固相萃取-高效液相色谱法测定地表水中的苯并三唑和苯并噻唑

王金成¹, 熊力², 张海军¹, 王龙星¹, 金静¹, 陈吉平^{1*}

(1. 中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023; 2. 大连工业大学, 辽宁 大连 116034)

摘要:建立了固相萃取-高效液相色谱分析地表水中苯并噻唑、苯并三唑、5-甲基-苯并三唑、5-氯-苯并三唑及 5,6-二甲基-苯并三唑的方法。地表水样品采用 HLB 固相萃取柱富集净化后,在甲醇-水(55:45, v/v)流动相中用 ZORB-AX SB-C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)分离,紫外检测,外标法定量。结果表明,5 种目标化合物在 0.064 ~ 80 mg/L 范围内均呈良好的线性关系,线性相关系数均大于 0.999 9,仪器检出限为 1.9 ~ 3.2 μg/L。空白自来水样中的加标回收率为 87.8% ~ 125.6%,相对标准偏差($n=3$)为 0.4% ~ 9.4%。应用该方法测定了大连自来水及辽河入海口水样,在辽河入海口地表水中检出苯并噻唑、苯并三唑、5-甲基-苯并三唑、5-氯-苯并三唑。

关键词:固相萃取;高效液相色谱法;苯并三唑;衍生物;苯并噻唑;地表水

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1000-8713(2013)02-0139-04

Simultaneous determination of benzotriazoles and benzothiazole in surface water by solid phase extraction and high performance liquid chromatography

WANG Jincheng¹, XIONG Li², ZHANG Haijun¹, WANG Longxing¹, JIN Jing¹, CHEN Jiping^{1*}

(1. Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China;

2. Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: A simple method based on solid phase extraction (SPE) coupled with high performance liquid chromatography (HPLC) was developed for the determination of 1*H*-benzotriazole (BT), 5-methyl-1*H*-benzotriazole (5-M-BT), 5,6-dimethyl-1*H*-benzotriazole (5,6-DM-BT), 5-chloro-1*H*-benzotriazole (5-Cl-BT) and benzothiazole (BTH) in surface water. The extraction and clean-up of the surface water sample were performed on an HLB solid-phase extraction cartridge. The separation of the five compounds was achieved on a ZORBAX SB-C18 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with methanol-water (55:45, v/v) as mobile phase and ultraviolet detection. The quantification was achieved by external standard method. The results showed that good linearities were observed in the ranges of 0.064 – 80 mg/L with the correlation coefficients ≥ 0.9999 and the instrumental limits of detection for the five target compounds were in the range of 1.9 – 3.2 μg/L. The average recoveries of the five target compounds were 87.8% – 125.6% and the relative standard deviations ($n=3$) were 0.4% – 9.4%. This method was applied to the analysis of the surface water samples from the Dalian tap water and the Liaohe River estuary. The results showed that BT, 5-M-BT, 5-Cl-BT and BTH were found in the water from the Liaohe River estuary.

Key words: solid phase extraction (SPE); high performance liquid chromatography (HPLC); benzotriazoles; derivatives; benzothiazole; surface water

苯并三唑和苯并噻唑是工业生产和家庭生活中广泛使用的高产量的化工产品。苯并三唑及其甲基

衍生物对金属具有防腐缓蚀作用,被广泛用于飞机除冰剂、发动机防冻剂、机动车制动液、金属切割液

* 通讯联系人. Tel: (0411)84379562, E-mail: chenjp@dicp.ac.cn.

基金项目:国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(2009CB421602).

收稿日期:2012-09-19

及工业循环冷却水系统^[1-3];苯并噻唑常用于橡胶工业生产过程中的促进剂^[4],另外也广泛用于防腐剂^[5]及化工中间体^[6]等。

由于苯并三唑和苯并噻唑类化合物为水溶性,且生物降解性及吸附能力均较差,因此经过废水处理厂处理后的工业和生活废水中只有少部分苯并三唑和苯并噻唑类化合物被处理掉,大多数被排放到江河湖海中^[7-9]。目前有关这类化合物的毒性报道还很少,但有研究表明苯并三唑类化合物对水生物有一定的毒性,而且有生物累积作用^[2]。也有证据表明苯并三唑可能对人类有致癌作用^[10]。美国环境保护署已连续多年将苯并三唑列为新兴污染物^[11-13]。澳大利亚政府规定饮用水中苯并三唑的质量浓度不能超过 7 ng/L^[14]。因此测定环境水中苯并三唑和苯并噻唑类化合物的浓度,对研究这一类化合物的毒性及迁移转化规律有一定的意义。

目前测定苯并三唑和苯并噻唑类化合物的方法有气相色谱-质谱法^[15,16]、液相色谱-质谱法^[6,8]及液相色谱-串联质谱法^[7,17-20]等。国内有关环境中这两类化合物的测定尚未见报道。本研究采用固相萃取-高效液相色谱法测定地表水中苯并三唑和苯并噻唑类化合物,并进行了方法学评价。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)。苯并三唑(1*H*-benzotriazole, BT)、5-甲基苯并三唑(5-methyl-1*H*-benzotriazole, 5-M-BT)、5,6-二甲基苯并三唑(5,6-dimethyl-1*H*-benzotriazole, 5,6-DM-BT)购于 ACROS ORGANICS, 5-氯-苯并三唑(5-chloro-1*H*-benzotriazole, 5-Cl-BT)购于日本东京化成工业株式会社,苯并噻唑(benzothiazole, BTH)购于百灵威化学试剂有限公司,以上试剂纯度均大于 98%。甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);盐酸及氢氧化钠为分析纯;实验用水为经 Milli-Q 净化系统(Millipore 公司)制备的去离子水。固相萃取柱 C18、PS、PEP(500 mg/6 mL,天津博纳艾杰尔科技公司),HLB(500 mg/6 mL,美国 Waters 公司)。

1.2 标准溶液的配制

准确称取苯并三唑、5-甲基苯并三唑、5,6-二甲基苯并三唑、5-氯-苯并三唑各 20.0 mg,移取苯并噻唑 16.5 μ L,置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容,得 200 mg/L 混合标准储备液。临用时,用流动相逐级稀释成质量浓度分别为 0.064、0.32、1.60、8.00、

40.00、80.00 mg/L 的系列浓度的混合标准溶液。

1.3 色谱条件

ZORBAX SB-C18 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m; Agilent 公司);流动相为甲醇-水(55:45, v/v),流速 1 mL/min;紫外光检测波长 254 nm;进样量 10 μ L;柱温 20 $^{\circ}$ C。

1.4 样品的制备

实际水样(500 mL)上样前先过 0.45 μ m 滤膜,用 0.1 mol/L 盐酸调节 pH 至 5~6,然后用 HLB 固相萃取柱(500 mg/6 mL)进行富集净化。上样前固相萃取柱依次用甲醇(5 mL $\times$ 3)、水(5 mL $\times$ 3)活化。样品溶液以 5 mL/min 的流速上样,然后用 4 mL 30% 甲醇水溶液淋洗,最后用 4 mL 甲醇洗脱。洗脱液经温和氮气流吹至约 0.10 mL,然后用 55% 甲醇水溶液定容至 1 mL,供 HPLC 测定。

2 结果与讨论

2.1 HPLC 条件的确定

为了获得良好的分离度,本文考察了 Agilent 公司的 ZORBAX SB-C18(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)、ZORBAX Eclipse XDB-C18(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)两种色谱柱和不同比例的乙腈-水、甲醇-水流动相对目标化合物分离度的影响。最终确定采用 250 mm 长的 ZORBAX SB-C18 色谱柱,流动相为 55% 的甲醇水溶液,等度洗脱。在上述条件下 5 个目标化合物得到基线分离(见图 1)。

图 1 混合标准溶液的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of a mixed standard solution

Chromatographic conditions: mobile phase, methanol-water (55:45, v/v); flow rate, 1 mL/min; detection wavelength, 254 nm; column temperature, 20 $^{\circ}$ C.

Peak identifications: 1. 1*H*-benzotriazole (BT); 2. 5-methyl-1*H*-benzotriazole (5-M-BT); 3. 5-chloro-1*H*-benzotriazole (5-Cl-BT); 4. 5,6-dimethyl-1*H*-benzotriazole (5,6-DM-BT); 5. benzothiazole (BTH).

2.2 固相萃取条件的优化

2.2.1 萃取柱的选择

考察了 4 种商品化的固相萃取柱 C-18、HLB、

PS 及 PEP 对目标化合物的萃取效率,结果见图 2。从图 2 中可以看出 C-18 柱仅对 BTH 的回收率大于 80%,对其余 4 种目标化合物的回收率均较低。PS 和 PEP 对 4 种苯并三唑类目标化合物的回收率均较高,但对苯并噻唑的回收率不到 10%。只有 HLB 柱对 5 种目标化合物的回收率均较高。因此后续实验均采用 HLB 固相萃取柱处理样品。

图 2 萃取柱类型对目标化合物回收率的影响

Fig. 2 Recoveries of the analytes obtained by different SPE cartridges

SPE conditions: washing with 5 mL water; elution with 5 mL methanol.

2.2.2 上样体积对回收率的影响

以 HLB 为固相萃取柱,考察了上样体积分别为 100、200、300、500 及 700 mL 含目标化合物 10 $\mu\text{g/L}$ 的水溶液时对目标化合物回收率的影响。结果表明,在考察的体积范围内目标化合物的回收率变化很小,没有发生穿透现象,因此实际样品测定时可以采用大体积上样进行富集。

2.2.3 淋洗溶剂和洗脱溶剂种类对回收率的影响

固相萃取的目的是在富集浓缩目标化合物的同时,也尽量除去其他干扰化合物,以提高分析的准确度。为了消除其他化合物的干扰作用,考察了 4 mL 不同甲醇含量的水溶液作淋洗溶剂对目标化合物的淋洗效果。从图 3 中看出,5,6-DM-BT、5-Cl-BT 和 BTH 的保留较强,即使用 60% 甲醇水溶液淋洗仍没有被洗脱下来。而 BT 在淋洗溶剂的甲醇含量大于 30% 时即开始被洗脱下来。因此实验中选择用 4 mL 30% 甲醇水溶液为淋洗溶剂。

为了获得理想的回收率,考察了分别以 0.5、1、2、3、4 及 5 mL 甲醇为洗脱溶剂对目标化合物回收率的影响。结果(见图 4)表明,当甲醇用量小于 2 mL 时,目标化合物不能被完全洗脱;当甲醇用量大于 4 mL 时,目标化合物的回收率基本恒定。因此实验中确定洗脱溶剂甲醇的用量为 4 mL。

图 3 淋洗溶剂(甲醇水溶液)中甲醇含量对淋洗效果的影响

Fig. 3 Effect of methanol content in methanol-water washing solution on the washing efficiency

图 4 洗脱溶剂甲醇的体积对回收率的影响

Fig. 4 Effect of volume of methanol as eluent on the recovery

2.2.4 上样溶液 pH 值对回收率的影响

图 5 是不同 pH 值的上样溶液对目标化合物回收率的影响。结果表明,上样溶液 pH 值的变化对苯并噻唑的回收率影响不大。pH > 7.5 时,BT、5-M-BT、5,6-DM-BT 及 5-Cl-BT 的回收率开始下降。这可能是因为碱性条件下苯并三唑及其衍生物生成了盐,导致固相萃取柱对它们的富集能力下降。因此,为确保回收率不受损失,在固相萃取之前先用盐酸调节样品的 pH 为 5~6 之后再上样。

图 5 上样溶液 pH 值对回收率的影响

Fig. 5 Effect of pH of the sample on the recovery

2.3 方法的线性范围、回收率、精密度及检出限

在优化的色谱条件下,考察了 5 种目标化合物在 0.064 ~ 80 mg/L 范围内的线性关系,结果表明在上述范围内目标化合物的线性关系良好(相关系数≥ 0.999 9,见表 1)。以信噪比(*S/N*)为 3 时 5 种目标

化合物的质量浓度为仪器检出限,得到的结果为 1.9 ~ 3.2 μg/L。在空白自来水样中添加高、中、低 3 个浓度水平的混合标准溶液,每个浓度水平的样品平行分析 3 次,5 种目标化合物的加标回收率为 87.8% ~ 125.6%,相对标准偏差(RSD)为 0.4% ~ 9.4%。

表 1 BT、5-M-BT、5,6-DM-BT、5-Cl-BT、BTH 的线性范围、线性方程、相关系数、加标回收率及仪器检出限 (*n* = 3)
Table 1 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients (*r*), spiked recoveries and instrumental limits of detection (LOD, *S/N* = 3) of BT, 5-M-BT, 5,6-DM-BT, 5-Cl-BT and BTH (*n* = 3)

Analyte	Linear range/(mg/L)	Linear equation	<i>r</i>	Spiked/(μg/L)	Recovery/%	RSD/%	LOD/(μg/L)
BT	0.064 – 80	$A = 29.735C + 0.134$	1.0000	0.2	96.3	6.0	1.9
				4	96.1	5.3	
				16	97.8	0.6	
5-M-BT	0.064 – 80	$A = 24.612C - 0.076$	0.9999	0.2	93.2	6.5	3.2
				4	95.9	5.7	
				16	95.8	0.7	
5-Cl-BT	0.064 – 80	$A = 19.728C + 0.319$	0.9999	0.2	125.6	2.8	1.9
				4	93.4	5.1	
				16	95.9	0.4	
5,6-DM-BT	0.064 – 80	$A = 19.602C + 0.892$	0.9999	0.2	87.8	5.5	3.2
				4	93.9	5.9	
				16	94.5	3.3	
BTH	0.064 – 80	$A = 27.156C + 0.789$	1.0000	0.2	124.4	9.4	2.2
				4	94.3	6.5	
				16	95.7	0.8	

A: peak area; C: mass concentration, mg/L.

2.4 实际水样的测定

用建立的方法对大连自来水及辽河入海口的水样进行了测定。辽河入海水样采自辽河入海口表层水,采样日期为 2012 年 5 月 30 日,于 4 ℃ 储存。自来水为 2012 年 8 月 27 日采自实验室。分析结果表明,5 种目标化合物在自来水中均未检出;在辽河入海口的水样中检出苯并三唑(1.072 μg/L)、5-甲基苯并三唑(0.691 μg/L)、5-氯-苯并三唑(0.837 μg/L)及苯并噻唑(5.695 μg/L)。辽河流域分布在沈阳、抚顺、鞍山、本溪及营口等大中城市,这些城市中有许多大中型企业,且人口密度大,大量的工业废水及生活污水排放到辽河中,这是导致辽河水中苯并三唑及苯并噻唑污染的主要原因。

3 结论

本文采用固相萃取-高效液相色谱建立了地表水中苯并三唑、5-甲基苯并三唑、5,6-二甲基苯并三唑、5-氯-苯并三唑及苯并噻唑的分析方法。该方法简便快速,线性关系、回收率及重现性等方法学指标均较好,可用于我国地表水中苯并噻唑、苯并三唑及其衍生物的环境监测分析。

参考文献:

[1] Patsalides E, Robards K. J Chromatogr, 1985, 331: 149

[2] Cancilla D A, Baird J C, Geis S W, et al. Environ Toxicol Chem, 2003, 22: 134

[3] Gruden C L, Dow S M, Hernandez M T. Water Environ Res, 2001, 73: 72

[4] Gradwell M H S, McGill W J. J Appl Polym Sci, 1995, 58: 2185

[5] Ajmal M, Mideen A S, Quraishi M A. Corrosion Sci, 1994, 36: 79

[6] Achim K, Martin J, Thorsten R. J Chromatogr A, 2004, 1058: 81

[7] Stefan W, Thorsten R. Anal Chem, 2005, 77: 7415

[8] Achim K, Martin J, Thorsten R. Environ Sci Technol, 2005, 39: 3792

[9] Cancillia D A, Baird J C, Rosa R. Bull Environ Contam Toxicol, 2003, 70: 868

[10] Janna H, Scrimshaw M D, Williams R J, et al. Environ Sci Technol, 2011, 45: 3858

[11] Susan D R. Anal Chem, 2008, 80: 4391

[12] Susan D R. Anal Chem, 2010, 82: 4765

[13] Susan D R. Anal Chem, 2012, 84: 769

[14] Natural Resource Management Ministerial Council, Environment Protection and Heritage Council, and National Health and Medical Research Council (NRMHC-EPHC-NHMR). Australian Guidelines for Water Recycling. Augmentation of Drinking Water Supplies. Adelaide: NRMHC-EPHC-NHMR, 2008

[15] Liu Y S, Ying G G, Shareef A, et al. J Chromatogr A, 2011, 1218: 5328

[16] Carmen D, Carolina R C, Josep M B. J Chromatogr A, 2012, 1230: 117

[17] Zhang Z F, Ren N Q, Li Y F. Environ Sci Technol, 2011, 45: 3909

[18] Teresa Pena M, Vecino-Bello X, Carmen Casais M, et al. Anal Bioanal Chem, 2012, 402: 1679

[19] Carpinteiro I, Abuin B, Ramil M, et al. Anal Bioanal Chem, 2012, 402: 2471

[20] Leerdam J A, Hogenboom A C, Kooi M M E. Int J Mass Spectrom, 2009, 282: 99