

# 超声提取-高效液相色谱法测定土壤中氨基苯磺酸的方法研究

李光明

(中检集团理化检测有限公司,上海 200436)

**摘要:**建立了超声提取-高效液相色谱法测定土壤中氨基苯磺酸的方法。以甲醇/水( $V:V=1:1$ )为萃取溶剂,室温下进行超声波提取,通过固相萃取小柱净化后,以带季铵基团的聚乙烯醇离子色谱柱分离,二极管阵列检测器测定。该实验方法具备较好的抗干扰性,方法曲线相关系数 $r>0.999$ ,取样量为5g时,对、间、邻氨基苯磺酸的方法检出限分别为0.1,0.2和0.2 mg/kg,加标回收率分别为83.5%~99.5%,83.1%~98.0%和77.8%~92.5%。对5个地区的土壤样品加标回收实验结果表明,该方法适用性较强,可满足实际样品的测定。

**关键词:**高效液相色谱;土壤;对氨基苯磺酸;间氨基苯磺酸;邻氨基苯磺酸

中图分类号:X833;O657.7<sup>+2</sup>

文献标志码:B

文章编号:1674-6732(2020)06-0027-05

## Study on Ultrasonic Extraction-High Performance Liquid Chromatography Method for Determination of Aminobenzene Sulfonic Acids in Soil

LI Guang-ming

(CCIC Physical and Chemical Testing Co. Ltd., Shanghai 200436, China)

**Abstract:** An Ultrasonic Extraction-High Performance Liquid Chromatography method for the determination of aminobenzene sulfonic acids in soil sample was established. Using methanol-water ( $V:V=1:1$ ) as extraction solvent, ultrasonic extraction was performed at room temperature, sample extract was cleaned up by solid phase extraction cartridge, separated by a polyvinyl alcohol ion chromatographic column bonded with quaternary ammonium group, and analyzed by diode array detector. The method showed good anti-interference performance, the linear correlation coefficient  $r>0.999$ , and the method detection limit of  $p$ -Aminobenzene sulfonic acid was 0.1 mg/kg,  $m$ -Aminobenzene sulfonic acid was 0.2 mg/kg while  $o$ -Aminobenzene sulfonic acid was 0.2 mg/kg when sample weight was 5 g. The recoveries were 83.5%~99.5%, 83.1%~98.0% and 77.8%~92.5%, respectively. The results of the recovery experiment of soil samples in 5 regions showed that the method has strong applicability and can meet actual needs.

**Key words:** HPLC; Soil;  $p$ -Aminobenzene sulfonic acid;  $m$ -Aminobenzene sulfonic acid;  $o$ -Aminobenzene sulfonic acid

随着工业化的发展,我国的污染场地数量不断增多,环境问题不断突出。这些场地中,不少受到氨基苯磺酸类物质的污染。氨基苯磺酸是人工合成的物质,自然界中未发现天然储藏,根据分子结构中氨基和磺酸基的位置不同,其有对、间、邻3种同分异构体,这3种物质都是重要的有机化工中间体,广泛地应用于制备磺胺类药剂、颜料/染料助剂、减水剂、聚合物等<sup>[1-2]</sup>。氨基苯磺酸对人体健康有一定危害,对皮肤有腐蚀和刺激作用,易引起

皮肤过敏,会刺激并导致严重的眼睛损伤。氨基苯磺酸具有一定的急性毒性,若其迁移到土壤和水体中,可造成部分生物的死亡。另外,氨基苯磺酸受热易分解,生成的硫氧化物、氮氧化物等会造成大气污染。近年来,氨基苯磺酸对生态环境的危害逐渐受到关注。目前,对于氨基苯磺酸的研究主要集中在其生产阶段<sup>[3-6]</sup>,而对于环境介质中氨基苯磺酸的分析测试方法,仅涉及饮用水<sup>[7]</sup>和环境水体<sup>[8]</sup>,尚未见到涉及土壤基质的分析测试方法。

收稿日期:2020-09-18;修订日期:2020-10-21

作者简介:李光明(1982-),男,工程师,本科,从事环境监测工作。

随着氨基苯磺酸类物质污染场地的不断出现,其在土壤中的准确测定成为重要的研究课题。

氨基苯磺酸属于有机酸类,常温下,3 种氨基苯磺酸均呈固态粉末状,均微溶于甲醇、乙醇、乙醚等有机溶剂和水,溶于氢氧化钠溶液和碳酸钠溶液。由于其具有热不稳定性且熔点超过 300 ℃,因此可使用高效液相色谱法进行分析测定。土壤样品中有机物的前处理方法主要有索氏提取法、微波提取法、超声提取法、加压流体萃取法等<sup>[9-12]</sup>。若土壤含有复杂基质,如何将氨基苯磺酸从土壤中提取出来并去除可能存在的干扰是测试难点,常见的净化方法有层析法、固相小柱法、凝胶色谱法等<sup>[13]</sup>。考虑氨基苯磺酸的离子化特性,现使用甲醇/水的混合溶剂体系,通过超声法和离心法将目标物提取至溶剂中,再通过固相色谱小柱进行净化,使用离子交换法分离后用高效液相色谱法测定。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器设备

Agilent 1260 Infinity 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),配备 DAD 二极管阵列检测器;XW-80A 漩涡混匀器(海门市其林贝尔公司);舒美 KQ-500GDV 超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);飞鸽 TDL-40B 型离心机(上海安亭科学仪器厂);AUW120D 分析天平(日本岛津公司);Milli-Q Direct16 纯水机(美国默克密理博公司);C18/Ag 离子/Na 离子/H 离子净化小柱(1 mL,上海安谱公司)。

### 1.2 药品和试剂

对氨基苯磺酸、间氨基苯磺酸( $\geq 99.0\%$ ,上海安谱公司);邻氨基苯磺酸(99%,北京百灵威公司);碳酸钠、甲醇(HPLC 级,上海安谱公司);纯水(Mill-Q 纯水机制)。

### 1.3 标准溶液使用液

分别准确称取 0.050 g 对氨基苯磺酸、间氨基苯磺酸、邻氨基苯磺酸标准品,用甲醇/水( $V:V=1:1$ )溶解,并定容至 50 mL。移取 5.00 mL 该溶液至 50 mL 容量瓶,用甲醇/水( $V:V=1:1$ )定容至刻度,此为标准溶液使用液。

### 1.4 样品前处理

为提高取样的代表性,参照《土壤环境监测技术规范》(HJ/T 166—2004),将土壤样品风干、四

分、研磨至过 60 目筛<sup>[14]</sup>。称取 5.0 g 过筛后的样品,准确加入 25.0 mL 甲醇/水( $V:V=1:1$ )混合溶液,用漩涡混合器混匀后,置于超声清洗机中超声提取 10 min,再重复混匀和超声提取 1 次。4 000 r/min 离心 10 min,取适量上清液经 0.45  $\mu\text{m}$  亲水聚四氟乙烯(PTFE)滤头后,待上机测定。以石英砂代替土壤样品,用同样的步骤制备空白试样。

对于萃取液颜色较深或经测定有较大干扰峰的样品,采用固相萃取柱净化去除干扰。不同类型的干扰使用不同的固相萃取小柱,使用 C18 柱去除疏水性化合物,使用 Ag 离子柱去除高浓度  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Br}^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  等离子,使用 Ba 离子柱去除高浓度  $\text{SO}_4^{2-}$  离子,使用 Na 离子柱或 H 离子柱去除高浓度碱土金属和过渡金属离子,以防止干扰物对色谱柱的伤害。取适量上清液,依次通过 0.45  $\mu\text{m}$  亲水 PTFE 针头滤器和经活化的净化小柱后,弃去前 3 mL,收集之后的样液待测定。

### 1.5 色谱条件

色谱柱: MetroSep A Supp 5(4.0 mm  $\times$  150 mm  $\times$  5  $\mu\text{m}$ );流动相: 10 mmol/L 碳酸钠溶液(A)和水(B);梯度洗脱: 碳酸钠溶液从 65% 到 50% (11 min),并保持 5 min;流量: 0.6 mL/min;柱温: 30 ℃;进样量: 20  $\mu\text{L}$ ;检测波长: 244 nm。

### 1.6 分析测定

#### 1.6.1 标准曲线的建立

分别量取适量的氨基苯磺酸混合标准使用液,制备质量浓度分别为 0.20, 1.00, 2.00, 5.00, 10.0 和 20.0 mg/L 的标准溶液系列。按照 1.5 的色谱条件,由低质量浓度到高质量浓度依次对标准溶液系列进行分析测定,以目标组分浓度为横坐标,以其对应的峰面积为纵坐标,建立校准曲线。

#### 1.6.2 试样测定

按照与绘制校准曲线相同的仪器分析条件进行样品和空白试样的测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 提取条件

#### 2.1.1 提取方式

研磨过筛后的样品较细,为避免样品结块包裹导致溶剂接触不充分,在加液后用漩涡混匀器将样品充分混匀后再进行超声提取,对比了直接超声提取和漩涡混匀后超声提取实验,以平均回收率为评价依据,结果见表 1。

表1 提取方式效率对比<sup>①</sup>

提取方式	提取条件			平均回收率/%		
	温度/℃	时间/min	提取频次	对氨基苯磺酸	间氨基苯磺酸	邻氨基苯磺酸
超声提取	室温~26	20	20 min 连续不间断	59.3	50.3	52.7
漩涡混匀+超声提取	室温~26	20	10 min 每次,2次之间漩涡混匀	91.9	91.3	90.1

①加标量 100 μg, 室温为 23~25℃。

由表1可见,在超声提取前增加漩涡混匀操作可以明显提高提取效率。

### 2.1.2 提取温度、时间和频次

现对不同提取温度、时间和频次条件下的超声提取效率进行实验,以平均回收率为评价依据,结果见表2。

表2 不同温度、时间、频次的超声提取效率<sup>①</sup>

提取条件			平均回收率/%		
温度/℃	时间/min	频次	对氨基苯磺酸	间氨基苯磺酸	邻氨基苯磺酸
室温~26	10	漩涡混匀后1次	92.9	92.9	91.8
	20	10 min 每次,每2次之间漩涡混匀	99.0	98.4	97.8
	30	10 min 每次,每2次之间漩涡混匀	98.5	99.1	98.4
40	10	漩涡混匀后1次	82.6	83.9	81.9
	20	10 min 每次,每2次之间漩涡混匀	96.9	97.3	97.4
	30	10 min 每次,每2次之间漩涡混匀	96.5	96.0	95.1

①加标量 100 μg, 室温为 23~25℃。

### 2.2 干扰及消除

现采用甲醇/水超声提取,离子色谱柱分离,利用氨基苯磺酸根在紫外光区的吸收强度进行测定。在超声提取时,甲醇的加入能够加快有机化合物的溶解速度,但同时会让土壤基质中更多的有机杂质进入提取液,这些有机杂质可能对后续分析产生干扰。而水的存在会让离子化合物和部分共价化合物形成离子态,其中金属离子对色谱柱的影响和常规阴离子对目标化合物出峰的影响最大。

现使用的 MetroSep A Supp 5 色谱柱为带季铵基团的聚乙烯醇离子色谱柱,其分离原理为离子交换,对无法电离的有机物基本没有保留,而检测器端选择目标化合物吸收最强的 244 nm 紫外光区,具有较好的抗干扰性。但是,有机物尤其是分子质量较大的有机物会累积在色谱柱柱头,造成柱压上升甚至流路堵塞,目标物质保留时间发生变化等。另外,大量的有机杂质通过色谱柱后进入流通池,可能造成流通池的污染,导致基线不稳定和鬼峰的发生等。通过实验,将提取液通过经活化的 C18 净化小柱,可去除上述大部分有机杂质,且对目标物氨基苯磺酸的回收率没有影响(净化前后3种氨基苯磺酸的回收率均为 86%~87%)。

土壤中可能存在较高浓度的无机盐类,无机盐

由表2可见,温度从室温上升至 40℃,对目标化合物的提取效率影响不大;而提取时间和频次影响较大,在室温(即不开启超声机温控开关)下,以 10 min/次提取 2 次,可用较短的时间和相对经济的条件得到目标化合物较高的回收率。

进入提取液后电离出阴离子和阳离子,须考察这些离子对氨基苯磺酸类测定的影响。在氨基苯磺酸标准溶液中加入一定量的 7 种阴离子 ( $F^-$ 、 $Cl^-$ 、 $Br^-$ 、 $NO_2^-$ 、 $NO_3^-$ 、 $PO_4^{3-}$ 、 $SO_4^{2-}$ ),混合标准溶液后注入高效液相色谱仪测试(图1)。

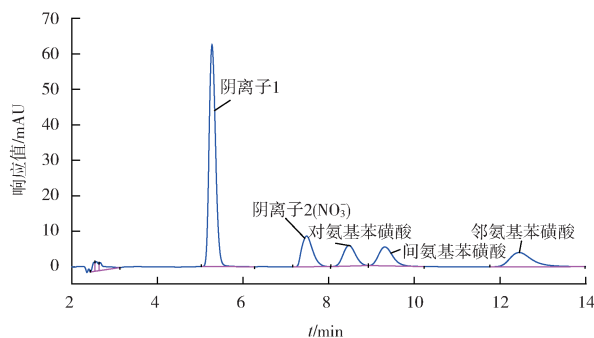


图1 100 mg/L 常规阴离子和 4 mg/L 3 种氨基苯磺酸混合溶液色谱图

由图1可见,在 244 nm 波长下仅有 2 种阴离子有较强的吸收,其出峰时间均早于 3 种氨基苯磺酸根。通过单标加标实验,确定靠近对氨基苯磺酸的物质为硝酸根 ( $NO_3^-$ ),且 100 mg/L 的硝酸根与 4 mg/L 的对氨基苯磺酸的峰可以完全分离,因此上述 7 种常规阴离子对氨基苯磺酸的出峰基本没

有影响。鉴于高浓度的阴离子尤其是超过柱容量时会对色谱柱寿命产生不可逆的影响,可将提取液通过 Ag 离子小柱去除。另外,碱土金属、类金属离子会与色谱柱的填料结合,逐渐降低色谱柱的柱效,从而对目标物质的分离产生影响。尤其在金属离子浓度特别高时,这种影响会非常明显,导致目标物出峰时间提前或者无法完全分离,在此情况下,需要对离子色谱柱进行长时间的冲洗或再生操作,并将提取液通过 Na 离子小柱或 H 离子小柱去除干扰。

综上所述,本方法具有较好的抗干扰性,一般情况下,提取液使用 C18 小柱净化即可。

### 2.3 色谱条件优化

本研究的色谱条件主要参考文献[8],样品基质加标实验结果见图 2。

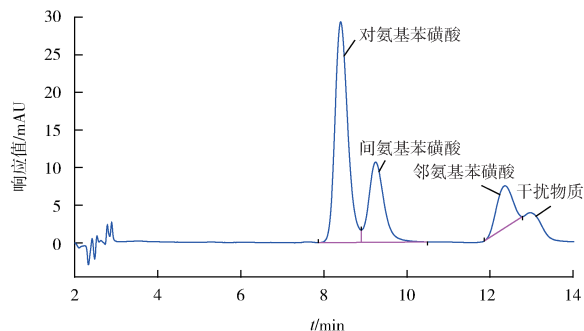


图 2 样品基质加标色谱图

由图 2 可见,邻氨基苯磺酸后有一个较大的干扰峰无法完全分离,使用上述净化小柱(C18、Ag)无法有效去除。可能由于该干扰物具有亲水基团,性质与邻氨基苯磺酸相似,分子质量、相对电负性差异不大所致。将流动相比由 65% (A):35% (B) 改为梯度洗脱 65% (A)~50% (A):35% (B)~50% (B),逐渐降低碳酸钠溶液的浓度,实现了

该干扰物和目标物质的完全分离(图 3)。

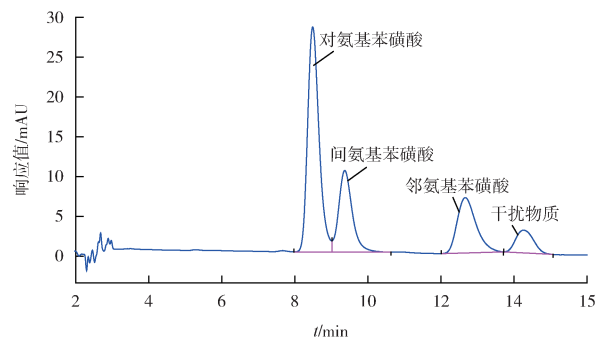


图 3 优化后的样品基质加标色谱图

### 2.4 标准曲线

实验的标准曲线结果见表 3。

表 3 标准曲线及相关系数<sup>①</sup>

化合物	回归方程	相关系数(r)
对氨基苯磺酸	$y = 154.9x - 0.812$	0.999 9
间氨基苯磺酸	$y = 66.88x + 3.882$	0.999 9
邻氨基苯磺酸	$y = 68.09x + 0.016$	0.999 9

<sup>①</sup>标准溶液质量浓度范围为 0.20~20 mg/L。

由表 3 可见,3 种氨基苯磺酸在质量浓度为 0.20~20 mg/L 范围内线性良好,相关系数均 $\geq 0.999$ 。

### 2.5 方法检出限与测定下限

参照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》(HJ/T 168—2010),采用浓度值为估计方法检出限 2~5 倍的样品,进行平行测定<sup>[15]</sup>,称取 5 g 石英砂 10 份,分别加入 50  $\mu$ L 标准溶液使用液,按照样品分析步骤平行测定,方法检出限(MDL) =  $t_{(n-1,0.99)} \times S$  (S 为 n 次测定的标准偏差, n = 10 时,  $t = 2.821$ ),测定下限(MQL) =  $4 \times MDL$ <sup>[15]</sup>,结果见表 4。

表 4 方法检出限与测定下限 (n = 10)

化合物	分析结果										S	MDL	MQL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
对氨基苯磺酸	0.89	0.99	0.93	0.97	0.91	0.92	0.88	0.91	0.94	0.92	0.03	0.1	0.4
间氨基苯磺酸	0.79	0.84	0.77	0.84	0.76	0.82	0.68	0.80	0.83	0.77	0.05	0.2	0.8
邻氨基苯磺酸	1.02	0.98	1.12	1.05	0.96	1.03	0.91	1.11	1.12	1.01	0.07	0.2	0.8

由表 4 可见,取样量为 5 g 时,对、间、邻氨基苯磺酸的方法检出限分别为 0.1,0.2 和 0.2 mg/kg。

### 2.6 精密度与准确度

在石英砂空白样品中进行氨基苯磺酸的加标

实验,加标量为 100  $\mu$ g (20 mg/kg),进行 6 次平行加标回收实验,目标化合物的精密度与准确度 (RSD) 见表 5。

表5 精密度与准确度 ( $n=6$ )

项目	分析结果/ $\mu\text{g}$						RSD/%	回收率/%
	1	2	3	4	5	6		
对氨基苯磺酸	99.5	99.5	83.5	96.5	96.8	89.3	6.8	83.5~99.5
间氨基苯磺酸	98.0	98.0	83.8	94.8	95.0	89.5	6.0	83.4~98.0
邻氨基苯磺酸	92.5	92.5	77.8	89.5	90.0	82.3	6.9	77.8~92.5

对实际土壤样品进行其他浓度的平行加标实验,加标量分别为  $10 \mu\text{g}$  ( $2 \text{ mg/kg}$ )、 $20 \mu\text{g}$  ( $4 \text{ mg/kg}$ )、 $50 \mu\text{g}$  ( $10 \text{ mg/kg}$ ),平均加标回收率见表6。由表6可见,不同加标量均可以获得较好的平均回收率。

表6 不同加标量的回收率

项目	加标量/ $\mu\text{g}$	平均回收率/%
对氨基苯磺酸	10	91.3
	20	90.0
	50	96.3
间氨基苯磺酸	10	90.0
	20	83.1
	50	96.5
邻氨基苯磺酸	10	82.5
	20	81.3
	50	84.8

## 2.7 样品适用性验证

选取上海、山东、广西、福建、天津某场地的各一个随机样品,加标量为  $100 \mu\text{g}$  ( $20 \text{ mg/kg}$ ),各进行2次平行加标实验,在1.5的色谱条件下,均未见明显干扰,平均加标回收率见表7。

表7 不同地区的随机土壤样品加标回收率

项目	平均回收率/%				
	上海	山东	广西	福建	天津
对氨基苯磺酸	95.9	97.0	96.9	89.6	94.2
间氨基苯磺酸	95.6	97.1	96.1	88.6	93.2
邻氨基苯磺酸	88.4	96.0	96.6	90.0	87.4

由表7可见,上述几个地区随机土壤样品的加标回收率均  $>80\%$ ,可见方法适用性较强。

## 3 结语

对土壤中3种氨基苯磺酸(对氨基苯磺酸、间氨基苯磺酸、邻氨基苯磺酸)的测定方法进行了研究,实验证明,以甲醇/水混合溶剂进行超声波提取,提取液通过固相萃取小柱净化后注入高效液相

色谱仪分析测定,3种氨基苯磺酸的方法检出限分别达到了  $0.1, 0.2$  和  $0.2 \text{ mg/kg}$ ,方法的精密度和准确度较好。通过对不同地区场地的随机土壤样品测定和加标回收测定,证明该方法均具有较好的适用性。

## [参考文献]

- [1] 宋东明,李树德.邻氨基苯磺酸的合成工艺改进[J].精细化工,1995,12(2):61-64.
- [2] 李良,梁秋霞,刘维,等.间氨基苯磺酸的合成方法与工业生产过程[J].精细化工中间体,2010,40(3):8-11.
- [3] 张志兰,李文遐.高效液相色谱法测定邻氨基苯磺酸[J].染料工业,1996,33(3):45-46.
- [4] 白雪松,李付刚.高效液相色谱法分析间氨基苯磺酸[J].染料与染色,2012,49(5):54-55.
- [5] 陈黎明,丁飞.高效液相色谱法检测间氨基苯酚和间氨基苯磺酸[J].福建分析测试,2018,17(4):25-26.
- [6] 姚丽利,施介华.高效液相色谱法检测间氨基苯磺酸和间硝基苯磺酸钠[J].浙江化工,2017,48(1):50-54.
- [7] 韩会新,贾丽华,陈桂茹.高效液相色谱法测定饮水中对氨基苯磺酸[J].中国公共卫生,1992,8(11):497-498.
- [8] 张慧荣,周围,王波,等.环境水体中4种氨基苯磺酸类物质的HPLC法测定[J].分析实验室,2013,32(3):121-124.
- [9] US EPA. Soxhlet Extraction; Method 3540C[S/OL]. (1996) [2020-09-10]. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3540c.pdf>.
- [10] 环境保护部.土壤和沉积物有机物的提取 加压流体萃取法: HJ 783—2016[S].北京:中国环境科学出版社,2016.
- [11] 环境保护部.土壤和沉积物有机物的提取 超声波萃取法: HJ 911—2017[S].北京:中国环境科学出版社,2018.
- [12] US EPA. Microwave Extraction; Method 3546[S/OL]. (2007) [2020-09-10]. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3546.pdf>.
- [13] US EPA. Organic Extract Cleanup; Method 3600 Series[S/OL]. (1996) [2020-09-10]. <https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-compendium#3600series>.
- [14] 国家环境保护总局.土壤环境监测技术规范: HJ/T 166—2004[S].北京:中国环境科学出版社,2004.
- [15] 环境保护部.环境监测分析方法标准制修订技术导则: HJ 168—2010[S].北京:中国环境科学出版社,2010.