

高效液相色谱法测定饮用水中阿特拉津色谱条件的优化

陆文灵, 陈凤松, 李会兰*

云南省生态环境厅驻文山州生态环境监测站, 云南 文山

收稿日期: 2023年3月5日; 录用日期: 2023年4月6日; 发布日期: 2023年4月13日

摘要

用Agilent 1260 infinity II高效液相色谱仪, 色谱柱: PlusC18 (200 mm × 4.6 mm × 5 μm), 在紫外检测波长225 nm, 进样量10 μl的条件下, 通过正交实验的方式, 优化阿特拉津的色谱条件。确定流动相比例: 甲醇/水 = 60/40, 柱温: 40℃, 流速: 1.2 ml/min的条件下, 阿特拉津出峰时间更短, 分离度更好, 能满足于饮用水中阿特拉津的测定。

关键词

高效液相色谱, 阿特拉津, 正交实验, 色谱条件, 饮用水

Optimization of Chromatographic Conditions for the Determination of Atrazine in Drinking Water by HPLC

Wenling Lu, Fengsong Chen, Huilan Li*

The Ecological and Environmental Monitoring Station of DEEY in Wenshan, Wenshan Yunnan

Received: Mar. 5th, 2023; accepted: Apr. 6th, 2023; published: Apr. 13th, 2023

Abstract

Agilent 1260 infinity II High Performance Liquid Chromatograph and the Chromatographic column of PlusC18 (200 mm × 4.6 mm × 5 μm) is used to determine atrazine in drinking water. At the UV detection wavelength of 225 nm, and the sample volume of 10 μl, the HPLC conditions of atra-

*通讯作者。

zine were optimized by orthogonal experiment. Under the conditions of mobile phase ratio: methanol/water = 60/40, column temperature: 40°C, flow rate: 1.2 ml/min, the peak time of atrazine is shorter and the resolution is better, which can meet the requirements for the determination of atrazine in drinking water.

Keywords

HPLC, Atrazine, Orthogonal Experiment, Chromatographic Conditions, Drinking Water

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

阿特拉津又称莠去津, 是内吸选择性苗前、苗后的除草剂, 属于一种常见致畸致癌的有机物质, 但又被广泛应用于玉米、高粱、林地、草地和甘蔗等防除阔叶杂草和单子叶杂草[1]。阿特拉津不容易降解, 长期使用会积累在土壤中, 通过地表径流以及沉降等多种方式流入水体, 造成部分地区饮用水有检出, 严重影响人们的身体健康[2]。我国大中小城市饮用水已把阿特拉津纳入常规监测指标, 在《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)标准限值 0.003 mg/L, 《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006)标准限值 0.002 mg/L [3] [4]。

目前国家出台的环境监测标准方法中, 阿特拉津水质的测定可以采用高效液相色谱法和气相色谱法两种方法分析。两种方法均具有分析速度快、分离效率高、灵敏度高和易于自动化等优点。而高效液相色谱法不破坏试样本身, 制备样品较为便利, 弥补气相色谱需要进行衍生等这方面的不足[5]。

原环境保护部在 2010 年发布的《水质 阿特拉津的测定 高效液相色谱法》(HJ 587-2010)的色谱条件: 色谱柱为反相 ODS 柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 流动相为甲醇/水 = 70/30, 流速为 0.8 ml/min, 紫外监测波长为 225 nm, 柱温为 40°C, 进样量为 10 μl [6]。

本文用带有紫外波长检测器的 Agilent 1260 infinity II 液相色谱仪和色谱柱为 Plus C18 (200 mm × 4.6 mm × 5 μm)参照《水质 阿特拉津的测定 高效液相色谱法》(HJ 587-2010)色谱条件进行进样分析, 目标化合物阿特拉津不能与杂峰彻底分离。研究认为, 标准方法的色谱条件仅供参考, 不同高效液相色谱仪和不同色谱柱需进行条件优化才能达到分离效果。在色谱柱、检测波长和进样量相对固定的情况下, 流动相比例、流速和柱温是影响目标化合物分离度的主要因素[7]。本文采用正交实验的方式对流动相比例、流速和柱温进行优化选择, 并开展相关指标的验证及饮用水实际样品的分析, 进而来确定优化条件下的可行性。

2. 实验部分

2.1. 实验试剂和标准溶液

甲醇和二氯甲烷试剂均为德国默克公司色谱级; 实验用水为娃哈哈纯净水; 标准溶液为生态环境标样所 100 μg/μL 阿特拉津标准溶液; 氯化钠和无水硫酸钠为分析纯, 在 400°C 烘干 4 小时。

2.2. 实验设备和仪器

高效液相色谱仪: 带紫外波长检测器的 Agilent 1260 infinity II 液相色谱仪; 色谱柱为月新科技 Plus C18

(200 mm × 4.6 mm × 5 μm)，预处理设备为液液萃取振荡仪和浓缩仪，以及常规的实验玻璃器材。

2.3. 色谱条件设定方法

采用 0.03 μg/μL 的阿特拉津标准溶液，进入 Agilent 1260 infinity II 高效液相色谱仪，色谱柱为 Plus C18 (200 mm × 4.6 mm × 5 μm)，其他条件参照《水质 阿特拉津的测定 高效液相色谱法》(HJ 587-2010)色谱条件设定，得到的谱图见图 1。从图 1 可以看出，目标化合物阿特拉津在该波长下有响应，阿特拉津和杂峰不能彻底分开，而新的色谱柱在低浓度进样一般很少存在色谱柱过载。因此，该色谱柱可以使用，而紫外波长和进样量可以参照标准方法的条件直接确定。在色谱柱为 Plus C18 (200 mm × 4.6 mm × 5 μm)、紫外检测波长为 225 nm 和进样量为 10 μl 已经固定的情况下，流动相比例、流速和柱温对目标化合物分离效果起到关键作用，可采用正交实验的方式进行优化选择。

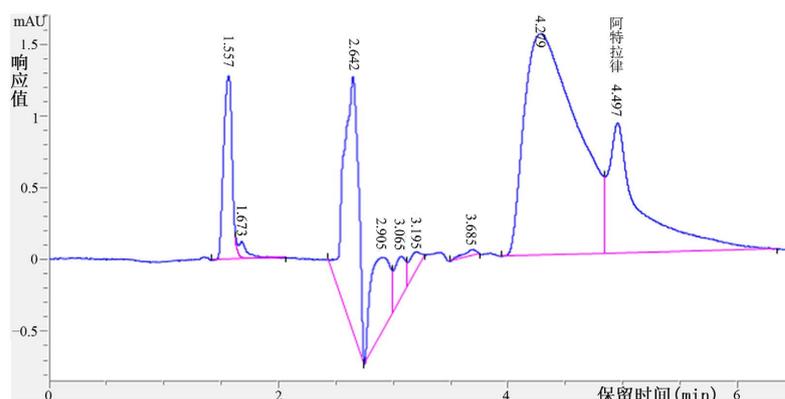


Figure 1. Chromatogram before optimization of chromatographic conditions

图 1. 色谱条件优化前的色谱图

3. 结果与讨论

3.1. 流动相比例、流速及柱温选择

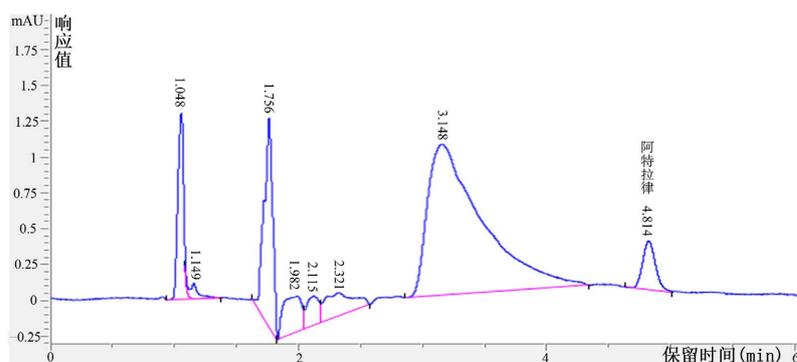


Figure 2. Chromatogram after optimization of chromatographic conditions

图 2. 色谱条件优化后的色谱图

采用 0.03 μg/μL 的阿特拉津标准溶液，进入 Agilent 1260 infinity II 高效液相色谱仪，色谱柱：Plus C18 (200 mm × 4.6 mm × 5 μm)，紫外检测波长 225 nm，进样量 10 μl。以保留时间、分离度以及压力为目标，以流动相比例、流速及柱温为三个变量因素，每个因素设定 4 个水平。以 A16 (43) 正交实验表设计实验，结果见表 1。通过表 1 可以看出，流动相比例甲醇/水 = 60/40 时，分离度普遍较好，流速越快

保留时间短, 温度低的压力相对高。综合考虑分离度、时间以及压力的影响, 确定本次实验的三个变量: 流动相比比例为甲醇/水 = 60/40, 柱温为 40℃, 流速为 1.2 ml/min。此色谱条件谱图见图 2。

Table 1. A16 (43) Orthogonal experiment condition factor table

表 1. A16 (43) 正交实验条件因素表

条件	因素			结果		
	柱温(°C)	流速(ml/min)	甲醇/水	保留时(min)	分离度	压力(bar)
1	25	0.6	60/40	10.852	3.63	137
2	25	0.8	65/35	6.415	2.24	174
3	25	1	70/30	4.212	0.92	202
4	25	1.2	75/25	3.017	0.77	223
5	30	0.6	65/35	8.387	2.09	119
6	30	0.8	60/40	7.802	3.58	168
7	30	1	75/25	3.557	0.69	173
8	30	1.2	70/30	3.477	1.51	221
9	35	0.6	70/30	6.839	1.01	104
10	35	0.8	75/25	4.401	0.62	128
11	35	1	60/40	6.040	3.54	195
12	35	1.2	65/35	4.110	2.37	219
13	40	0.6	75/25	5.747	0.50	93
14	40	0.8	70/30	4.947	1.02	129
15	40	1	65/35	4.698	2.09	171
16	40	1.2	60/40	4.814	3.52	193

3.2. 标准曲线和方法检出限验证

Table 2. Calibration curve results table

表 2. 校准曲线结果表

编号	1	2	3	4	5
浓度(μg/mL)	0.030	0.050	0.100	0.500	1.00
响应值(峰面积)	2.413	4.359	9.199	43.146	86.132
线性和相关系数	Y = 86.06x + 0.1115			R = 0.9999	

Table 3. Detection limit result table

表 3. 检出限结果表

序号	测定值(μg/L)	标准偏差 S	自由度 t	检出限(μg/L)	测定下限(μg/L)
1	0.382				
2	0.402				
3	0.387				
4	0.410				
5	0.377	0.020	2.998	0.06	0.24
6	0.420				
7	0.377				
8	0.430				

标准曲线采用《水质 阿特拉津的测定 高效液相色谱法》(HJ 587-2010)的规定, 配制 0.030、0.050、0.100、0.500、1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准系列, 依次进入通过正交实验确定色谱条件的液相色谱仪, 结果见表 2。从表中可以看出, 相关系数 $R = 0.9999$, 满足方法中 $R \geq 0.999$ 的要求。

参照《环境监测分析方法标准制订技术导则》(HJ 168-2020)的规定[8], 由于空白试验中未检出目标物, 以方法检出限的 5 倍 0.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的阿特拉津空白加标, 按照《水质 阿特拉津的测定 高效液相色谱法》(HJ 587-2010)要求, 用二氯甲烷液液萃取并浓缩定容后进入已通过正交实验确定色谱条件的液相色谱仪, 平行测定 8 次, 计算标准偏差, 按公式 $\text{MDL} = t(n - 1, 0.99) \times S$ 计算该方法的检出限, 结果见表 3。计算的检出限为 0.06 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、测定下限为 0.24 $\mu\text{g}/\text{L}$, 小于方法中检出限为 0.08 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、测定下限为 0.32 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

3.3. 精密度和正确度验证

采用低中高三种不同的空白加标浓度, 用二氯甲烷液液萃取并浓缩定容后进入已通过正交实验确定色谱条件的液相色谱仪, 分别平行测定 8 次, 分别计算平均值、标准偏差及加标回收率, 结果见表 4。从表中得, 相对标准偏差 2.5%~6.8%, 加标回收率为 90.1~110%, 满足标准方法中实验室内相对标准偏差在 1.7%~15%, 空白加标回收率在 70%~120%的要求。

Table 4. Precision and correctness result table

表 4. 精密度和正确度结果表

空白加标 0.40 $\mu\text{g}/\text{L}$				空白加标 1 $\mu\text{g}/\text{L}$				空白加标 10 $\mu\text{g}/\text{L}$			
测定值 $\mu\text{g}/\text{L}$	均值 $\mu\text{g}/\text{L}$	RSD (%)	加标回收 率(%)	测定值 $\mu\text{g}/\text{L}$	均值 $\mu\text{g}/\text{L}$	RSD (%)	加标回收率 (%)	测定值 $\mu\text{g}/\text{L}$	均值 $\mu\text{g}/\text{L}$	RSD (%)	加标回收 率(%)
0.382			95.5	1.11			110	9.88			98.8
0.402			100	0.995			99.5	9.56			95.6
0.387			96.8	0.926			92.6	9.38			93.8
0.410	0.398	5.0	102	1.04	0.980	6.8	104	9.62	9.46	2.5	96.2
0.377			94.2	0.933			93.3	9.39			93.8
0.420			105	0.938			93.8	9.01			90.1
0.377			94.2	0.984			98.4	9.38			93.8
0.430			108	0.918			91.8	9.45			94.5

3.4. 实际样品验证

Table 5. Real sample test result table

表 5. 实样测试结果表

本底值	加标 1 $\mu\text{g}/\text{L}$			
	测定值 $\mu\text{g}/\text{L}$	均值 $\mu\text{g}/\text{L}$	RSD (%)	加标回收率(%)
0	0.923			92.3
0	0.936			93.6
0	0.956			95.6
0	0.931	0.974	7.2	93.1
0	1.06			106
0	0.948			94.8
0	1.11			111
0	0.927			92.7

为了验证该优化条件下方法的可行性,采集饮用水布都河水库水样及加标水样分别进行 8 次测试,结果见表 5。由表 5 可知,布都河水库水样中未检出阿特拉津,加标样的相对标准偏差为 7.2%,加标回收率为 92.7%~111%。说明该方法精密度和加标回收率较为稳定,可行性较高,能够满足实际饮用水中环境监测分析要求。

4. 结论

通过正交实验的方式,优化阿特拉津的液相色谱条件。在 Agilent 1260 infinity II 高效液相色谱仪,色谱柱为 Plus C18 (200 mm × 4.6 mm × 5 μm),紫外检测波长为 225 nm,进样量为 10 μl,流动相比比例为甲醇/水 = 60/40,柱温为 40℃,流速为 1.2 ml/min 的条件下,阿特拉津出峰时间更短,分离度更好,标准曲线相关系数、检出限、精密度、正确度以及饮用水实样的测试均能满足《水质 阿特拉津的测定 高效液相色谱法》(HJ 587-2010)的要求,该色谱条件可以应用于饮用水中阿特拉津的测定。

参考文献

- [1] 刘协广,郭秦,高丁石,李钦存,等. 旱田化学除草实用技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017: 87-88.
- [2] 张晓君,马晓国,彭俊标,舒伟恒,王睿,等. 环境样品中阿特拉津的检测方法研究进展[J]. 理论检测化学分册, 2017(3): 119.
- [3] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 生活饮用水卫生标准: GB5749-2006 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [4] 国家环境保护总局,国家质量监督检验检疫总局. 地表水环境质量标准: GB3838-2002 [S]. 北京: 中国环境出版集团出版社, 2021.
- [5] 华中师范大学,陕西师范大学,东北师范大学,华南师范大学,北京师范大学,西南大学,等. 分析化学(下册)[M]. 第 4 版. 北京: 高等教育出版社, 2012: 340.
- [6] 环境保护部. 水质阿特拉津的测定高效液相色谱法: HJ 587-2010 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2011.
- [7] 王静,李迎芳,裴丽娟,晁红霞,王俊芬,等. 水中阿特拉津的自动固相萃取——高效液相色谱法测定[J]. 河南科学, 2013(31): 166.
- [8] 生态环境部. 环境监测分析方法标准制订技术导则 HJ 168-2020 [S]. 北京: 中国环境出版集团, 2021.