

# 固相萃取-高效液相色谱法同时测定饮用水中苯胺和联苯胺

张丽,刘玉侠

(连云港市环境监测中心站,江苏 连云港 222001)

**摘要:**用 Waters Oasis MCX 固相萃取小柱富集水中的苯胺和联苯胺,以 2% 氨水-甲醇混合溶液为洗脱液,采用高效液相色谱法 DAD 检测器在 285 nm 波长下测定。苯胺和联苯胺分别在 0 mg/L ~ 100 mg/L 和 0 mg/L ~ 10.0 mg/L 范围内线性良好,检出限分别为 0.3 μg/L 和 0.1 μg/L,饮用水加标平行测定 6 次的 RSD 分别为 0.9% 和 0.3%,回收率分别为 98.3% ~ 99.1% 和 97.6% ~ 102%。

**关键词:**苯胺;联苯胺;固相萃取;高效液相色谱法;饮用水

中图分类号:O657.7<sup>+</sup>2 文献标识码:B 文章编号:1006-2009(2013)05-0041-03

## Simultaneous Determination of Aniline and Benzidine in Drinking Water by High Performance Liquid Chromatography Coupled with Solid Phase Extraction

ZHANG Li, LIU Yu-xia

(Lianyungang Environmental Monitoring Center, Lianyungang, Jiangsu 222001, China)

**Abstract:** Waters Oasis MCX solid phase extraction column was used for the enrichment of aniline and benzidine in drinking water. HPLC equipped with DAD was used for quantitation at 285 nm. The recoveries of two target compounds were between 97.6% ~ 102%, and the RSDs were between 0.3% and 0.9%, the determined range of aniline was 0 mg/L ~ 100 mg/L, and benzidine was 0 mg/L ~ 10.0 mg/L. The minimum detectable concentration was 0.1 μg/L ~ 0.3 μg/L. This method was applied in drinking water to the determination of aniline and benzidine, and the result was satisfactory.

**Key words:** Aniline; Benzidine; Solid phase extraction; High performance liquid chromatography; Drinking water

苯胺、联苯胺都是染料工业的中间体。苯胺可通过呼吸道、消化道被人体摄入,也可通过皮肤吸收进入人体,对人类的毒害主要是使氧和血红蛋白变为高铁血红蛋白,影响组织细胞供氧造成窒息。4,4-二氨基联苯俗称联苯胺,分子式为(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>,系联苯的衍生物之一。联苯胺及其盐都是有毒物质,可以通过皮肤进入人体,引起接触性皮炎、刺激黏膜、损坏肝和肾脏,且会造成膀胱癌和胰腺癌,为第一类致癌物。测定水中苯胺和联苯胺需对样品预处理,常用的富集方法有液液萃取、固相萃取和固相微萃取等。近年来固相萃取技术取得了快速发展,可实现水中痕量苯胺和联苯胺的高倍富集与分离。分离分析技术主要有紫外扫

描分光光度法<sup>[1]</sup>、液质联用色谱法<sup>[1-4]</sup>、气相色谱法(GC)<sup>[5-7]</sup>、高效液相色谱法(HPLC)<sup>[8-10]</sup>。紫外扫描分光光度法干扰较大,检出限较高;液质联用色谱法对仪器和检测人员的要求都比较高;GC法分析前需对联苯胺衍生,且衍生物受热易分解,会导致准确度和重现性差;HPLC法操作简便,稳定性好<sup>[1-4,8-10]</sup>。今采用固相萃取富集与分离,HPLC法同时测定饮用水中的苯胺和联苯胺,结果令人满意。

收稿日期:2012-07-16;修订日期:2013-07-09

作者简介:张丽(1974—),女,江苏丰县人,工程师,本科,从事环境监测工作。

## 1 试验

### 1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 配二极管阵列检测器 (DAD), 美国安捷伦科技有限公司; MCX 固相萃取柱 (500 mg  $\phi$  6 mL), 美国 Waters 公司。

苯胺、联苯胺标准溶液 (100 mg/L), 美国 Accustandard 公司; 甲醇 (色谱纯), 美国天地公司; 氨水 (分析纯), 乙酸、乙酸铵 (优级纯), 南京化学试剂公司; 2% 氨水-甲醇混合溶液: 将 2 mL 氨水用甲醇稀释至 100 mL; 5% 氨水-甲醇混合溶液: 将 5 mL 氨水用甲醇稀释至 100 mL; 10% 氨水-甲醇混合溶液: 将 10 mL 氨水用甲醇稀释至 100 mL; 乙酸-乙酸铵缓冲溶液: 将 2.5 mL 乙酸与 3.85 g 乙酸铵混合, 用纯水稀释至 1 000 mL; 超纯水 (电阻率  $\geq 18.2$  M $\Omega$ ·cm), 雀巢公司。

### 1.2 色谱条件

色谱柱: ODS - C<sub>18</sub> (4.6 mm  $\times$  150 mm, 5.0  $\mu$ m) 柱温 25  $^{\circ}$ C; DAD 检测器, 波长 285 nm; 进样体积 20  $\mu$ L。流动相由甲醇 (A) 和水 (含 0.05 mol/L 乙酸-乙酸铵缓冲溶液) (B) 组成, 流量 1.0 mL/min, 梯度洗脱程序为: 0 min ~ 4 min, 60% A; 4 min ~ 5 min, 60% A  $\rightarrow$  65% A; 5 min ~ 8 min, 65% A; 8 min ~ 10 min, 65% A  $\rightarrow$  60% A。

在选定的色谱条件下, 苯胺和联苯胺的 HPLC 色谱峰见图 1。

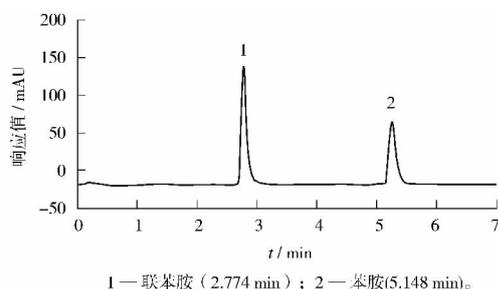


图1 苯胺和联苯胺的 HPLC 色谱峰

Fig. 1 HPLC peaks of aniline and benzidine

### 1.3 样品处理

MCX 固相萃取柱使用前分别用 10 mL 甲醇和去离子水活化。取 1 000 mL 水样, 经 0.45  $\mu$ m 滤膜减压过滤, 滤液以 5 mL/min ~ 10 mL/min 的流量流过活化后的 MCX 固相萃取柱富集浓缩。上样完毕, 分别用 10 mL 0.1 mol/L HCl 和甲醇清洗以净化样品, 再用氮气吹干固相萃取柱。将 10 mL 2%

氨水-甲醇混合溶液以 1 mL/min 的流量洗脱固相萃取柱, 收集洗脱液, 用旋转蒸发仪浓缩近干, 用甲醇定容至 1.0 mL, 经针头过滤器过滤, 待测定<sup>[1]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理方法的选择

有文献报道用 HLB 柱富集水样中的苯胺和联苯胺, 用二氯甲烷-丙酮混合液 (体积比为 1:1) 洗脱<sup>[7]</sup>; 也有文献报道将水样经 0.2  $\mu$ m 滤膜过滤后直接进样分析<sup>[8-10]</sup>。对于苯胺和联苯胺浓度高的水样, 直接进样分析的结果令人满意; 而对于饮用水中痕量级的苯胺和联苯胺, 其测定结果不准确。

今选用 Waters 公司的复合模式萃取方法, 即 Oasis 2  $\times$  4<sup>SM</sup> 方法。Oasis 2  $\times$  4<sup>SM</sup> 有 4 种方法供选择, 对有机碱类物质, pK<sub>a</sub> 在 2 ~ 10 之间, 选择 Oasis MCX 方法, 即以 MCX 为吸附剂; 对有机强酸 pK<sub>a</sub> < 1.0 的物质, 选择 Oasis WAX 方法, 即以 WAX 为吸附剂; 对季铵盐、碱 pK<sub>a</sub> > 10 的物质, 选择 Oasis WCX 方法, 即以 WCX 为吸附剂; 对有机酸、酚类物质, pK<sub>a</sub> 在 2 ~ 8 之间, 选择 Oasis MAX 方法, 即以 MAX 为吸附剂。该萃取法规定, 对于有机碱和有机强酸, 选择 2% 氨水-甲醇混合溶液为洗脱剂; 而对季铵盐、碱与有机酸、酚类, 选择 2% 甲酸-甲醇混合溶液为洗脱剂。由于苯胺、联苯胺为有机碱类, pK<sub>a</sub> 在 2 ~ 10 之间, 所以选择 Oasis MCX 方法, 以氨水-甲醇混合溶液为洗脱剂。

考察了不同体积分数氨水-甲醇混合溶液 (2%、5%、10%) 以不同体积 (5 mL、10 mL、20 mL) 洗脱的效果, 试验结果表明, 5 mL 洗脱液的回收率为 60%, 说明目标物不能完全被洗脱, 10 mL 和 20 mL 洗脱液的回收率均 > 95%; 2%、5%、10% 氨水-甲醇混合溶液的洗脱效率均 > 90%。从节约溶剂方面考虑, 该试验选择以 10 mL 2% 氨水-甲醇混合溶液为洗脱液。

### 2.2 色谱条件的选择

选择常用的流动相——甲醇和水, 乙腈和水, 试验表明, 峰形有严重拖尾现象, 故考虑在水中加入一定的缓冲盐。乙酸-乙酸铵缓冲溶液在高效液相色谱法中使用较为广泛, 试验分别选择含 0.01 mol/L、0.05 mol/L、0.10 mol/L 乙酸-乙酸铵缓冲溶液的水和甲醇或乙腈为流动相, 通过调整比例, 改变峰型, 最终选定 0.05 mol/L 的乙酸-乙酸铵缓冲溶液。乙腈的毒性较大, 从操作人员的安

全角度考虑,该试验选择甲醇和含0.05 mol/L乙酸-乙酸铵缓冲溶液的水作为流动相。

### 2.3 检测波长的选择

用DAD检测器做全波长扫描,发现当波长为285 nm时,2种待测物质有最大吸收峰,峰的分光最好,苯胺和联苯胺的分离度 $R > 1.5$ ,故选择285 nm为检测波长<sup>[1]</sup>。

### 2.4 工作曲线与方法检出限

在室温下,吸取苯胺、联苯胺标准溶液,用甲醇配制0 mg/L、1.00 mg/L、5.00 mg/L、10.0 mg/L、30.0 mg/L、50.0 mg/L、100 mg/L苯胺标准溶液系列,以及0 mg/L、0.500 mg/L、1.00 mg/L、2.00 mg/L、5.00 mg/L、8.00 mg/L、10.0 mg/L联苯胺标准溶液系列。在选定的色谱条件下依次测定,以峰面积对应质量浓度进行线性回归,回归方

程与相关系数见表1。

测定7个实验室空白加标样品,计算标准偏差 $s$ ,根据公式 $MDL = 3.143 \times s$ 计算方法检出限。当取样体积为1 000 mL时,检出限见表1。

表1 工作曲线与方法检出限

化合物	回归方程	相关系数 $R$	检出限 $\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$
苯胺	$y = 8.42x + 0.414$	0.999 9	0.3
联苯胺	$y = 72.2x - 1.39$	0.999 7	0.1

### 2.5 精密度与加标回收试验

取经0.45  $\mu\text{m}$ 滤膜过滤的1 000 mL饮用水样品,用上述方法测定,并做3个质量水平的加标回收试验,结果见表2。

表2 精密度与加标回收试验结果

Table 2 Method precision and recovery of the method

化合物	测定值 $m/\mu\text{g}$	加标质量 $m/\mu\text{g}$	加标后测定值 $m/\mu\text{g}$	回收率/%	RSD/%
苯胺	—	10.0	9.83	98.3	0.9 <sup>①</sup>
	—	30.0	29.6	98.7	
	—	80.0	79.3	99.1	
联苯胺	—	1.00	1.02	102	0.3 <sup>①</sup>
	—	5.00	4.88	97.6	
	—	8.00	8.05	101	

①该质量水平加标样平行测定6次。

## 3 结语

用固相萃取小柱富集,采用HPLC法DAD检测器,能快速、准确地测定水中苯胺和联苯胺,方法操作简便,加标回收率高,应用于饮用水样品的批量测定,能满足环境监测质量控制的要求。

### [参考文献]

- [1] 江苏省环境监测中心. 国家环境保护地表水环境有机污染物监测分析重点实验室. 地表水环境质量 80个特定项目监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009: 90-97.
- [2] 唐剑飞, 侯定远. 气相色谱法测定水及空气中苯胺和硝基苯[J]. 中国环境监测, 1995, 11(1): 19-21.
- [3] 邓延慧, 夏明芳, 王志良, 等. 气相色谱法测定废水中苯胺类化合物[J]. 环境监测管理与技术, 2008, 20(1): 35-36.
- [4] 宋艳涛, 王正萍, 王琳. 固相萃取-气相色谱法测定废水中三乙胺和苯胺[J]. 环境监测管理与技术, 2005, 17(1): 37-38.

- [5] 冯喜兰, 田孟魁, 荆瑞俊, 等. 固相萃取测定水样中苯胺类化合物[J]. 河南科技学院学报, 2011, 39(5): 51-54.
- [6] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 548-551.
- [7] 杨秋红, 钱蜀, 程小艳, 等. 固相萃取地表水中痕量联苯胺及HPLC-MS测定[J]. 化学研究与应用, 2011, 23(1): 102-105.
- [8] 顾海东, 尹燕敏, 秦宏兵. 超高效液相色谱三重四级杆质谱联用法测定水中的苯胺及联苯胺[J]. 环境监测与预警, 2012, 4(1): 24-26.
- [9] 陈勇, 范力, 吕桂宾. 液相色谱-质谱法测定水中的联苯胺[C]//四川省环境科学学会. 四川省环境科学学会二〇一一年学术年会论文集. 成都: 四川省环境科学学会出版社, 2011: 240-245.
- [10] 邹玉林, 陈勇, 吕桂宾, 等. 液相色谱-质谱法测定水样中的苯胺[J]. 化学研究与应用, 2011, 23(5): 649-651.

本栏目责任编辑 姚朝英 吴珊