

文章编号: 0254-5357(2013)02-0325-05

乙腈-硫酸铵-水双水相萃取-高效液相色谱法测定地下水中苯并(a)芘和苯并(e)芘

王 磊¹, 安彩秀¹, 朱裕穗¹, 肖 凡¹, 刘金巍^{2*}

(1. 河北省地矿中心实验室, 河北 保定 071051;

2. 中国地质调查局水文地质环境地质调查中心, 河北 保定 071051)

摘要: 传统的液液萃取技术主要采用与水不相溶的有机溶剂作萃取剂, 这种异相萃取的传质速率一般较低, 需反复振荡或多次萃取。本文建立了以乙腈-硫酸铵-水的双水相萃取体系高效液相色谱法测定地下水中苯并(a)芘和苯并(e)芘的方法, 以密度比水小的乙腈为萃取剂, 将其与水样混合(互溶)获得乙腈-水体系, 然后加入硫酸铵, 溶液澄清、分相后取上层有机相(乙腈)进样分析。考察了萃取剂的选择、双水相的形成条件、离子强度以及 pH 等对测定结果的影响。两种化合物线性范围为 2.00 ~ 400.00 ng/mL, 相关系数大于 0.999。方法检出限为 0.012 ~ 0.020 ng/mL, 平均回收率为 94.6% ~ 97.3%, 相对标准偏差为 1.3% ~ 2.5%。与传统萃取方法相比, 该方法具有操作流程简单、快速的特点, 可实现对野外环境水样进行原地样品前处理。

关键词: 地下水; 苯并(a)芘; 苯并(e)芘; 双水相体系; 高效液相色谱法

中图分类号: P641; O657.71 **文献标识码:** B

苯并(a)芘是一种强致癌物质^[1], 在 2005 年我国启动的全国地下水调查评价项目中已被列为半挥发性有机污染物必测组分之一^[2]。苯并(e)芘是苯并(a)芘的同系物, 具有潜在的致癌性, 欧盟理事会第 76/769/EEC 号指令中已有限量规定^[3]。目前地下水中苯并(a)芘的预富集方法主要有固相萃取、液液萃取等^[4-9], 对苯并(e)芘的研究报道还较少。双水相萃取(ATPE)是一种近年来迅速发展的绿色、高效萃取技术, 具有萃取条件温和、易于操作和环境友好等优点^[10-11], 已广泛应用于生物、药物和金属分离等领域^[12-17], 在分析测试领域也有广泛的应用^[18-20]。

本文采用乙腈为萃取剂, 通过对无机盐的选择, 研究了双水相的形成条件, 经优化实验参数实现了高效液相色谱-荧光法(HPLC-FLD)对地下水中苯并(a)芘和苯并(e)芘的测定。通过与液液萃取(LLE)和固相萃取(SPE)方法比较, 该方法在样品制备过程中快速简单, 使用设备较少, 可避免电力使

用, 萃取富集高效、简便, 具备在野外实现原地样品前处理的实际应用潜力。

1 实验部分

1.1 仪器及工作条件

1200S 型高压液相色谱仪(美国 Agilent 公司, 配荧光检测器)。工作条件为: 以甲醇-水为流动相(体积比 85:15), 流量为 1.00 mL/min, 保持 15 min, 进样量 20 μ L。荧光检测器激发波长为 290 nm, 发射波长为 430 nm。ZORBAX Eclipse 色谱柱(C₁₈, 150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)。

1.2 标准和主要试剂

苯并(a)芘标准物质(美国 AccuStandard 公司, 甲醇介质, 浓度为 100 μ g/mL); 苯并(e)芘标准物质(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司, 乙腈介质, 浓度为 100 μ g/mL)。

标准溶液的配制: 苯并(a)芘、苯并(e)芘用乙腈配制浓度为 2.0 μ g/mL 的单一标准储备溶液。

收稿日期: 2012-09-20; 接受日期: 2012-12-06

基金项目: 河北省地矿中心实验室技术创新项目(20110302)

作者简介: 王磊, 工程师, 从事环境样品分析测试工作。E-mail: wanglei8812@126.com。

通讯作者: 刘金巍, 工程师, 从事环境样品分析测试工作。E-mail: gcmsd@sina.com。

乙腈、甲醇(HPLC级,百灵威科技有限公司)。
硫酸铵(分析纯,天津市天大化工实验厂);
氯化钠(分析纯,天津市北方天医化学试剂厂)。

1.3 实验方法

取 40.0 mL 水样于 50 mL 具塞试管中,加 3.0 mL乙腈,混匀,加 17.0 g 硫酸铵振荡,待乙腈析出后静置 5 min,取上层乙腈相(约 2 mL)上机测定。

2 结果与讨论

2.1 萃取剂的选择

能形成双水相的溶剂有甲醇、丙酮、聚乙二醇、乙腈等^[10,18-20],本文考虑乙腈可使水体中的动植物蛋白变性而使与之结合的目标化合物进一步分离、释放^[11,14-16],同时由于乙腈毒性较低且无需换相可直接进样,故采用乙腈作为萃取剂。

2.2 双水相体系中无机盐的选择

双水相的形成是由溶剂和无机盐对水分子竞争夺取程度不同造成的,实验研究了磷酸二氢钾、氯化钾、氯化钠、碳酸钾、碳酸钠和硫酸铵等 6 种盐的相分离效果。结果显示,氯化钾、氯化钠、碳酸钾、硫酸铵这 4 种盐均能与乙腈形成乙腈-无机盐-水双水相,其他 2 种盐不能形成双水相。为得到最好的相分离、最高的萃取率,分别对 4 种乙腈-水-盐形成的双水相体系进行了优化。实验表明,在乙腈-水混合溶液中加入硫酸铵能形成稳定的双水相体系。在参考文献[21-22]方法基础上,研究了不同质量的硫酸铵对 40 mL 水与 3.0 mL 乙腈混合溶液的双水相分离及萃取率情况。图 1a 表明,析出乙腈体积随加入硫酸铵质量的增加而增多,在加入 17.0 g 硫酸铵后溶液接近饱和,析出乙腈体积基本稳定在 2.1 mL 左右,乙腈含量趋于稳定且最低。图 1b 表明,此时萃取率达到最高。

2.3 pH 值对析出乙腈体积的影响

硫酸铵的加入会改变水体的 pH 值,本文考察了 pH 值对乙腈-硫酸铵-水双水相体系中乙腈相体积的影响。用磷酸调节 pH 值为 6.0、5.0、4.5、3.5、1.6,图 2 结果表明 pH 值在 3.5~6.0 时,乙腈析出体积变化为 2.10~2.15 mL,最大相对偏差为 2.47%,相对标准偏差(RSD, $n=5$)为 1.34%,体系的 pH 值对析出的乙腈体积影响小于 2.5%。

2.4 体系静置时间和离子强度的影响

本实验中,体系静置时间是指从硫酸铵加入体系乙腈析出开始直至取乙腈相进行分析为止。本文考察了静置时间为 5 min、10 min、30 min、2 h、24 h

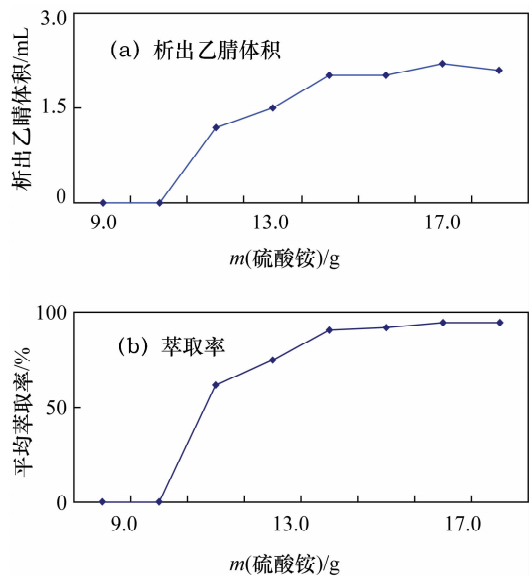


图1 硫酸铵加入质量与(a)析出乙腈体积和(b)萃取率的影响

Fig. 1 Effect of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dosage on (a) acetonitrile volume and (b) extraction efficiency

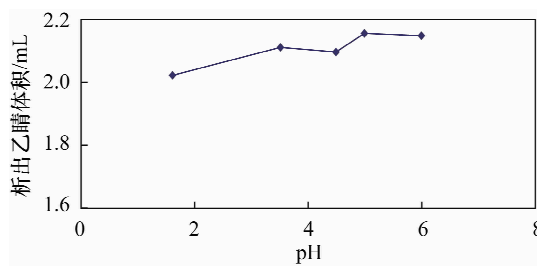


图2 pH 值对析出乙腈体积的影响

Fig. 2 Effect of pH on acetonitrile volume

对萃取率的影响。图 3 显示,静置时间对萃取率没有明显的影响,可见双水相体系分相后,苯并(a)芘和苯并(e)芘在两相间的萃取平衡已经稳定,与静置时间无关。

通常,增加水相的离子强度可能降低分析物在水相中的溶解度从而提高萃取率,但同时也会影响乙腈的析出体积,进而影响方法的精密度和准确度。本文考察了氯化钠加入水平在 0~50 g/L 范围内对萃取率及乙腈析出体积的影响。图 4 结果表明,盐的加入对本实验的萃取率没有显著影响,原因可能是由于苯并(a)芘和苯并(e)芘在乙腈中的溶解度较大,萃取过程受水相中离子强度的影响较小。图 5 表明,氯化钠加入量为 0~5% 时析出乙腈体积相对标准偏差(RSD, $n=5$)小于 0.47%,对测定无明显影响。

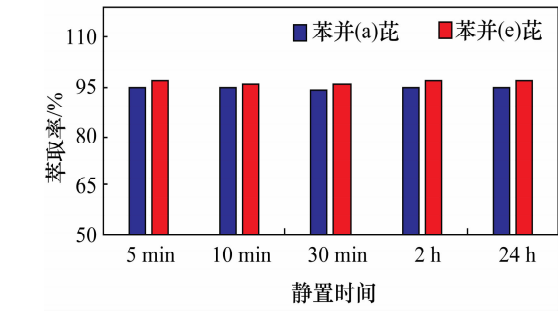


图3 静置时间对萃取率的影响

Fig.3 Effect of standing time on extraction efficiency

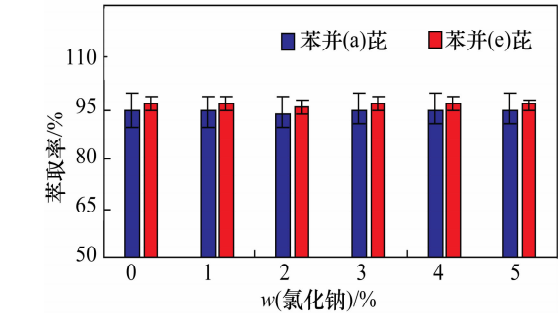


图4 离子强度对萃取率的影响

Fig.4 Effect of ionic strength on extraction efficiency

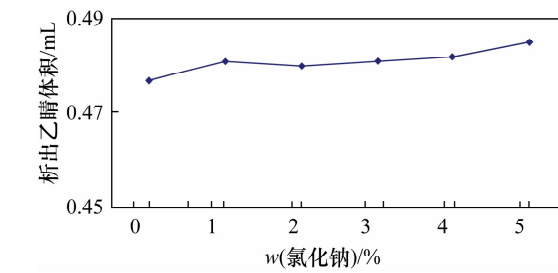


图5 离子强度对析出乙腈体积的影响

Fig.5 Effect of ionic strength on acetonitrile volume

2.5 方法的线性范围、检出限和精密度

用乙腈配制浓度为 2.00、8.00、20.00、60.00、120.00、200.00、400.00 ng/mL 的校准点,以化合物浓度为横坐标,响应值为纵坐标绘制标准曲线,各化合物标准曲线的相关系数(R^2)均大于 0.999。以 3 倍信噪比(S/N)对应的样品浓度为方法出限,检出限为 0.012 ~ 0.020 ng/mL。为了考察方法的精密度,采用空白水样加标进行 5 次试验。由表 1 可知:在实验条件下平均加标回收率为 94.6% ~ 97.3%,精密度(RSD)为 1.3% ~ 2.5%。

2.6 方法比较

比较了本方法与其他萃取技术测定苯并(a)芘

的部分指数^[4-8,23-24],表 2 可以看出几种方法均有回收率较高、检出限低等特点。由于固相萃取、液液萃取方式采用了大体积取样因而获得了较高的富集倍数,在这一过程中液液萃取方式使用的有机溶剂量较多,固相萃取方式操作条件比较严格,两种方式均有浓缩换相过程,因而前处理时间一般较长。本法避免了以上操作,流程简化,提高了样品处理速度,但在富集倍数方面有待提高。

表1 方法精密度和准确度

Table 1 Precision and accuracy tests of the method

化合物	$\rho_B/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$						平均回收率/%	RSD/%
	添加浓度	本法分次测定值						
苯并(a)芘	20.00	19.21	18.57	18.32	19.46	19.01	94.6	2.6
	60.00	56.22	57.37	59.24	58.79	57.71	96.4	2.1
苯并(e)芘	20.00	19.03	18.96	19.21	19.67	19.03	95.9	1.5
	60.00	57.35	58.26	59.33	58.22	58.87	97.3	1.3

表2 几种萃取技术测定苯并(a)芘的比较

Table 2 Comparison of extraction techniques for determination of benzo(a)pyrene

萃取方法	萃取剂用量 V/mL	萃取时间 t/min	浓缩换相	检出限/ (ng · mL ⁻¹)	回收率/%	富集倍数
LLE-HPLC-FLD	约 100	约几十	是	0.002	94 ~ 99	约 1000 倍
SPE-GC-FID	约几十	约几十	是	0.006	92 ~ 96	约 100 倍
ATPE-HPLC-FLD	约几	约几	否	0.012	94 ~ 96	近 100 倍

3 结语

建立的乙腈-硫酸铵-水双水相体系萃取-高效液相色谱测定地下水中苯并(a)芘和苯并(e)芘的方法,由于采用了乙腈-水双水相萃取技术,使提取更为环保、高效,与传统的液液萃取、固相萃取相比避免了浓缩萃取液、换相等步骤,使操作更为快捷、简便。本方法可实现对野外环境水样进行原地样品前处理,提高了分析效率,可用于地下水中苯并(a)芘和苯并(e)芘的测定。

致谢:感谢中国环境科学研究院白志鹏教授对本研究工作的支持。

4 参考文献

[1] 刘淑芹,王鹏. 环境中的多环芳烃与致癌性[J]. 环境保护,1995(9): 42-45.
[2] 李松,饶竹. 超高效液相色谱法检测地下水中苯并(a)芘[J]. 岩矿测试,2010,29(6): 679-682.
[3] 欧盟理事会第 76/769/EEC 号指令[S].

- [4] 冯静,王海娇,何超君,张激光. 高效液相色谱法测定地下水中苯并(a)芘的不确定度评定[J]. 岩矿测试, 2011,30(5): 617-622.
- [5] 曹敏,马军,李云木子. 荧光-紫外检测器高效液相色谱法检测地下水中16种多环芳烃[J]. 岩矿测试, 2010,29(5): 539-542.
- [6] 郑海涛,刘菲,刘永刚. 固相萃取-气相色谱法测定水中多环芳烃[J]. 岩矿测试,2004,23(2): 148-152.
- [7] 李先国,阎国芳,周晓,魏新运,王岩,刘金燕. 固相萃取-高效液相色谱-荧光检测法测定海水中的多环芳烃[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版,2009,39(5): 1087-1092.
- [8] 李竺,陈玲,邵洪文,袁园,赵建夫. SPE-PDA/FLE串联HPLC法测定水样中痕量多环芳烃[J]. 环境化学, 2006,25(4): 503-507.
- [9] 马璐,王晓昌,刘俊建. 环境样品中多环芳烃的前处理技术研究进展[J]. 云南化工,2009,36(3): 66-70.
- [10] 马春宏,朱红,王良,姜大雨,闫永胜,王庆伟. 双水相萃取技术的应用研究进展[J]. 光谱实验室,2010, 27(5): 1906-1914.
- [11] 朱裕穗,杨红国,安彩秀,王磊,刘金巍. 双水相萃取-液相色谱法检测人尿中的羟基多环芳烃[J]. 分析实验室,2012,31(10): 67-71.
- [12] 曾云,覃事栋,陈腾,姚康康,王影. 乙醇-硫酸铵双水相萃取镉-碘化钾-丁基罗丹明B离子缔合物[J]. 光谱实验室,2012,29(5): 2963-2966.
- [13] 李丽敏,尚庆坤. 亲水有机溶剂/无机盐双水相萃取技术在分离提纯生物物质中的应用[J]. 光谱实验室,2011,28(6): 3073-3078.
- [14] 赵新颖,屈锋,董敏,陈凡,罗爱芹,张经华. 双水相萃取结合液相色谱法分离蛋白质[J]. 分析化学,2012, 40(1): 38-42.
- [15] 朱慧,李克,翟云霞. 血清蛋白质组学研究中乙腈沉淀法去除清蛋白的实验研究[J]. 临床检验杂志, 2011(1): 16-18.
- [16] 胡洪华,蒋婷,宋海星,胡瀚丹. 四种检测法在乙腈沉淀法去除血清蛋白中的比较[J]. 中国医药导报, 2012(23): 85-86.
- [17] 彭佳黛,冯倩,陈浩春,孙吉康. 双水相萃取法分离纯化银针茶 α -淀粉酶抑制剂的研究[J]. 中南林业科技大学学报,2010(9): 198-201.
- [18] 龙文清,黄春芳,刘利民,施踏青,雷良萍. 乙醇-硫酸铵双水相萃取荧光法测定痕量 α -萘乙酸[J]. 分析实验室,2007,26(5): 23-26.
- [19] 贾风燕,王文文,刘振波,殷军港,刘永明. 乙腈-无机盐-水双水相体系萃取-气相色谱法检测鱼肉中拟除虫菊酯[J]. 化学学报,2012,70(4): 158-491.
- [20] 龙文清,黄春芳,陈华龙. 丙酮双水相萃取预富集荧光法测定痕量1-萘胺[J]. 分析实验室,2008, 27(12): 19-22.
- [21] 翟全国,胡满成,刘志宏,夏树屏,高世扬. 硫酸铈/乙醇双水相体系的相平衡[J]. 物理化学学报,2003,19(11): 1089-1092.
- [22] 刘绍鹏,宗志敏,魏晴,魏贤勇. 双水相体系中成相及有机物分配机理的初步研究[J]. 化工时刊,2010, 24(12): 21-24.
- [23] 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].
- [24] GB/T 5750. 8—2006,生活饮用水标准检验方法;有机物指标[S].

Extraction and Detection of Benzo(a)pyrene and Benzo(e)pyrene in Groundwater Using Acetonitrile-(NH₄)₂SO₄-Water System Coupled with Liquid Chromatography

WANG Lei¹, AN Cai-xiu¹, ZHU Yu-sui¹, XIAO Fan¹, LIU Jin-wei^{2*}

- (1. Hebei Province Geological and Mineral Center Laboratory, Baoding 071051, China;
2. Centre for Hydrogeology and Environmental Geology Survey, Chinese Academy of Geological Sciences, Baoding 071051, China)

Abstract: Conventional liquid-liquid extraction (LLE) methods usually use water immiscible organic solvents as the extraction solvents and achieve phase separation through repeated shock or multiple extractions. In this paper, a new method for the determination of benzo(a)pyrene and benzo(e)pyrene in groundwater by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with acetonitrile-(NH₄)₂SO₄-water extraction system is described. In the proposed extraction procedure, a low-density extraction solvent (acetonitrile) was injected into a water sample to form the acetonitrile-water system. A salt (ammonium sulfate) was then injected into the acetonitrile-water solution to separate the system into two phases. The upper organic phase (acetonitrile) was collected and analyzed by HPLC. All the parameters, such as the selection of extraction agent, aqueous two phase formation conditions, ionic strength and pH, are discussed and optimized. The two kinds of compound are linear and in the range of 2.00 – 400.00 ng/mL, and the correlation coefficient (R^2) is greater than 0.999. The detection limits of the method for the compounds ranged from 0.012 – 0.020 ng/mL and the average recoveries ranged from 94.6% – 97.3% with precision of 1.3% – 2.5%. Compared with conventional extraction methods, the method has the characteristics of simple operation and rapidity. Pretreatment of environmental water samples can be operated in the field, which is good for the routine analysis of benzo(a)pyrene and benzo(e)pyrene in groundwater.

Key words: groundwater; benzo(a)pyrene; benzo(e)pyrene; aqueous two-phase system; High Performance Liquid Chromatography