

DLLME-HPLC 法同时分离测定环境水样中的氯苯胺

张伟亚¹ 王丽¹ 许宏波¹ 徐烨^{2*}

1. 河北民族师范学院, 河北 承德 067000

2. 东北大学理学院, 辽宁 沈阳 110819

[摘要] 氯苯胺是卤代芳香胺类化合物中常见的一类物质, 本文建立了环境水样中三种氯苯胺同时测定的 DLLME-HPLC 的检测方法。在色谱条件优化中, 重点考察了流动相的比例, 确定甲醇 (A) : 水 (B) = 40 : 60。在前处理条件优化中, 重点考察了萃取效率的影响因素。该方法线性相关系数良好, 相对标准偏差均小于 5%, 样品加标平均回收率为 92.3%~104%, 同时具有简单、快速、绿色环保的特点, 适合于氯苯胺物质的环境监测。

[关键词] 高效液相色谱法; 氯苯胺; 环境监测; 分散液相微萃取

DOI: 10.33142/nsr.v2i4.18716

中图分类号: O658

文献标识码: A

Simultaneous Determination of Chloroaniline in Environmental Water Samples by DLLME-HPLC Method

ZHANG Weiya¹, WANG Li¹, XU Hongbo¹, XU Ye^{2*}

1. Hebei Minzu Normal University, Chengde, Hebei, 067000, China

2. College of Sciences, Northeastern University, Shenyang, Liaoning, 110819, China

Abstract: Chloroaniline is a common type of halogenated aromatic amine compound. A method of DLLME-HPLC was established for the simultaneous detection of the three chloroanilines in environmental water samples. The flow compatibility ratio was optimized. The optimized experimental conditions were methanol (A): water (B) = 40:60. In the optimization of pretreatment conditions, the influencing factors of extraction efficiency were mainly investigated. This method has a good linear correlation coefficient, with RSDs all less than 5%. The average recoveries of water samples were from 92.3%~104%. The method is simple, quick and environmentally friendly, making it suitable for environmental monitoring of chloroaniline.

Keywords: HPLC; chloroaniline; environmental monitoring; dispersive liquid-liquid microextraction

卤代芳香胺类化合物的应用非常广泛, 特别是在农药产品 (除草剂、杀虫剂) 等领域, 同时也是很多医药产品、染料、塑料、橡胶和化工合成过程中不可或缺的原料或中间体。氯苯胺是其中常见的一类物质, 包括 2-氯苯胺、3-氯苯胺和 4-氯苯胺。该类物质毒性高、危害大, 长期接触对人体和生物会造成极大的健康风险, 若进入环境水体, 其对生态的威胁程度同样不容忽视。

在环境监测及分析行业中, 一项关注的热点便是针对卤代芳香胺类化合物的分析与检测。在我国, 关于芳香胺类化合物的检测, 现行的标准方法采用的是分光光度法^[1], 但该方法存在过程繁琐、整个反应时间长的缺陷。气相色谱法^[2-3]对于性质非常相近物质之间的检测, 大多需要增加柱前衍生化等操作, 来改变待测物质的性质以实现较好的分离与检测, 但往往重现性差, 直接影响了方法的灵敏

度和准确度。相比气相色谱法, 高效液相色谱法^[4-5]避免了衍生化的操作, 同时在社会各行业领域应用甚广, 普及面大。因此, 随着当今社会环境问题的日益加剧, 建立一种简单易推广、绿色环保、灵敏度高的检测方法以期实现氯苯胺的同时测定, 非常重要。

环境水样的基质往往具有复杂性, 为了减少分析检测时的干扰因素, 因此, 样品前处理环节至关重要。相比传统的液液萃取技术, 分散液相微萃取 (DLLME) 是该技术的微型化发展, 极大减少了有毒有机溶剂的使用量, 具有试剂用量少、富集倍数高、绿色环保的显著特点。同时分散液相微萃取技术操作简单, 并不需要特定的实验场所就能够进行, 可以满足现代分析的需求, 具有良好的发展和应用前景。本研究重点优化了色谱条件 (流动相比), 实现了 DLLME-HPLC 法对难分离物质氯苯胺的同时分

离与测定。

1 实验部分

1.1 仪器与主要试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (紫外检测器)。

2-氯苯胺(98%), 3-氯苯胺(99%), 4-氯苯胺(98%), 均从上海阿拉丁试剂有限公司购买; 甲醇、三氯甲烷、异丙醇, 均为色谱纯。

1.2 液相色谱仪器条件

进样量: 10 μ L; 流速: 0.9mL/min; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 检测波长(λ): 242nm; 流动相体系: 甲醇(A)-水(B); 色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-C18 色谱柱(4.6 \times 250mm, 5 μ m)。

1.3 实际样品保存

氯苯胺三种物质的混合标准溶液于低温环境(冰箱4 $^{\circ}$ C)中保存, 经实验验证, 混合标准溶液至少可以保存两周, 稳定性良好, 能够满足于实验过程。

1.4 前处理操作

过滤操作: 选择 0.45 μ m 的滤膜过滤实际样品。

萃取操作: 在离心管中移入 10mL 已经过滤的实际样品, 然后萃取剂加入 0.2mL, 分散剂加入 0.6mL, 盐(NaCl)加入 0.1g, 控制好体系的 pH, 混合均匀。

离心操作: 设置转速为 4000r/min, 离心 4min, 最后移取下层有机相用于实验检测。

2 结果与讨论

2.1 流动相配比的选择

氯苯胺三种物质分子量完全相同, 性质相近、极性相似, 改变流动相的配比, 考察三种物质的分离情况。随着甲醇比例的不断减少, 2-氯苯胺和 3-氯苯胺的色谱峰逐渐靠近, 表明两者之间的分离度逐渐下降; 而 3-氯苯胺和 4-氯苯胺的色谱峰逐渐远离, 表明两者之间的分离度逐渐增大。如图 1 所示, 当流动相中甲醇比例为 40% 时, 氯苯胺三种物质同时分离完全, 三者的色谱峰之间相互没有干扰, 且每种物质色谱峰的峰型良好。因此, 流动相的配比确定为甲醇(A): 水(B)=40: 60。

2.2 萃取条件的选择

2.2.1 萃取剂及其体积的选择

不同于传统的液液萃取, 分散液相微萃取(DLLME)过程中^[6-7], 各种有机溶剂的使用明显微量化, 而萃取剂的选择是该前处理技术中最重要的影响条件。二氯甲烷、氯仿、四氯化碳都是科学研究中经典且常见的萃取剂, 分别对三者进行考察, 结果表明氯仿对氯苯胺三种物质的萃取效率要高于二氯甲烷和四氯化碳。然后选择 0.1、0.2、0.3、0.4 及 0.5mL 不同体积的氯仿继续考察, 如图 2 和图 3 所示, 依据萃取效率、富集倍数的整体情况, 萃取剂选择为氯仿, 萃取剂体积选择 0.2mL。

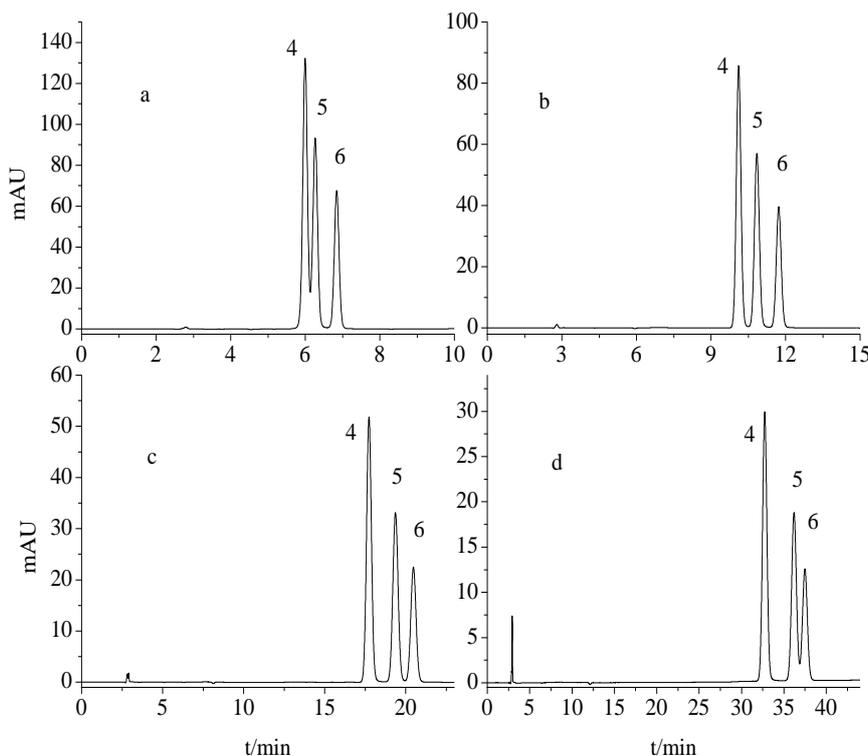


图 1 甲醇比例为 60% (a), 50% (b), 40% (c), 30% (d) 的色谱分离图 (4 为 4-氯苯胺, 5 为 3-氯苯胺, 6 为 2-氯苯胺)

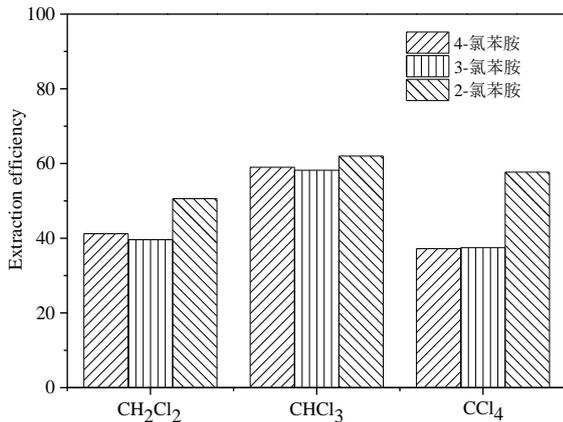


图2 不同萃取剂对萃取效率的影响

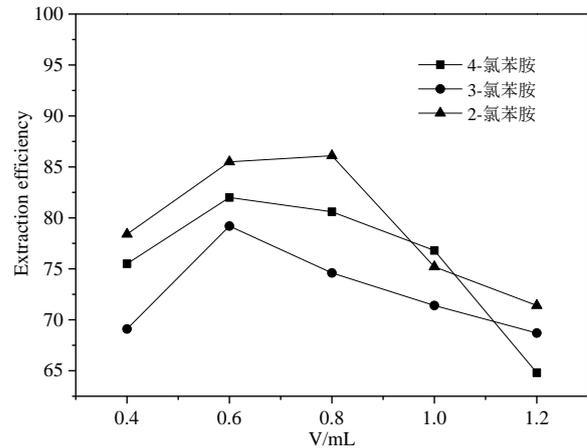


图5 分散剂体积对萃取效率的影响

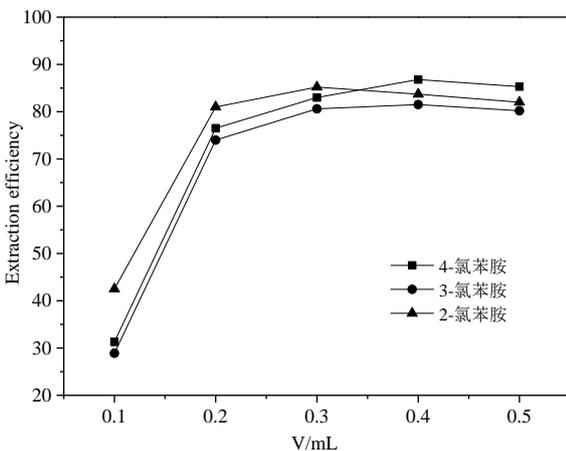


图3 萃取剂体积对萃取效率的影响

2.2.2 分散剂及其体积的选择

相比萃取剂的选择，分散剂的选择同样重要。萃取剂正是在分散剂强大的辅助作用下才能够分散均匀，萃取过程才能够充分地进行。乙腈、丙酮、异丙醇都是实验室中常见且价廉的分散剂，对三者分别进行考察，异丙醇对氯苯胺三种物质的萃取效率要高于乙腈和丙酮。

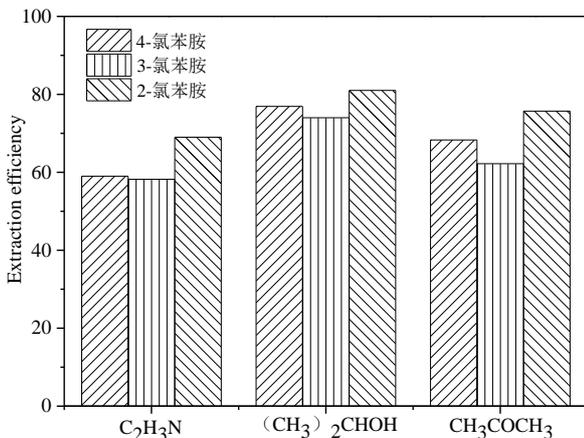


图4 不同分散剂对萃取效率的影响

同时萃取剂在水相中的分散程度与分散剂体积有着密不可分的联系。然后选择 0.4、0.6、0.8、1.0 及 1.2mL 不同体积的异丙醇继续考察，如图 4 和图 5 所示，最终分散剂选择为异丙醇，分散剂体积选择 0.6mL。

2.2.3 盐的使用量

分散液相微萃取研究中，为了实现萃取效率的提高，可以适度加入盐，增大反应体系的离子强度，以达到微萃取过程能够充分地进行，使得氯苯胺物质尽可能完全转移至有机相。盐的选择有多种，本研究选择的盐是氯化钠 (NaCl)，实验中分别加入 0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5g 的氯化钠，结果表明，氯化钠的加入量为 0.1g 时，氯苯胺三种物质的萃取效率最高且稳定。随着氯化钠的加入量继续增加，氯苯胺三种物质的萃取效率反而下降。因此，氯化钠 (NaCl) 的使用量选择 0.1g。

研究过程中通过分散液相微萃取各条件的优化，氯苯胺三种物质的萃取效率均超过 80%，富集倍数均大于 40 倍，可以应用到实际水样的监测中。

3 样品分析

3.1 工作曲线

选择空白水样，依次将不同体积的标准溶液移入其中，在优化的最佳条件下，进行色谱分析检测。绘制工作曲线时，横坐标是氯苯胺三种物质的浓度 (x, μg/mL)，纵坐标是各物质对应的峰面积 (y)，相关实验数据如表 1 所示。

表 1 线性方程和检出限

组分 Component	线性回归方程 Linear equation	相关系数 r	线性范围 Linear range (μg/mL)	检出限 Detection limit (ng/mL)
2-氯苯胺	y = 1501x + 21.54	0.9998	0.001~5	0.3

组分 Component	线性回归方程 Linear equation	相关系数 r	线性范围 Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	检出限 Detection limit (ng/mL)
3-氯苯胺	$y = 1636x + 22.91$	0.9996	0.001~5	0.9
4-氯苯胺	$y = 2298x + 23.06$	0.9996	0.001~5	0.4

3.2 实际样品分析

取某废水水样 (1#), 按照研究过程中优化的条件进行微萃取、富集和分析检测, 废水水样的分析检测结果见表 2。

表 2 废水水样测定结果 (n=7)

水样	测定结果 ($\mu\text{g/mL}$)		
	2-氯苯胺	3-氯苯胺	4-氯苯胺
1#	---	---	0.0855 ± 0.0036

---: 表示未检出。

3.3 回收率

回收率计算公式:

$$\text{回收率} = \frac{\text{加入标准物质后的测定值} - \text{样品测定值}}{\text{标准加入值}} \times 100\%$$

分析结果准确度的一项重要依据便是回收率实验。移取不同体积的标准物质溶液, 分别加入废水水样 (1#) 中, 开展加标回收率实验, 结果见表 3。通过分析实验数据得出, 氯苯胺三种物质的加标回收率均未超过 5%, 表明本文新建立的方法准确度高, 能够应用于环境水样监测领域。

表 3 废水水样回收率测定结果 (n=7)

组分 Component	样品值 Sample value ($\mu\text{g/mL}$)	加标量 Added ($\mu\text{g/mL}$)	测定值 Found ($\mu\text{g/mL}$)	回收率 Recovery (%)	RSD (%)
2-氯苯胺 2-chloroaniline	---	0.055	0.051	92.8	3.2
		0.100	0.095	94.9	4.4
		0.200	0.208	104	3.9
3-氯苯胺 3-chloroaniline	---	0.052	0.048	92.3	4.3
		0.102	0.105	103	3.8
		0.195	0.203	104	3.5
4-氯苯胺 4-chloroaniline	0.086	0.045	0.132	102	3.5
		0.085	0.166	93.6	4.1
		0.170	0.261	103	3.3

4 结论

本研究建立了一种 DLLME-HPLC 同时分离测定环境水样中氯苯胺的检测方法。该方法前处理环节极大减少了有毒溶剂的使用量, 符合绿色化学的理念, 同时该方法灵敏准确度高、推广适用性强, 可以应用于工业废水以及环境水样中氯苯胺的同时测定。

基金项目: 河北省高等学校科学研究计划项目 (项目编号: ZC2025048)。

[参考文献]

- [1] 国家环境保护局. 水和废水监测分析方法 (第三版) [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1989.
 - [2] Gruzdev I V, Alferova M V, Kondratenok B M, et al. Quantification of chloroanilines in drinking water by gas chromatography as bromo derivatives [J]. J Anal Chem, 2011, 66(10): 955-962.
 - [3] 董银根, 沈志武, 吴润琴. 作业场所空气中对氯苯胺的溶剂解吸气相色谱测定法 [J]. 职业与健康, 2006, 22(9): 660-661.
 - [4] 吴翠琴, 陈迪云, 陈永亨, 等. 分散液液微萃取/高效液相色谱法测定水样中的苯胺类物质 [J]. 分析科学学报, 2018, 34(6): 745-750.
 - [5] 张伟亚. 环境水样中氟苯胺及氯苯胺异构体的富集及 HPLC 检测方法研究 [D]. 沈阳: 东北大学, 2014.
 - [6] 陈曦, 李国林, 林平等. 简述分散液相微萃取技术 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(11): 4598-4604.
 - [7] 施艺玮, 张宁, 操雯, 等. 分散液液微萃取技术及其在生物样品分析中的研究进展 [J]. 色谱, 2020, 38(5): 491-501.
- 作者简介: 张伟亚 (1987—), 女, 河北石家庄人, 实验师, 主要从事色谱分析和实验室管理工作; *通讯作者: 徐焯 (1960—), 女, 教授, 主要从事色谱分析方法和化学教学的研究。