

固相萃取-高效液相色谱法测定地表水中 4种紫外吸收剂的含量

朱绍华, 丁利, 龚强, 焦艳娜, 付善良, 成婧, 王利兵*

(湖南出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 国家食品安全检测重点实验室, 食品安全科学技术湖南省重点实验室,
长沙 410004)

摘要: **目的** 建立固相萃取-高效液相色谱方法检测地表水中4种紫外吸收剂含量的方法。**方法** 采用固相萃取方法净化并浓缩大体积的样品, 优化固相萃取条件, 用高效液相色谱法检测4种紫外吸收剂的含量, 并计算方法的线性范围、回收率、检出限和精密度等参数, 并应用本方法检测湘江水和池塘水中紫外吸收剂的含量。**结果** 通过应用固相萃取前处理样品和高效液相色谱法检测样品, 本方法检测低限(LOD)达到了2.2~3.7 $\mu\text{g/L}$, 线性范围0.100~100 $\mu\text{g/mL}$, 回收率72.6%~93.3%, 相对标准偏差(RSD)2.61%~4.37%。**结论** 本方法简便、快速、稳定, 能够满足实际检测的需要, 可以为地表水中危害因子的检测和监控提供技术支持。**关键词:** 紫外吸收剂; 地表水; 固相萃取法; 高效液相色谱法

Determination of 4 kinds of ultra-violet absorbents in surface water by solid phase extraction-high performance liquid chromatography

ZHU Shao-Hua, DING Li, GONG Qiang, JIAO Yan-Na, FU Shan-Liang, CHENG Jing, WANG Li-Bing*

(Technology Center of Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, State Key Laboratory of Food Safety Testing, Hunan Key Laboratory of Food Safety Science & Technology, Changsha 410004, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 4 kinds of ultra-violet (UV) absorbents in surface water by solid phase extraction-high performance liquid chromatography (SPE-HPLC). **Methods** The samples were purified and concentrated by solid phase extraction (SPE) after the optimization of solid phase extraction conditions. Four kinds of ultra-violet absorbents were detected by HPLC and the range of linearity, recovery, limits of detection and relative standard deviation were calculated. The content of ultra-violet absorbent in the Xiangjiang river water and pond water were determination by the established method. **Results** The ranges of linearity for the 4 compounds were obtained between 0.100~100 $\mu\text{g/mL}$ with good correlation coefficients. The limits of detection (LODs) were in the range of 2.2~3.7 $\mu\text{g/L}$. The spiked recoveries were in the range of 72.6%~93.3% with the relative standard deviations of 2.61%~4.37%. **Conclusion** The established method is simple, rapid and stable, and the accuracy and sensitivity can meet the requirement for the determination of the ultra-violet absorbents in surface water. It can provide technical support for the detection and monitoring risk factors in surface water.

KEY WORDS: ultra-violet absorbents; surface water; solid phase extraction; high performance liquid chromatography

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2012AA06A303)

Fund: Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (2012AA06A303)

*通讯作者: 王利兵, 研究员, 主要研究方向为食品安全及检验检疫安全。E-mail: Wanglb@126.com

*Corresponding author: WANG Li-Bing, Researcher, Technology Center of Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Changsha 410004, China. E-mail: Wanglb@126.com

1 引言

紫外线是一种电磁波, 地球上的紫外线大部分来自太阳, 紫外线具有独特性质, 给人类带来许多有益之处, 如消毒杀菌、促进植物生长、体内维生素 D 的生成、骨骼发育等, 但紫外线也能造成伤害和损失。紫外线经由皮肤吸收, 会伤害 DNA, 当 DNA 遭受破坏, 细胞会因而死亡或是发展成不能控制的癌细胞, 这就是瘤形成的初期。紫外线已被确定与许多疾病的产生有关, 如皱纹、晒伤、白内障、皮肤癌、视觉损害与免疫系统的伤害等。紫外线不仅对人体和生物会造成伤害, 还会对人们使用到的材料和工具造成损伤, 如使油漆涂料褪色, 使塑料老化变脆等。因此为了避免和减少紫外线造成的伤害和损失, 紫外吸收剂的应用越来越广泛。

紫外线吸收剂也称为光稳定剂, 可吸收阳光及荧光光源中的紫外线部分, 而本身不发生变化。紫外吸收剂吸收高能量的紫外线, 使之变为无害能量, 达到减少或消除紫外线危害的目的, 紫外吸收剂广泛应用在人们生活的各方面, 如化妆品、油墨、涂料、塑料、纺织品中, 不可避免地会通过各种途径进入雨水、生活污水、工业污水中, 进而进入河水、湖水等地表水中。紫外吸收剂大量进入地表水中, 会影响生物和人体的健康^[1-3]。对紫外吸收剂进行定量检测和分析是开展相关研究的基础, 然而相关的检测方法的研究还不多, 文献报道多是化妆品、油墨等中紫外吸收剂的检测, 地表水等环境中紫外吸收剂的检测方法研究还很缺乏。据文献报道, 紫外吸收剂的定性、定量方法有很多, 包括高效液相色谱法(HPLC)^[4-7]和气相色谱法^[8-10]。这些方法的前处理方法简单, 没有浓缩净化样品, 无法满足检测样品复杂、检测浓度极低的要求。

本文研究在地表水中 4 种紫外吸收剂二苯酮-3(uv 9), 2-(5-氯-2-苯三唑基)-6-叔丁基对甲酚(uv 326), 2-(3,5-二叔丁基-2-羟苯基)-5-氯苯并三唑(uv 327), 2-(2-羟基-5-叔辛苯基)苯并三唑(uv 329)的测定方法, 并用固相萃取法进行净化浓缩, 方法操作简便、实际消耗少、净化效果好, 且方法的检测下限能够满足实际检测的要求。

2 材料与方法

2.1 材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 配有 DAD 检

测器(美国安捷伦公司); Caliper Turbo Vap II 全自动浓缩仪(美国 Caliper 公司); Mettler AE 240 分析天平(瑞士 Mettler 公司)。

甲醇(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 盐酸(分析纯, 长沙市裕丰化玻器械有限公司); 实验用水为经 Millipore Q 净化系统(美国 Millipore 公司)制备的去离子水。固相萃取柱 HLB(500 mg/6 mL, 美国 Waters 公司)。

二苯酮-3(uv 9), 纯度 95%, 2-(5-氯-2-苯三唑基)-6-叔丁基对甲酚(uv 326), 纯度 95%, 2-(3,5-二叔丁基-2-羟苯基)-5-氯苯并三唑(uv 327), 纯度 95%, 2-[2-羟基-5-叔辛苯基)苯并三唑(uv 329), 纯度 98%, 四种紫外吸收剂购自北京百灵威科技有限公司。

2.2 标准溶液的配制

标准储备液(500 $\mu\text{g/mL}$): 分别准确称取 25 mg(准确至 0.001 g)的 4 种目标化合物, 于不同的 50 mL 容量瓶中, 并用甲醇定容。

混合标准工作液(100 $\mu\text{g/mL}$): 分别取 4 种标准储备液各 10 mL, 至同一 50 mL 容量瓶中, 并用甲醇定容。

2.3 色谱条件

色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm), 流动相为水(A)-甲醇(B), 进样量为 10 μL , 流速为 0.8 mL/min, 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$, uv 326 和 uv 327 的检测波长为 347 nm, uv 9、uv 329 检测波长分别为 287 nm、337 nm。

2.4 样品处理

实际水样(500 mL)上样前先过 0.45 μm 滤膜, 用 0.1 mol/L 盐酸调节 pH 值至 5, 然后用 HLB 固相萃取柱(500 mg/6 mL)进行富集净化。上样前固相萃取柱依次用甲醇(6 mL \times 2)、水(6 mL \times 2)活化。样品溶液以 5 mL/min 的流速上样, 然后用 6 mL 5%甲醇水溶液淋洗, 最后用 6 mL 甲醇洗脱。洗脱液经温和氮气流吹至近干, 然后用 55%甲醇水溶液定容至 1 mL, 供 HPLC 测定。

3 结果与分析

3.1 色谱条件的优化

本研究选择 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm)作为色谱分离柱, 考察了不同流

动相如乙腈-水体系、甲醇-水体系等对目标化合物分离度的影响。2 种流动相在不同的洗脱梯度条件下都能够完成 4 种不同化合物的分离, 且峰型和分离度都能够满足要求, 考虑到成本和环境友好等原因, 选择了甲醇-水作为流动相, 色谱洗脱梯度如表 1 所示。标准溶液色谱峰如图所 1 示。

表 1 4 种紫外吸收剂色谱分离流动相梯度
Table 1 The mobile phase condition of 4 kinds of ultra-violet absorbents

时间(min)	A(水)	B(甲醇)
0	80%	20%
2	65%	35%
5	35%	65%
10	1%	99%
29	1%	99%
30	80%	20%
35	80%	20%

3.2 固相萃取条件的优化

3.2.1 固相萃取柱的选择

为了提高水样中目标化合物的检测灵敏度, 必须适当提高样品的浓缩倍数, 但是样品浓缩倍数受限于 SPE 小柱的类型和容量。本研究根据文献报道, 采用美国 Waters 公司的 Oasis HLB 小柱(500

mg/6 mL), 流速采用其建议的 5 mL/min。以过滤后的河水为基底、各紫外吸收剂的加标质量浓度为 10 ng/mL, 考察水样的过柱体积。上样体积分别为 200、500、700 mL 含目标化合物 10 ng/mL 的水溶液时, 在考察的体积范围内目标化合物的回收率变化很小, 没有发生穿透现象, 因此实际样品测定时可以大体积上样富集, 本研究采用 500 mL 样品富集。

3.2.2 样品溶液 pH 值的影响

根据 HLB 柱的特点, 样品溶液 pH 值对固相萃取柱的吸附性能有极大的影响, 通常酸性溶液通过 HLB 柱后的吸附效果要好于中性或是碱性溶液。因此考察了不同 pH 值条件下, 样品溶液通过固相萃取柱后目标化合物的回收率。从图 2 中可以发现 pH 值大于 6 时, 除 uv 9 外的 3 种化合物的回收率都大为降低; pH 值小于 6 时, 目标化合物的回收率都较为稳定; pH 值为 5 时, 4 种化合物的回收率相对最高。因此, 选择 pH=5 的样品溶液上样, 固相萃取柱的萃取效果最好。

3.2.3 淋洗溶液及洗脱溶液的影响

为了消除其他化合物的干扰作用, 考察了 6 mL 不同甲醇含量的水溶液作淋洗溶剂对目标化合物的淋洗效果。从图 3 可以看出, 随着甲醇含量的增大, 4 种化合物的回收率都有所下降, 因此实验中选择用 6 mL 5% 甲醇水溶液为淋洗溶剂。

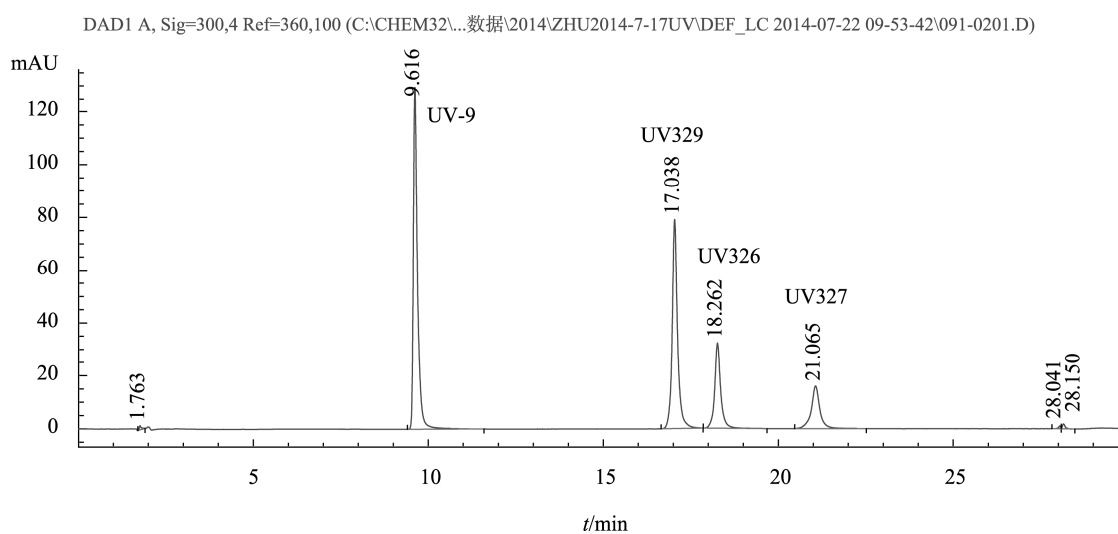


图 1 4 种紫外吸收剂的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of 4 kinds of ultra-violet absorbents

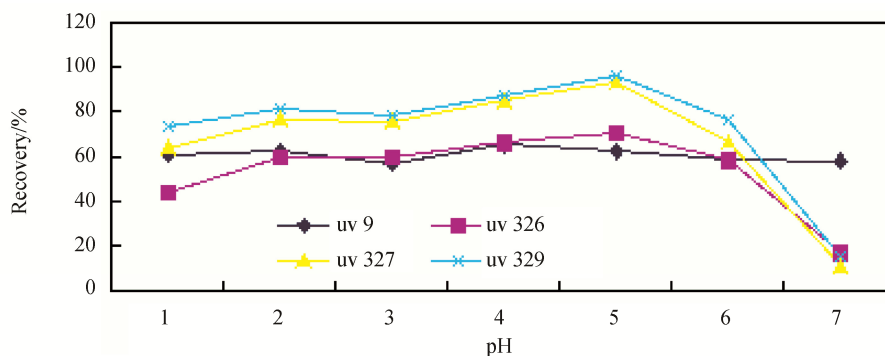


图2 4种紫外吸收剂经过固相萃取柱的回收率与pH值的关系

Fig. 2 The relationship of recoveries and pH of 4 kinds of ultra-violet absorbents by solid phase extraction column

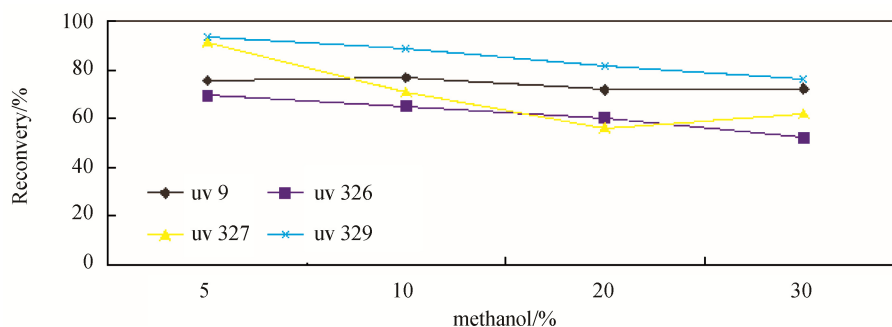


图3 4种紫外吸收剂经过固相萃取柱的回收率与淋洗溶液中甲醇含量的关系

Fig. 3 The relationship of the recoveries and concentration of methanol in 4 kinds of ultra-violet absorbents by solid phase extraction column

洗脱溶液选择甲醇, 大于 5 mL 的甲醇都能够充分洗脱除 uv 9 外的 3 种目标化合物, 但 uv 9 用 10 mL 甲醇依然无法充分洗脱, 用 5% 氨水-甲醇作为洗脱溶剂, 4 种化合物都能够充分洗脱, 保证了回收率。因此综合考虑回收率等原因, 本研究选择 6 mL 5% 氨水-甲醇作为洗脱溶剂。

3.3 线性范围、回收率、检出限及精密度

在优化的色谱分析条件下, 考察了 4 种目标化合物的线性范围, 在 0.100~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内, 线性关系良好, 相关系数 0.9999, 见表 2。以信噪比(S/N) 为 3 时 4 种化合物的质量浓度为检出限。

3.4 实际样品的检测

应用本检测方法, 对 3 份湘江水、3 份池塘水共

6 个水样中 4 种紫外吸收剂的含量进行检测, 各紫外吸收剂都未检出。检测结果也说明紫外吸收剂对采样范围内地表水的污染还不明显。

4 结论

本研究利用固相萃取方法浓缩样品, 采用高效液相色谱法检测 uv 9、uv 326、uv 327、uv 329 4 种紫外吸收剂, 检测方法操作简便、快捷, 检出限除 uv 9 为 2.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 外, 其他 3 种化合物的检测下限都为 3.7 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。本方法为进一步研究地表水中紫外吸收剂迁移、降解及对生物和人体的毒性等提供了可行的检测方法, 并能够满足实际检测的需要, 并把此方法用于湘江水和池塘水中紫外吸收剂含量的检测。

表 2 检测方法的线性范围、回收率、检出限及精密度($n=6$)
Table 2 The ranges of linearity, recoveries, limits of detection and RSD ($n=6$) of the method

化合物	线性范围($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 r	添加水平/ $\mu\text{g/L}$	平均回收率/%	RSD/%	LOD($\mu\text{g/L}$)
uv 9	0.100~100	0.9999	4	72.6	3.07	2.2
			10	75.1	3.30	
			50	76.7	2.61	
uv 326	0.100~100	1.0000	4	75.0	4.37	3.7
			10	78.9	4.27	
			50	79.6	3.14	
uv 327	0.100~100	1.0000	4	85.2	3.45	3.7
			10	87.4	3.00	
			50	88.6	3.48	
uv 329	0.100~100	1.0000	4	89.2	4.35	3.7
			10	92.4	3.30	
			50	93.3	2.74	

参考文献

- [1] 张贵民. 化妆品防晒剂的研究进展及其安全性问题 [J]. 日用化学科学, 2003, 26(3): 23-25.
Zhang GM. Progress of cosmetic UV absorbers and their safety [J]. Deterg Cosmet, 2003, 26(3): 23-25.
- [2] Azurdia RM, Pagliaro JA, Rhodes LE. Sunscreen application technique in photosensitive patients: a quantitative assessment of the effect of education [J]. Photodermatol Photo, 2000, 16: 53-56.
- [3] 卫生部. 化妆品卫生规范 [M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2007.
Ministry of Health. Hygienic standard for cosmetics [M]. Beijing: Ministry of Health of the People's Republic of China, 2007.
- [4] 何乔桑, 徐娜, 李晶, 等. 高效液相色谱法测定化妆品中的 12 种紫外吸收剂 [J]. 色谱, 2011, 29(8): 762-767.
He QS, Xu N, Li J, *et al.* Determination of 12 sunscreen agents in cosmetics by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2011, 29(8): 762-767.
- [5] 艾连峰, 郭春海, 葛世辉, 等. 超高效液相色谱法同时测定食品接触材料与食品模拟物中 6 种紫外吸收剂[J]. 分析测试学报, 2011, 30(1): 13-17.
Ai LF, Guo CH, Ge SH, *et al.* Simultaneous determination of 6 ultraviolet absorbers in food contact materials and food simulants by ultra performance liquid chromatography [J]. J Instrum Anal, 2011, 30(1): 13-17.
- [6] 黄雄风, 刘绿叶, 许群, 等. 高效液相色谱法同时测定化妆品中的 11 种紫外吸收剂[J]. 分析化学, 2014, 42(12): 1846-1850.
Huang XF, Liu LY, Xu Q, *et al.* Simultaneous determination of eleven ultra-violet absorbers in cosmetics by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Anal Chem, 2014, 42(12): 1846-1850.
- [7] 孟宪双, 马强, 白桦, 等. 高效液相色谱法同时测定防晒类化妆品中 15 种紫外线吸收剂, 色谱, 2015, 33 (8):799-804.
Meng XS, Ma Q, Bai H, *et al.* Simultaneous determination of fifteen ultraviolet filters in sunscreen cosmetics by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2015, 33(8): 799-804.
- [8] 盛凤景, 王海峰, 吕超, 等. 全自动固相萃取及气相色谱-质谱联用法对环境水样中 9 种有机紫外防护剂及人工合成香料的测定[J]. 分析测试学报, 2008, 28(8): 900-904.
Sheng FJ, Wang HF, Lv C, *et al.* Simultaneous determination of 9 UV filters and synthetic musks in environmental aqueous sample by automatic solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2008, 28(8): 900-904.
- [9] 李建, 徐兰英, 薛舒文, 等. 分散液液微萃取-在线衍生化-气相色谱-质谱联用法检测环境水样品中紫外吸收剂[J]. 色谱, 2014, 32(10):1138-1143.
Li J, Xu LY, Xue SW, *et al.* Determination of ultraviolet filters in environmental aqueous samples by dispersive liquid-liquid

microextraction with online derivatization-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2014, 32(10): 1138-1143.

- [10] 薛建平. GC-MS 测定苯并三唑类紫外线吸收剂[J]. 印染, 2013, 39(6), 42-44.

Xue JP. Determination of benzotriazole ultraviolet absorber in textiles by GC-MS [J]. China Dyeing Finishing. 2013, 39(6): 42-44.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



朱绍华, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: ishaohua@foxmail.com



王利兵, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全与检验检疫安全。

E-mail: Wanglb@126.com