

固相萃取 高效液相色谱法测定河水中的多菌灵含量

多菌灵 (carbendazim), 又称苯并咪唑 44 号, 化学名称为 2-(甲氧基氨基甲酰)苯并咪唑, 是一种高效低毒内吸性杀菌剂, 高效液相色谱是目前测定多菌灵含量的一种常用分析方法, 此外还有液相色谱-质谱联用法, 分光光度法, 酶联免疫分析法, 毛细管电泳法及气相色谱法等。

水中多菌灵的含量较低, 固相萃取由于其富集倍数大、回收率高、操作简便等特点, 已成为环境样品前处理的常用方法, 尤其适用于水中痕量有机污染物的富集。新型国产 D4020 大孔吸附树脂因其价格低廉, 因而引起人们的关注。

本文用自制的 D4020 树脂固相萃取柱富集河水中的痕量多菌灵, 用高效液相色谱进行检测, 取得了满意的结果。

1 分析方法

仪器和试剂 Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); U-3010 紫外可见分光光度计 (日本日立公司); 752 N 紫外可见分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司); PHS-3B 型 pH 计 (上海精密科学仪器有限公司); D4020 大孔吸附树脂 (非极性, 苯乙烯型共聚体, 平均孔径为 100—105 nm, 孔容为 2.88—2.92 ml·g⁻¹), 16—60 目 (天津市海光化工有限公司); 多菌灵标准品 (国家标准物质研究中心) 纯度为 99.1%。

标准溶液配置 用甲醇配置浓度为 0.1 mg·ml⁻¹ 的多菌灵标准储备液, 密封, 置于冰箱中 (4 ℃) 保存备用。实验时再取适量标准储备液, 用水配成一定浓度的多菌灵模拟水样。

样品的采集与保存 采集的水样运回实验室后, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 滤液装于玻璃瓶中, 用 4 mol·l⁻¹ 盐酸调节 pH 值为 1, 并加 NaCl 调节盐度为 15 g·l⁻¹, 可保存 1 个月。

样品的预富集 先用 10 ml 水-甲醇 (95/5, V/V) 溶液清洗自制的 D4020 树脂固相萃取柱, 再将柱中残余水分吹干。准确移取 2000 ml 水样, 用 0.1 mol·l⁻¹ 盐酸和 0.1 mol·l⁻¹ 氢氧化钠溶液调其 pH 值为 7, 以 5 ml·min⁻¹ 的流速通过该固相萃取柱, 再用 30 ml 无水甲醇以 10 ml·min⁻¹ 的流速洗脱, 将洗脱液浓缩并用甲醇定容至 10.00 ml, 密封, 于冰箱中 (4 ℃) 保存备用。

高效液相色谱分析 将经预富集的样品用 0.45 μm 针头过滤器过滤, 取 10 μl 进行高效液相色谱分析。色谱柱为 Diamonsil-C₁₈ (5 μm, 150 mm × 4.6 mm); 流动相为甲醇-水溶液 (60/40, V/V), 采用等度洗脱; 流速为 1 ml·min⁻¹; 柱温为 25 ℃; 检测波长为 286 nm。

2 固相萃取条件的优化

柱长的选择 用 D4020 树脂装成 3 种不同长度 (60, 90 和 120 mm) 的玻璃富集柱, 将一定体积的模拟水样, 以 5 ml·min⁻¹ 的流速通过玻璃富集柱, 测定柱长对多菌灵吸附率的影响。由实验结果可知, 柱长为 120 mm, 多菌灵的吸附率达 98.8%。柱长增加, 吸附率增大, 但处理时间增长。从吸附率和处理时间两者综合考虑, 本实验选择柱长为 120 mm。

流速的选择 玻璃富集柱中 D4020 树脂的高度固定为 120 mm, 将定体积的模拟水样, 分别以 5, 10, 15 和 20 ml·min⁻¹ 的流速通过玻璃富集柱, 测定流速对多菌灵吸附率的影响。由实验结果可知, 流速减小, 柱子的吸附率增大; 但流速过小, 则处理时间过长; 若流速过大, 则样品与填料作用不充分, 造成吸附率低下。本实验选择样品流速为 5 ml·min⁻¹。

pH 的选择 将定体积的模拟水样, 用 0.1 mol·l⁻¹ 盐酸和 0.1 mol·l⁻¹ 氢氧化钠溶液分别调节 pH 值为 3.0, 4.0, 6.0, 7.0, 8.0 和 10.0, 在柱长为 120 mm, 流速为 5 ml·min⁻¹ 条件下, 考察 pH 对吸附率的影响, 由实验结果可知, pH 对多菌灵的吸附率几乎无影响。本实验选择试液的 pH 值为 7。

盐度的影响 由于采用盐酸和氢氧化钠溶液来调节水样的 pH 值, 这无疑引入了 Cl⁻ 和 Na⁺, 分别向定体积的模拟水样添加 NaCl, 使其浓度分别为 0.001, 0.005 和 0.01 mol·l⁻¹。在柱长为 120 mm, 流速为 5 ml·min⁻¹ 条件下, 考察盐度对吸附率的影响。由实验结果可知, 盐度对吸附率基本无影响, 因此实际样品测定可不必考虑盐度的影响。

洗脱速率的选择 选用无水甲醇作洗脱剂, 洗脱体积为 30 ml, 洗脱剂流速分别为 1, 10 和 30 ml·min⁻¹, 采用连续洗脱, 考察洗脱速率对洗脱率的影响。由实验结果可知, 在洗脱速率为 10 ml·min⁻¹ 时, 洗脱效果最佳, 此时洗脱率为 98%, 故本文选择洗脱速率为 10 ml·min⁻¹。

洗脱曲线 在所选的最佳吸附条件下, 用 30 ml 无水甲醇作洗脱剂, 以 10 ml·min⁻¹ 的洗脱速率作连续洗脱, 用 5 ml 的量瓶依次收集洗脱液, 测其吸光度, 以量瓶的序号为横坐标, 以吸光度为纵坐标, 绘制多菌灵的洗脱曲线。洗脱曲线高峰区较集中, 呈对称分布, 无明显拖尾现象, 洗脱率达 99.4%。

2007 年 9 月 10 收稿。

* 通讯作者。

3 色谱测定条件的优化

波长的选择 测定多菌灵标准溶液于 190—400 nm 区间的紫外吸收光谱, 其峰值吸收分别位于 211, 259, 280 和 286 nm 处, 考虑到当吸收波长小于 220 nm 时, 仪器不稳定, 且干扰较大, 故本文选择 286 nm 为高效液相色谱紫外检测器的测定波长。

流动相的选择 选择甲醇-水为流动相, 考察了甲醇与水的体积比分别为 30:70, 40:60, 50:50, 60:40 和 70:30 时, 对多菌灵的色谱分离效果。结果表明, 随着流动相中甲醇含量的增大, 多菌灵的出峰时间缩短, 在甲醇与水的体积比为 60:40 时, 分离效果最佳, 故本实验选择甲醇与水的体积比为 60:40。

流动相流速的选择 在甲醇与水的体积比为 60:40 条件下, 分别调节流速为 0.5, 1.0 和 1.5 ml·min⁻¹, 考察流速对多菌灵分离效果的影响。实验结果表明, 流速为 1.0 ml·min⁻¹ 时, 分离效果最佳, 故本实验选择流动相的流速为 1.0 ml·min⁻¹。

经过上述实验条件优化, 所选的最佳固相萃取条件为: 固相萃取柱中 D4020 树脂的高度为 120 mm; 模拟水样的上样速度为 5 ml·min⁻¹; 无水甲醇作洗脱剂, 洗脱体积为 30 ml, 洗脱流速为 10 ml·min⁻¹, 采用连续洗脱。所选的最佳色谱条件为: 色谱流动相为甲醇-水, 体积比为 60:40, 流速为 1.0 ml·min⁻¹, 进样量为 10 μl。在此最佳条件下, 多菌灵在 3.7 min 出峰, 峰形良好, 无拖尾现象。

4 工作曲线及检出限

用标准储备液配置不同浓度的标准溶液进行固相萃取, 对得到的洗脱液进行色谱分析。以峰面积为横坐标, 以多菌灵浓度 (μg·ml⁻¹) 为纵坐标, 绘制工作曲线, 其线性回归方程为 $Y = 3.4971X + 1.5143$, 相关系数为 0.9984。根据信噪比 $S/N = 3$, 得方法的检出限为 0.08 μg·l⁻¹。

5 方法的精密度与回收率

在优化的实验条件下, 分别配制 5, 10, 15 和 20 ng·ml⁻¹ 的多菌灵标准溶液各 2000 ml, 以 5 ml·min⁻¹ 的流速通过 120 mm 固相萃取柱, 用 30 ml 无水甲醇连续洗脱, 洗脱流速为 10 ml·min⁻¹, 洗脱液浓缩至 10 ml, 然后采用高效液相色谱法测定浓缩液中多菌灵含量, 每个标样平行测定 3 次, 计算回收率与 RSD, 结果见表 1。

由表 1 可见, 对于 4 种不同浓度的标样, 多菌灵的回收率为 89.3%—91.6%, RSD 为 1.5%—4.6%, 可见方法的准确度与精密度均良好。

表 1 方法的回收率与精密度

组分	加入量 /ng·ml ⁻¹	测得量 /ng·ml ⁻¹	回收率 /%	RSD /%
多菌灵	5.00	4.51	90.2	4.6
	10.0	8.93	89.3	2.7
	15.0	13.49	89.9	2.1
	20.0	18.32	91.6	1.5

6 实际水样分析

将方法用于测定周口店河下桥上流水样中多菌灵的含量, 移取 2000 ml 水样, 按实验方法进行分析, 测得河水中的多菌灵为 0.996 μg·ml⁻¹。

张 琦 董慧茹* 黄丽丽 供稿

(北京化工大学理学院, 北京, 100029)