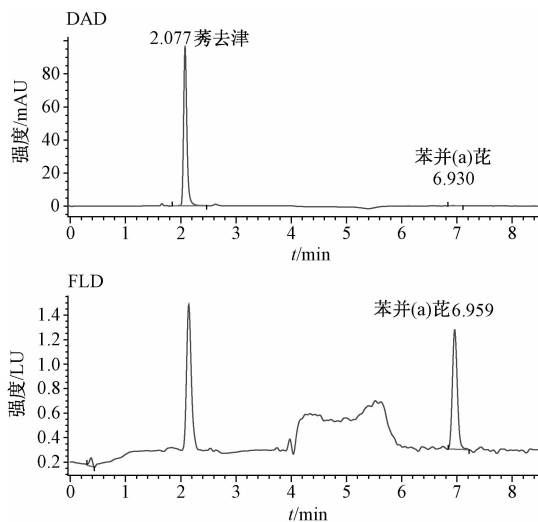


图1 莠去津和苯并(a)芘标准溶液色谱图(200和20.76 μg/L)

Figure 1 Chromatogram of standard solution of atrazine and benzo(a) pyrene

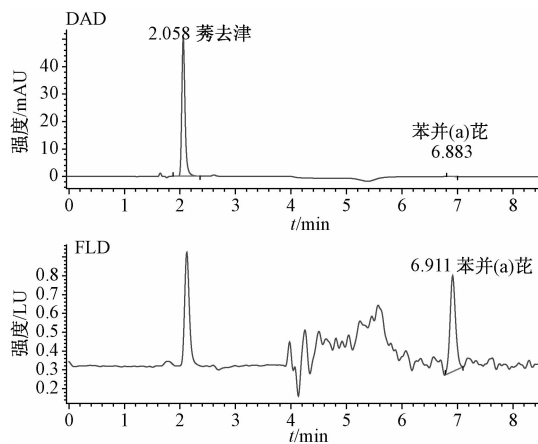
图2 莠去津和苯并(a)芘水样加标色谱图
(100和10.38 μg/L)

Figure 2 Chromatogram of water spiked with the atrazine and benzo(a) pyrene

表3 莠去津和苯并(a)芘的加标回收率和RSD(n=6)

Table 3 Spiked recoveries and RSDs of the atrazine and benzo(a) pyrene

样品浓度 /(ng/L)	莠去津					苯并(a)芘				
	本底值 /(μg/L)	加标值 /(ng/L)	实测值 /(ng/L)	平均回收率 /%	RSD /%	本底值 /(μg/L)	加标值 /(ng/L)	实测值 /(ng/L)	平均回收率 /%	RSD /%
低浓度	—	100	85.4~91.5	89.6	6.8	—	10.38	9.2~9.7	89.5	5.5
高浓度	—	500	434.5~461.5	88.2	5.4	—	51.9	45.2~47.3	91.2	5.2

注:—表示未检出

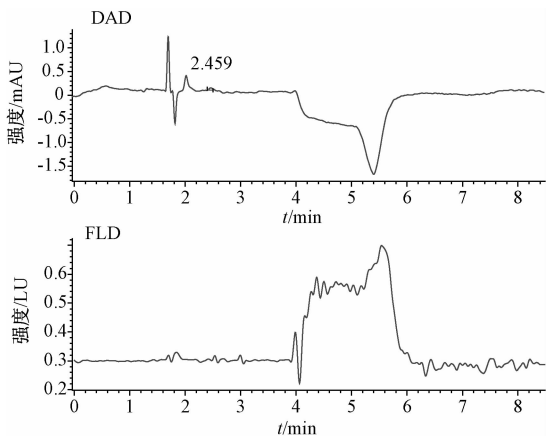


图3 莠去津和苯并(a)芘水样色谱图

Figure 3 Chromatogram of water

3 小结

本试验将大体积固相萃取技术和高效液相色谱法双检测器相结合,建立了一种同时检测水中莠去津和苯并(a)芘的方法。该方法将DAD和FLD串联同时测定莠去津和苯并(a)芘。大体积固相萃取装置使前处理更为快捷、方便。该法准确度高、精密度好,检出限满足GB/T 5749—2006《生活饮用水卫生标准》^[11]要求,可作为日常水质分析中莠去津和苯并(a)芘含量测定方法。

参考文献

- [1] Van Leeuwen J A, Walnter-Toews D, Abernathy T. Associations between stomach cancer incidence and drinking water contamination with atrazine and nitrate in Ontario (Canada) agroecosystems, 1987 - 1991 [J]. International Journal of Epidemiology, 1999, 28(5): 836.
- [2] 刘征涛. 环境安全与健康[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 212-213.
- [3] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5750—2006 生活饮用水标准检验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [4] 陈砚滕, 钟淑婷, 甘凤娟, 等. 超高效液相色谱-串联质谱分析生活饮用水中莠去津和灭草松[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(4): 590-592, 625.
- [5] 李竺, 陈玲, 郝洪文, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定环境水样中的三嗪类化合物[J]. 色谱, 2006, 24(3): 267-270.
- [6] 李如华, 韩振泰, 刘慧文. 除草剂阿特拉津气质联用色谱的测定[J]. 现代科学仪器, 2009(3): 64-65.
- [7] 陈慧, 黄要红, 蔡铁云. 固相萃取-气相色谱-质谱法测定水中多环芳烃[J]. 环境污染与防治, 2004(1): 72-74.
- [8] 陈剑刚, 刘中青. 固相萃取-高效液相色谱法测定水源水中16种多环芳烃[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 11(18): 2206-2208.
- [9] 陶敬奇, 王超英, 李碧芳, 等. 固相微萃取-高效液相色谱联用分析环境水样中的痕量多环芳烃[J]. 色谱, 2003, 11(6): 599-602.
- [10] 环境保护部. HJ 478—2009 水质多环芳烃的测定 液液萃取和固相萃取高效液相色谱法[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- [11] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5749—2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.