

分子印迹固相萃取测定水中 苯并三唑类衍生物

熊力¹, 王金成²

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

摘要:建立了分子印迹固相萃取高效液相色谱法分析地表水中苯并三唑类衍生物的方法。环境水样经 0.22 μm 滤膜过滤后用盐酸(1:1)调至 pH 为 3, 100 mL 过分子印迹固相萃取柱, 用 4 mL 3% 异丙醇的二氯甲烷溶液淋洗, 4 mL 甲醇洗脱。结果表明, 4 种目标化合物在 0.06 ~ 30 μg/mL 范围内均呈良好的线性关系, 线性相关系数均 > 0.99, 仪器检出限为 0.9 ~ 2.2 μg/L。空白自来水样加标回收率为 75.8% ~ 92.9%, 相对标准偏差 (*RSD*, *n* = 3) 为 2.3% ~ 8.6%。

关键词:分子印迹固相萃取; 高效液相色谱法; 苯并三唑及其衍生物

中图分类号: O658

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2014)06-0148-04

Determination of benzotriazoles in water by molecularly imprinted solid-phase extraction

XIONG Li¹, WANG Jin-cheng²

(1. Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

2. Dalian Institute of Chemical Physics, The Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Abstract: A simple method based on molecularly imprinted solid-phase extraction (MISPE) coupled with high performance liquid chromatography (HPLC) is developed for determination of benzotriazoles in surface water. The optimum extraction process is as follows: 3 of pH for the sample, 100 mL of the sampling volume, 4 mL of 3% (V/V) isopropanol in dichloromethane as washing solvent and 4 mL of methanol as eluting solvent. The results show that good linear relationship can be observed in the ranges of 0.06 - 30 μg/mL with correlation coefficients over 0.99. The instrumental limits of detection for the target compounds are in the range of 0.9 - 2.2 μg/L. The average recoveries of target compounds are 75.8% - 92.9% and the corresponding relative standard deviations (*RSD*, *n* = 3) are 2.3% - 8.6%.

Key words: molecularly imprinted solid-phase extraction; high performance liquid chromatography; benzotriazoles

苯并三唑及其衍生物是一类高产量化工产品^[1]。据报道, 美国每年苯并三唑的产量在 9 000 t 左右^[2]。苯并三唑常用于摄影防雾剂、塑料中紫外线稳定剂^[3]。由于对金属有防腐缓蚀作用, 苯并三唑类衍生物被广泛用于飞机除冰剂、发动机防冻剂、机动车制动液、工业循环冷却水系统和餐具洗涤剂中^[4]。大量的生产和使用导致苯并三唑类化合物经工业和生活废水被排放到江河湖海中^[4-5]。研究表明, 苯并三唑类化合物不仅对水生生物有一定的毒性, 而且对人类可能有致癌作用^[6]。

测定苯并三唑类化合物的方法有液相色谱质谱法^[5]、气相色谱-质谱法^[7]、液相色谱串联质谱法等^[8-10]。由于环境水体基质复杂, 且水中苯并三唑的浓度较低, 因此测定之前需要对目标化合物进行富集净化。目前的前处理方法有固相萃取^[7-8]、分散液液微萃取等^[9]。由于这些方法均是非选择性的, 水样经萃取后一些非目标化合物也会一同被萃取出来, 对定量分析产生干扰, 影响测定。因此很有必要发展一种对苯并三唑类化合物高选择性的固相

萃取方法。

分子印迹聚合物作为吸附材料广泛用于分子印迹固相萃取 (MISPE)^[11-13]。笔者制备了对苯并三唑类化合物高选择性的分子印迹聚合物, 并以制备的材料建立了水样中苯并三唑类化合物的分子印迹固相萃取方法。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司生产); Waters HLB 固相萃取柱 (500 mg/6 mL)。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、甲基丙烯酸、乙二醇二甲基丙烯酸酯购于 ACROS ORGANICS, 以上试剂纯度均 > 98%, 甲基丙烯酸和乙二醇二甲基丙烯酸酯经减压蒸馏以除去阻聚剂; 偶氮二异丁腈 (分析纯, 沈阳东陵精细化工有限公司生产); 甲醇 (色谱纯, 美国 Fisher 公司生产); 二氯甲烷、异丙醇 (色谱纯, 天津科密欧化学试剂开发中心生产); 甲苯、丙酮 (分析

纯);实验用水为经 Milli-Q 净化系统制备的去离子水。

1.2 色谱条件

ZORBAX SB-C18 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, Agilent);流动相为甲醇-水(体积比为 55:45);流速为 1 mL/min;紫外光检测,波长为 254 nm;进样量为 10 μL;柱温为 20℃。

1.3 聚合物的制备

分子印迹聚合物的合成和处理方法:将 1.5 mmol 5-甲基苯并三唑加入到含 8.4 mL 甲苯的 20 mL 试管中,依次加入 6 mmol 甲基丙烯酸(0.511 mL)、30 mmol 乙二醇二甲基丙烯酸酯(5.64 mL)、60 mg 偶氮二异丁腈引发剂,超声使固体溶解,然后冰水浴中通氮气 10 min,氮气保护下胶塞密封,冰水浴中放置 90 min 后于 60℃ 水浴聚合 24 h。将得到的棒状聚合物固体研磨,过 38 μm 和 65 μm 筛子,微粒用丙酮沉降 3 次,每次 30 min,弃去上浊液,沉淀放置空气中至半干状态,然后 60℃ 真空干燥过夜。聚合物微粒干法装入 100 mm × 5 mm HPLC 柱中(约 0.7 g),然后依次用 300 mL 乙酸-甲醇(体积比为 1:9)、300 mL 甲醇在线冲洗(0.4 mL/min)。非印迹聚合物(NIP)在无模板存在下用同样的方法制备和处理。处理后的 38~65 μm 的微粒从 HPLC 柱中取出,干燥后用于固相萃取。

1.4 实际水样的测定

分子印迹固相萃取:将 200 mg 按 1.3 所述方法制备并处理过的干燥的 MIP 及 NIP 粒子(38~65 μm)装于内径 1 cm、长 10 cm 的固相萃取小柱

中,柱中底部和上部塞上玻璃筛板。环境水样先过 0.22 μm 滤膜,用 1:1 盐酸调节 pH=3。上样前萃取柱依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化,然后 100 mL 水样以 2 mL/min 的速度上样。上样后萃取柱用空气吹扫 30 min,然后用 4 mL 3% 异丙醇的二氯甲烷淋洗,4 mL 甲醇洗脱,洗脱液用氮气吹至 0.10 mL 左右,用 55% 甲醇水溶液定容至 1 mL,按 1.2 色谱条件测定。

HLB 柱固相萃取:HLB 固相萃取柱(500 mg/6 mL)上样前依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化,100 mL 水样(pH=3)以 5 mL/min 的流速上样;上样后萃取柱用空气吹扫 30 min,然后用 4 mL 30% 的甲醇水溶液淋洗,最后用 3 mL 甲醇洗脱,洗脱液用温和氮气流吹至 0.10 mL 左右,用 55% 甲醇水溶液定容至 1 mL,按 1.2 色谱条件测定。

1.5 标准曲线的绘制

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 30.0 mg 于 100 mL 容量瓶中,甲醇定容,得 300 μg/mL 混标储备液。临用时,采用流动相逐级稀释成质量浓度分别为 0.06、0.12、0.24、1.20、6.00、30.00 μg/mL 系列混标溶液,用于标准曲线的测定。

2 结果与讨论

2.1 固相萃取条件的优化

2.1.1 淋洗与洗脱溶剂的优化

以 1 mL 0.2 μg/mL 的目标化合物混标水溶液为对象考查分子印迹固相萃取的实验条件。为了使

版社,2005:83-95。

- [3] 严衍祿. 现代仪器分析(第三版)[M]. 北京:中国农业大学出版社,2010.
- [4] 徐广通,袁洪福,陆婉珍. 现代近红外光谱技术及应用进展[J]. 光谱学与光谱分析,2000,20(2):135-140.
- [5] McClure W F. Near-infrared spectroscopy: The giant is running strong [J]. Anal Chem, 1994, 66(1):43A-53A.
- [6] 李华琼. 红外光谱在化学中的应用[M]. 北京:化学工业出版社,2000.
- [7] 冯新沪,史永刚. 近红外光谱及其在石油产品分析中的应用[M]. 北京:中国石化出版社,2002.
- [8] 负维歌. 现代近红外光谱分析技术在油品成分应用分析[J]. 化学工程与装备,2008,8(3):120-129.
- [9] Leardi R, Seasholtz M B, Pell R J. Variable selection for multivariate calibration using a genetic algorithm; Prediction of additive concentrations in polymer films from Fourier transform-infrared spectral data [J]. Anal Chim Acta, 2002, 461(2):189-200. ■

(上接第 147 页)

BP 神经网络法定量模型的相关系数 R^2 为 0.974 2, 预测均方根误差(RMSEP)为 0.132。采用 PLS 和人工神经网络法均可以实现汽油中甲缩醛的含量检测,对快速检测油品质量起到了积极作用,对含甲缩醛汽油的推广及其品质保证有重要的作用。同时,中红外光谱吸收法分析速度快,检测单个样品仅需 2~4 min,并且操作简单,分析成本低,重复性好,结果准确,在油类检测行业中具有较为广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 方泽军,纪常伟,汪硕峰. 汽油添加剂的现状与发展趋势[J]. 小型内燃机与摩托车,2008,37(1):87-91.
- [2] 严衍祿. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京:中国轻工业出

目标化合物得到选择性的富集分离,在进行分子印迹固相萃取时,选择的淋洗溶剂应尽可能地消除非特异性相互作用而最大限度地保留特异性相互作用。为此分别考查了混标水溶液上样在空气吹干后用 4 mL 不同异丙醇质量分数的二氯甲烷溶液淋洗目标化合物的回收率,结果如表 1 所示。从表 1 中可以看出,用 3% 异丙醇的二氯甲烷淋洗时,印迹柱目标化合物损失 < 10%,而非印迹柱中可淋洗掉 40% ~ 70% 的目标化合物;当异丙醇质量分数为 4% 时,虽然可消除掉 60% 以上的非特异性相互作用,但印迹柱目标化合物损失亦达 30% 以上,因此 4 mL 3% 异丙醇的二氯甲烷溶液是理想的淋洗溶剂。1 mL 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混标水溶液印迹柱上样,4 mL 3% 异丙醇的二氯甲烷溶液淋洗后,用不同体积甲醇洗脱后目标化合物的回收率如表 2 所示。由表 2 可知,随甲醇体积增加,目标化合物洗脱回收率增大;当甲醇体积 > 3 mL 时,目标化合物洗脱回收率 > 80% 并保持稳定。故选 4 mL 甲醇为洗脱溶剂。

表 1 不同异丙醇质量分数的二氯甲烷溶液淋洗回收率 %

异丙醇在二氯甲烷中质量分数/%	苯并三唑	5-甲基苯并三唑	5-氯苯并三唑	5,6-二甲基苯并三唑
MIP	2	7.3	—	—
	3	9.6	3.0	33.0
	4	31.7	36.6	22.4
NIP	2	37.5	44.4	36.0
	3	43.9	67.4	40.9
	4	56.2	83.3	52.7

表 2 甲醇体积对洗脱回收率的影响 %

甲醇体积/mL	苯并三唑	5-甲基苯并三唑	5-氯苯并三唑	5,6-二甲基苯并三唑
1	58.1	54.0	33.1	41.8
2	79.3	79.8	57.3	52.1
3	85.1	85.4	80.4	79.0
4	87.5	84.3	82.5	81.0

2.1.2 上样体积及 pH 对回收率的影响

以含目标化合物 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的去离子水混标为上样溶液,考查了上样体积及上样溶液 pH 对回收率的影响,如表 3、表 4 所示。结果表明,在 pH 为 6 的中性介质中,5-甲基苯并三唑、5,6-二甲基苯并三唑及 5-氯-苯并三唑随上样体积增大,回收率变化不大,在上样体积为 300 mL 时,回收率仍达 80% 以上。而苯并三唑随着上样体积的增大回收率有所下

降。当上样体积 > 100 mL 时,回收率 < 50%。这主要是因为 4 个化合物中苯并三唑的极性最强,因此当上样体积 > 100 mL 时发生了穿透,导致回收率下降。

表 3 上样体积对回收率的影响 (pH = 6) %

上样体积/mL	苯并三唑	5-甲基苯并三唑	5-氯苯并三唑	5,6-二甲基苯并三唑
50	79.8	103.6	96.6	94.8
100	71.0	79.8	81.9	80.4
150	48.0	79.1	75.9	73.1
200	40.0	85.9	80.0	75.8
300	35.0	80.9	79.0	76.0

表 4 pH 对回收率的影响 (上样体积为 100 mL) %

	苯并三唑	5-甲基苯并三唑	5-氯苯并三唑	5,6-二甲基苯并三唑
pH = 3	93.0	89.0	92.0	98.0
pH = 6	89.4	91.9	86.4	93.4
pH = 9	43.0	45.4	42.6	54.0

上样溶液为中性及酸性条件下,目标化合物的回收率几乎没什么变化,而弱碱性条件下回收率明显下降,这是由于在碱性条件下目标化合物本身有可能成盐,而且识别位点的羧基也会发生解离,这势必影响目标化合物与识别位点的羧基间的氢键作用,使目标化合物的保留减弱,回收率下降。

因此,优化后的分子印迹固相萃取条件为:水样调 pH 为 3 后上样,吹干后用 4 mL 3% 异丙醇的二氯甲烷溶液淋洗,然后 4 mL 甲醇洗脱。

2.2 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,考查了苯并三唑、5-甲基苯并三唑、5,6-二甲基苯并三唑、5-氯-苯并三唑在 0.06 ~ 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度范围内的线性关系和相关系数,并以 4 种目标化合物 S/N = 3 时的进样浓度定义为检出限。回收率的测定通过向空白自来水样中添加高、中、低 3 个浓度水平的混标溶液进行测定,每个质量浓度样品平行分析 3 次,结果见表 5。实验结果表明,目标化合物在 0.06 ~ 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好,相关系数均 > 0.99。空白自来水样加标回收率为 75.8% ~ 92.9%;相对标准偏差 (RSD, $n = 3$) 为 2.3% ~ 8.6%。仪器检出限为 0.9 ~ 2.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

表5 方法的线性范围、线性方程、相关系数、添加回收率($n=3$)、精密度及检出限

化合物	线性范围/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	线性方程	添加质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率/ %	相对标准偏差/ %	检出限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
苯并三唑	0.06 ~ 30	$A = 28.74C + 0.1403$ $R^2 = 0.9986$	1	75.8	8.6	0.9
			5	77.3	7.0	
			20	76.5	6.2	
5-甲基苯并三唑	0.06 ~ 30	$A = 25.12C + 0.1102$ $R^2 = 0.9997$	1	81.2	6.5	1.2
			5	87.8	2.7	
			20	91.2	2.3	
5-氯苯并三唑	0.06 ~ 30	$A = 20.21C + 0.1502$ $R^2 = 0.9948$	1	79.2	3.8	2.1
			5	83.4	6.1	
			20	89.6	3.4	
5,6-二甲基苯并三唑	0.06 ~ 30	$A = 20.02C + 0.7832$ $R^2 = 0.9956$	1	81.2	4.5	2.2
			5	86.8	6.9	
			20	92.9	2.5	

注:A为峰面积;C为质量浓度, mg/L 。

2.3 实际水样的测定

用所建立的方法对大连自来水及太子河鞍山段下游的水样进行测定,并与HLB固相萃取方法对比,结果如图1所示。自来水为2013年6月17日采自实验室。太子河的水样采自表层水,采样日期为2013年6月30日,于4℃储存。分析结果表明,4种目标化合物在自来水中均未检出,在太子河鞍山段下游的水样中检出苯并三唑(MISPE:4.62 $\mu\text{g/L}$,HLB-SPE:4.80 $\mu\text{g/L}$)、5-甲基苯并三唑(MISPE:0.85 $\mu\text{g/L}$,HLB-SPE:0.90 $\mu\text{g/L}$)。从测定结果看,该方法与HLB固相萃取方法相近,但选择性更好,萃取过程中消除了大量基质干扰成分,得到的色谱图更加清洁,更有利于定量分析。

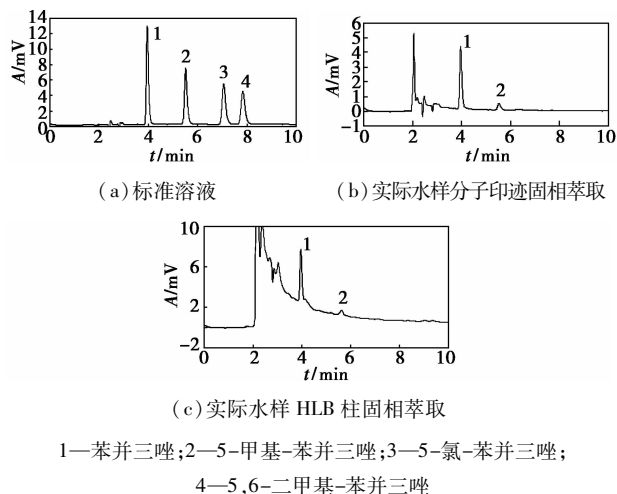


图5 苯并三唑类化合物的HPLC色谱图

3 小结

以合成的分子印迹聚合物为富集净化材料,建立了环境水样中苯并三唑类衍生物分子印迹固相萃取高效液相色谱测定方法。该方法灵敏度高、准确度高、选择性更好,样品经富集净化后得到的色谱图更加清洁,更有利于复杂水样中苯并三唑类衍生物的定量分析。

参考文献

- [1] Weiss S, Jakobs J, Reemtsma T. Discharge of three benzotriazole corrosion inhibitors with municipal wastewater and improvements by membrane bioreactor treatment and ozonation[J]. Environ Sci Technol, 2006, 40: 7193–7199.
- [2] Lei W, Alexandros G A, Hyo-Bang M, et al. Benzotriazole, benzothiazole, and benzophenone compounds in indoor dust from the united states and east asian countries[J]. Environ Sci Technol, 2013, 47: 4752–4759.
- [3] Liu Y S, Ying G G, Shareef A, et al. Occurrence and removal of benzotriazoles and ultraviolet filters in a municipal wastewater treatment plant[J]. Environ Pollut, 2012, 165: 225–232.
- [4] Stefan W, Thorsten R. Determination of benzotriazole corrosion inhibitors from aqueous environmental samples by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2005, 77: 7415–7420.
- [5] Achim K, Martin J, Thorsten R. Occurrence, sources, and fate of benzothiazoles in municipal wastewater treatment plants[J]. Environ Sci Technol, 2005, 39: 3792–3798.
- [6] Janna H, Scrimshaw M D, Williams R J, et al. From dishwasher to tap? xenobiotic substances benzotriazole and tolyltriazole in the environment[J]. Environ Sci Technol, 2011, 45: 3858–3864.
- [7] Carmen D, Carolina R C, Josep M B. Determination of benzothiazoles and benzotriazoles by using ionic liquid stationary phases in gas chromatography mass spectrometry. Application to their characterization in wastewaters[J]. J Chromatogr A, 2012, 1230: 117–122.
- [8] Alexandros G A, Anna A B, Qian W, et al. Determination of benzotriazoles and benzothiazoles in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2013, 85: 441–448.
- [9] Pena M T, Vecino-Bello X, Casais M C, et al. Optimization of a dispersive liquid-liquid microextraction method for the analysis of benzotriazoles and benzothiazoles in water samples[J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 402: 1679–1695.
- [10] Clara H L, Francesco B, Kathryn L L, et al. Development of a solid-phase extraction liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for benzotriazoles and benzothiazoles in wastewater and recycled water[J]. J Chromatogr A, 2013, 1299: 48–57.
- [11] 魏艳玲, 张嘉慧, 贺倩倩, 等. 分子印迹固相萃取-高效液相色谱法同时测定鸡血浆中环丙氨嗪和三聚氰胺残留[J]. 分析试验室, 2011, 30(8): 92–96.
- [12] 蔡亚歧, 牟世芬. 分子印迹固相萃取及其应用[J]. 分析测试学报, 2005, 24(5): 116–121. ■