

文章编号: 1004-4353(2011)03-0249-05

HPLC-UV 法检测土壤中的 3-硝基苯并蒽酮

郭金芝, 丰硕, 金东日*

(延边大学理学院 化学系, 吉林 延吉 133002)

摘要: 建立了 HPLC-UV 法检测土壤中多环芳烃类物质 3-硝基苯并蒽酮的方法. 采用 on Ultimate® XB-C18 (5 μm , 150 mm \times 4.6 mm i. d.) 柱, 流动相为甲醇: 水=7:3(v/v), 流速为 0.5 mL/min, 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长为 391 nm. 在此色谱条件下, 3-硝基苯并蒽酮在 0.2~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内具有良好的线性关系, 最低浓度检测限为 78 ng/mL (S/N=3). 利用超声波萃取法对土壤中的 3-硝基苯并蒽酮进行了萃取, 并用 HPLC-UV 法测出了其含量.

关键词: 3-硝基苯并蒽酮; HPLC-UV; 土壤样品; 多环芳烃

中图分类号: X502

文献标识码: A

Determination of 3-nitrobenzanthrone in Surface Soil by HPLC-UV

GUO Jin-zhi, FENG Shuo, JIN Dong-ri*

(Department of Chemistry, College of Science, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: A HPLC-UV method for the determination of 3-nitrobenzanthrone (3-NBA) in surface soil was developed. HPLC analysis was performed on Ultimate® XB-C18 (5 μm , 150 mm \times 4.6 mm i. d.) with MeOH-water as the mobile phase. The flow rate kept at 0.5 mL/min, the column temperature was set to 30 $^{\circ}\text{C}$ and the detection wavelength was 391 nm. The linear range is 0.2-40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for 3-NBA. The detection limit is 7.8 ng/mL (S/N=3). Using ultrasonic extraction, 3-NBA in soil samples were extracted, and tested the content of 3-NBA by HPLC-UV.

Key words: 3-NBA; HPLC-UV; surface soil; PAHs

多环芳烃是最早被人类发现的一类环境致癌化合物, 它们种类多、数量大、分布广、异构体多, 主要来源于煤炭、石油、木材等有机物的热解和不完全燃烧^[1-2]. 3-硝基苯并蒽酮(3-NBA)是多环芳烃酮类化合物的一种, 最初由 Suzuki 等^[3]在柴油机的尾气颗粒物、空气颗粒的有机萃取物中发现. 后经实验证实, 3-NBA 广泛地存在于大气、土壤、沉积物、机动车尾气等环境介质中^[4]. 3-NBA 具有很强的致突变性, 不但会使组织出血, 还可以使肠壁的茸毛脱落并让肠壁变脆^[5]. 目前, 3-NBA 的检测方法有高效液相-化学发光法^[6]和 GC-

MS^[7]等. 另外, 还有将 3-NBA 还原为 3-氨基苯并蒽酮后对其进行高效液相-荧光^[8]分析的方法.

本文采用 HPLC 法, 优化 3-NBA 的分离条件, 建立了一种简便、快速地测定 3-NBA 的方法, 并考察了土壤样品中萃取 3-NBA 的预处理方法. 本方法样品预处理简单, 分析时间短, 可应用于土壤样品中 3-NBA 含量的测定.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

苯并蒽酮(质量分数不低于 99%)、硝基苯购

收稿日期: 2011-04-26

* 通信作者: 金东日(1965—), 男, 教授, 研究方向为环境分析.

于东京化成工业株式会社;浓硝酸、发烟硝酸、冰乙酸、二氯甲烷均为分析纯,购于北京化工厂;甲醇为色谱纯,乙醇、冰乙酸购于山东禹王实业有限公司。

HITACHI 液相色谱仪配备 L-7150 泵, L-7420 UV-VIS检测器, D-7500 记录仪,柱温箱, THERMO ODS HYPERSIL 色谱柱(150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm), AV-300 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司), Axima CFR MALDI-TOF-MS 质谱仪(日本岛津)。

1.2 3-NBA 的合成

3-NBA 化学结构式如图 1 所示。按照文献 [9] 的方法合成 3-NBA。合成方法如下:将苯并蒽酮 2.5 g (10.89 mmol) 溶解于 30 mL 硝基苯, 加入 4 mL (95.24 mmol) 浓硝酸, 40 °C 下搅拌 30 min; 冷却反应液, 分离出硝基苯并蒽酮(黄色固体)粗产物, 再分别用冰乙酸、二氯甲烷重结晶, 最终得到 3-NBA 黄色固体, 其纯度为 96.5%。HPLC-UV 检测(λ = 254 nm)。¹H NMR: δ = 7.7 (t, J = 7.4, 1H), 7.8 (t, J = 7.7, 1H), 8.0 (t, J = 7.4, 1H), 8.36 (d, J = 8.0, 1H), 8.41 (d, J = 8.2, 1H), 8.50 (d, J = 3.8, 1H), 8.53 (d, J = 5.0, 1H), 8.9 (d, J = 7.4, 1H), 9.0 (d, J = 8.7, 1H)。IR: ν = 1 334, 1 517, 1 666 cm⁻¹。MALDI-TOF-MS(基质为 CHCA): [M + H]⁺ = 276.2。

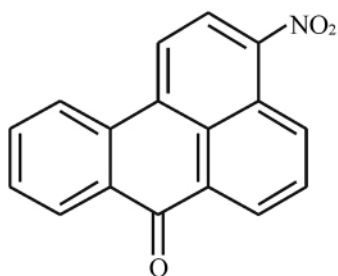


图 1 3-硝基苯并蒽酮的结构式

1.3 土壤样品取样

分别取延边大学停车场和延吉市某公交站附近的土壤作为空白和实际样品。土壤样品的取样方法为:先清除土壤表层覆盖的植物、大块土粒等杂质物质,再用铁锹垂直于地表面挖出一个断面,清除坑内多余的土粒,沿断面用锹薄切下一层,然后用塑封袋取回。将取回的土壤样品混匀,室温下放置 48 h 后研碎,通过 0.25 mm 孔径筛后放在塑封袋中,在避光处保存备用。

1.4 土壤样品预处理

取筛过的土壤样品 10 g, 加入 10 g 无水 Na₂SO₄, 用研钵研磨均匀, 放置一段时间;用超声波萃取法对土壤样品进行提取, 提取液用旋转蒸发仪旋至有少量液体剩余;取适量的 CH₂Cl₂ 冲洗烧瓶, 然后将液体完全转移至 15 mL 鸡心瓶中, 用氮气催干, 以甲醇定溶至 1 mL, 溶液过 0.45 mm 的滤膜, 待用。

1.5 回收率试样

在 10 g 空白样品(含 10 g 无水 Na₂SO₄)中, 分别加入 8 μg 和 20 μg 3-NBA, 混合均匀后放置一段时间。采用 1.4 样品预处理方法对其进行预处理。

1.6 色谱条件

色谱柱: ODS HYPERSIL (150 mm × 4.6 mm, i. d., 5 μm); 流动相为甲醇:水(7:3, v/v); 流速为 0.5 mL/min; 检测波长为 391 nm; 柱温为 30 °C; 记录仪纸速为 2.5 cm/min。

1.7 标准溶液配制

准确称取适量 3-NBA 标准品, 用甲醇配制成 40.00 μg/mL 的溶液作为储备液。使用时, 用流动相稀释成标准系列的浓度溶液, 经 0.45 μm 滤膜过滤后进行 HPLC-UV 分析。

2 结果与讨论

2.1 3-NBA 的色谱分析方法的建立

2.1.1 流动相 当甲醇和水、乙腈和水、甲醇和甲酸铵等作为流动相时, 均得到了尖而对称正态分布的 3-NBA 峰。本实验选择了甲醇:水 = 70:30(v/v) 为流动相。在此流动相条件下, 3-NBA 的出峰时间为 22.10 min。

2.1.2 流速 考察了流动相流速对 3-NBA 的色谱保留时间的影响。从图 2 可以看出, 随着流速的提高, 3-NBA 的保留时间变短。本实验流速选择为 0.50 mL/min。

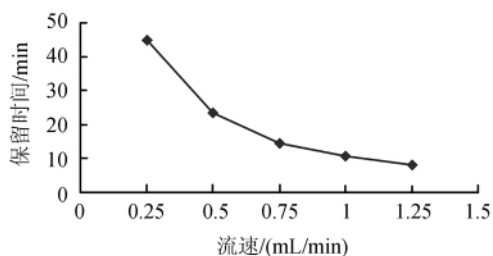


图 2 流速对保留时间的影响

2.1.3 柱温 考察了柱温对3-NBA的色谱保留时间的影响.由图3可知,3-NBA的保留时间随柱温的增加而降低,但变化不大.本实验中柱温选择为30℃.

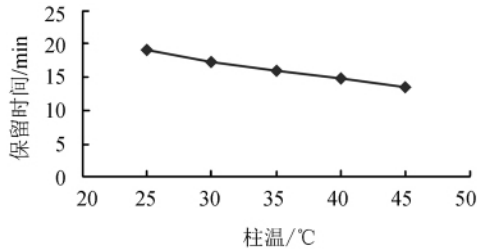


图3 柱温对保留时间的影响

通过以上实验,本文将3-NBA的色谱分离条件确定为:流动相为甲醇:水=7:3(v/v);流速为0.5 mL/min;检测波长为391 nm;柱温为30℃;进样量为20 μL.此条件下的3-NBA色谱图见图4.

2.1.4 线性关系及最低检测限 在0.2 μg/mL~40 μg/mL浓度范围内,3-NBA的峰面积与浓度成良好线性关系,其回归方程为 $Y = -519.04864 + 24697.94364X$ (其中Y表示峰面积,X表示浓度),相关系数为0.9999,最低检出限为7.8 ng/mL(S/N=3).

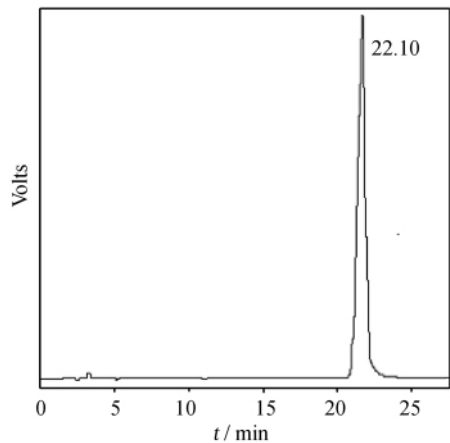


图4 3-NBAR的色谱图

2.1.5 精密度考察 在3-NBA浓度分别为1.0 μg/mL和20 μg/mL的条件下,连续进样6次(同一天),其RSD分别为1.2%和0.64%.

2.2 土壤样品前处理方法的选择

本文分别考察了索氏提取和超声波萃取两种前处理方法对3-NBA的提取效率情况.首先,考察了不同极性提取剂(甲醇,二氯甲烷,环己烷)对两种方法提取效率的影响(表1).由表1可知,两种方法以二氯甲烷为提取剂时,萃取效率最高.

表1 提取剂对提取效率的影响

提取方法	提取剂	提取剂极性	溶剂体积/mL	提取时间	回收率/%
索氏提取法	甲醇	5.1	250	6 h	21.7
	二氯甲烷	3.5			50.5
	环己烷	0.2			7.0
超声波萃取法	甲醇	5.1	250	15 min/次	37.8
	二氯甲烷	3.5			55.31
	环己烷	0.2			16.8

其次,考察了 Na_2SO_4 添加剂对上述两种方法提取效率的影响.图5表明,加入 Na_2SO_4 后,两种提取方法的提取率均明显增加(分别增加16%和24%).这可能是由于采集来的土壤样品在室温条件下放置(48 h),其水分未被完全去除而影响了萃取效率.

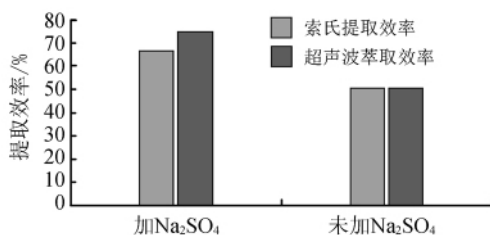


图5 Na_2SO_4 对萃取效率的影响

再次,考察了提取时间对两种提取方法萃取效率的影响.图6为提取时间对索氏提取效率的影响.提取时间从6 h(回收率为50.50%)到9 h(回收率为62.68%)时,提取效率增加明显,而从9 h到12 h(回收率为66.42%)时,提取效率变化不大.这可能是由于提取时间超过9 h后,3-NBA在土壤和萃取溶液之间逐渐达到了分配平衡.

图7为提取时间对超声波萃取效率的影响.由图7可知,虽然随提取时间的增加提取效率有所提高,但增加幅度不明显.当萃取时间为15、30、45 min时,萃取率分别为74.58%、78.31%、77.84%.

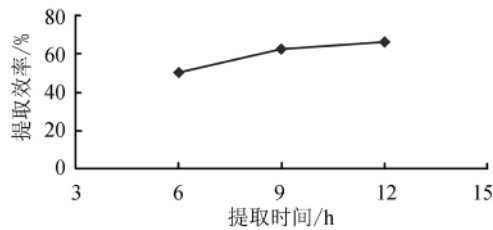


图 6 提取时间对索氏提取效率的影响

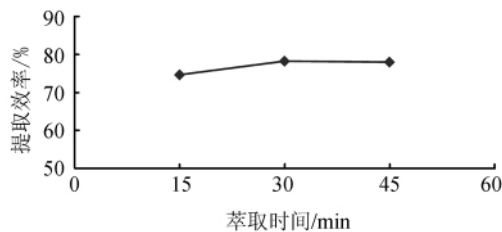


图 7 提取时间对超声波萃取效率的影响

通过以上前处理方法的考察可知:索氏提取法处理土壤样品中的 3-NBA 时,需要 12 h 以上,回收率为 66.42%;超声波萃取法处理土壤样品中的 3-NBA 时,仅需要不到 3 h 的时间,最佳回收率为 78.42%。这表明,对土壤中 3-NBA 的提取,超声波萃取法明显优于索氏提取法,所以本文在实验过程中选择超声波萃取法作为土壤样品的预处理方法,CH₂Cl₂ 为萃取剂,单次萃取时间为 30 min,并且加入 10 g Na₂SO₄。

表 2 分别列出了在 10 g 土壤中分别加入 8 mg 和 20 mg 3-NBA 后,超声波萃取法的回收率。结果表明,加标平均回收率均大于 75.98% ($n=3$),相对标准偏差均小于 2.40%。通过以上数据可以看出,超声波萃取法的回收率能够满足测定环境样品回收率的要求,因此此法可用于土壤样品中 3-NBA 的预处理方法。

表 2 3-NBA 的回收率及其重现性实验

加入量/ μg	检出量/ μg	平均检测量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
	16.02		80.11		
20	15.47	15.67	77.32	78.42	1.89
	15.57		77.84		
	6.24		78.03		
8	6.02	6.08	75.30	75.98	2.39
	5.97		74.60		

2.3 实际样品的测定

图 8(a) 是延吉市某公交站点附近地表土壤的色谱分析图。在 22.40 min 处,有色谱峰出现,

这与 3-NBA 标样保留时间相同。为了进一步证实,在已处理的土壤样品中加入 3-NBA 标样,混匀进样。结果如图 8(b) 所示。对比加入前后的色谱图可知,图 8(b) 在 22.40 min 处的峰增高,因此可认为图 8(a) 中 22.40 min 处的峰是 3-NBA 的色谱峰。该土壤中 3-NBA 的含量为 7.32 $\mu\text{g}/\text{g}$ ($n=3$)。

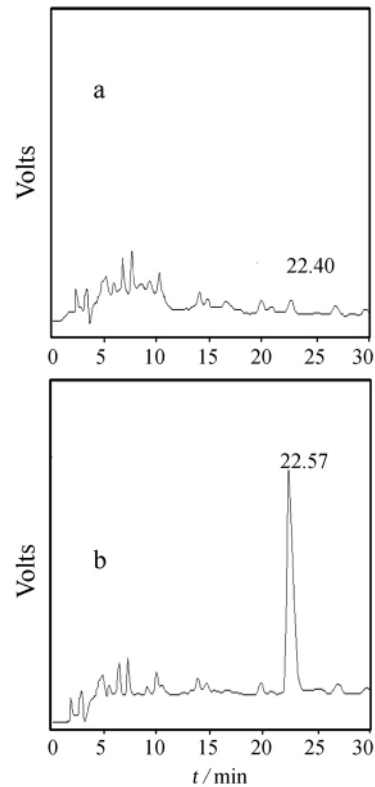


图 8 土壤样品色谱图

3 结论

利用超声波萃取法对土壤样品中的 3-NBA 进行了萃取,用 HPLC-UV 法测出被污染土壤中 3-NBA 的含量为 7.32 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。实验表明,与传统的索氏提取法相比,超声波萃取法处理土壤样品时所需时间短,萃取率高。本文所建立的超声波萃取法操作简便,不需要复杂、昂贵的设备,可用于被机动车尾气污染较严重的土壤等样品中的 3-NBA 的含量测定。

参考文献:

- [1] 陈颖军,盛国英,李正悦,等. 家用燃煤及烟气中多环芳烃 GC-MS 定量研究[J]. 分析测试学报, 2004, 23(5): 85-88.
- [2] 章汝平,陈克华,何立芳. 大气飘尘中多环芳烃的超声波萃取-恒能量同步荧光法测定[J]. 分析测试学

- 报,2007,26(6):830-832.
- [3] Enya T, Suzuki H, Watanabe T, et al. 3-nitrobenzanthrone, a Powerful Bacterial Mutagen and Suspected Human Carcinogen Found in Diesel Exhausts and Airborne Particulates[J]. Environ Sci Technol, 1997,31:2772-2776.
- [4] Volker M, Arlt. 3-nitrobenzanthrone, a Potential Human Cancer Hazard in Diesel Exhaust and Urban Air Pollution; a Review of the Evidence[J]. Mutagenesis, 2005,20(6):399-410.
- [5] Nagy E, Adachi S, Takamura-Enya T, et al. DNA Damage and Acute Toxicity Caused by the Urban Air Pollutant 3-nitrobenzanthrone in Rats; Characterization of DNA Adducts in Eight Different Tissues and Organs with Synthesized Standards[J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2006, 47:541-552.
- [6] Tang N, Taga R, Hattori T, et al. Determination of Atmospheric Nitrobenzanthrones by High-performance Liquid Chromatography with Chemiluminescence Detection[J]. Anal Sci, 2004, 20: 119-123.
- [7] Phousongphouang P T, Arey J. Sources of the Atmospheric Contaminants, 2-nitrobenzanthrone and 3-nitrobenzanthrone[J]. Atmos Environ, 2003,37: 3189-3199.
- [8] Tusyoshi Murahshi, Tetsushi Watanabe, Shuhei Otake, et al. Determination of 3-nitrobenzanthrone in Surface Soil by Normal-phase High-performance Liquid Chromatography with Florescence Detection [J]. Chromatogr A, 2003,992:101-107.
- [9] Takeji Enya, Masanobu Kawanish, Hitomi Suzuki, et al. An Unusual DNA Adduct Derived from the Powerfully Mutagenic Environmental Contaminant 3-nitrobenzanthrone[J]. Chem Res Toxicol, 1998, 11:1460-1467.

.....

(上接第 241 页)

参考文献:

- [1] Mermin N D. Extreme Quantum Entanglement in a Superposition of Macroscopically Distinct States[J]. Phys Rev Lett, 1990,65:1838-1840.
- [2] Bennett C H, Brassard G, Crepeau C, et al. Teleporting an Unknown Quantum State via Dual Classical and EPR Channels[J]. Phys Rev Lett, 1993,71:1895-1898.
- [3] Ye L, Guo G C. Probabilistic Teleportation of an Unknown Atomic State[J]. Chin Phys, 2002,11:996-998.
- [4] Ekert A K. Quantum Cryptography based on Bell's Theorem[J]. Phys Rev Lett, 1991,67:661-663.
- [5] Bennett C H, Wiesner S J. Communication via One-and Two-particle Operators on Einstein-Podolsky-Rosen States [J]. Phys Rev Lett, 1992,69:2881-2884.
- [6] 李渊华,金翠平,王永胜,等.基于6粒子团簇态实现2粒子任意态的量子信息分离[J].江西师范大学学报:自然科学版,2010,34(5):502-505.
- [7] Bregel H J, Raussendorf R. Persistent Entanglement in Arrays of Interacting Particles[J]. Phys Rev Lett, 2001, 86:910-913.
- [8] Ming Y. Probabilistic Teleportation of a Four-particle Cluster State[J]. Journal of Yanbian University (Natural Science), 2009,35(2):137-140.
- [9] Hillery M, Büzek V, Berthiaume A. Quantum Secret Sharing[J]. Phys Rev A, 1999,59:1829-1834.
- [10] Sreeraman M, Prasanta K P. Quantum-information Splitting Using Multipartite Cluster States[J]. Phys Rev A, 2008,78:062333.
- [11] Pan G X. Quantum Information Splitting of an Arbitrary Two-particle State Using Two GHZ States[J]. Chinese Journal Quantum Electronics, 2010,27:573-579.
- [12] Li Y H, Liu J C, Nie Y Y. Quantum Information Splitting of an Arbitrary Three-qubit State by Using Cluster States and Bell States[J]. Commun Theor Phys, 2011,55:421-425.
- [13] Sun L L, Fan Q B, Zhang S. Probabilistic Teleportation of an Arbitrary Two-particle State by a Partial Three-particle Entangled GHZ State and a Two-particle Entangled State[J]. Chin Phys, 2005,14:1313-1316.