

水体沉积物中三苯基锡的高效液相检测

叶锦韶^{1,2}, 史一枝¹, 尹华¹, 麦碧娴², 李淑清¹, 彭辉¹, 张娜¹

(1. 暨南大学环境工程系, 广东 广州 510632;

2. 中国科学院广州地球化学研究所, 有机地球化学国家重点实验室, 广东 广州 510640)

[摘要] 以贵屿镇练江沉积物中的三苯基锡为研究对象, 优化沉积物中三苯基锡的高效液相检测方法. 选用盐酸-乙酸乙酯为萃取体系, 在 140 r/min 恒温振荡器中振荡加标沉积物 30 min, 超声萃取 15 min, 离心收集有机相并加无水硫酸钠脱水后, 于 40 ℃ 旋转蒸发至干, 用 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{纯净水}}:V_{0.1\% \text{三氟乙酸溶液}} = 50:45:5$ 的流动相定容, 并进行 HPLC 检测. 当沉积物中加标的三苯基锡质量分数为 0.5 ~ 75 mg/kg 时, 三苯基锡的工作曲线方程为 $y = 25\,354x + 166\,193$, 相关系数 R 为 0.988. 经检测贵屿镇练江沉积物中的三苯基锡质量分数为 (0.94 ± 0.33) mg/kg.

[关键词] 沉积物; 高效液相色谱; 三苯基锡

[中图分类号] X703.1 [文献标识码] A [文章编号] 1000-9965(2009)01-0085-04

Detection of triphenyltin in the sediment by high-performance liquid chromatography

YE Jin-shao^{1,2}, SHI Yi-zhi¹, YIN Hua¹, MAI Bi-xian², LI Shu-qing¹, PENG Hui¹, ZHANG Na¹

(1. Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Science, Guangzhou 510640, China)

[Abstract] The high-performance liquid chromatography method for detection of triphenyltin (TPhT) in sediment was optimized using samples from sediments of Lianjiang river at Guiyu town. The sediment mixed with TPhT, HCl and ethyl acetate was placed on a rotary shaker at 140r/min for 30 minutes, and further extracted by ultrasonic for 15 minutes to extract TPhT. The organic supernate was separated by centrifugation. To remove water from the supernate, anhydrous sodium sulfate was added. Then the above organic phase was evaporated nearly dry in a rotary evaporator at 40 ℃. Subsequently the residue was dissolved to constant volume with flow phase of methanol: pure water: trifluoroacetic acid as 50:45:5 and analyzed by HPLC to detect the concentrations of TPhT. The experiments illuminated that the calibration curve of TPhT showed a good linear relationship at the range from 0.5 to 75 mg/kg. The equation, relative coefficient of the curve and concentrations of TPhT in the sediment were $y = 25\,354x + 166\,193$, 0.988 and (0.94 ± 0.33) mg/kg respectively.

[Key words] sediment; high-performance liquid chromatography; triphenyltin

[收稿日期] 2008-07-07

[基金项目] 国家自然科学基金项目(50778081)

[作者简介] 叶锦韶(1977-), 男, 讲师, 硕士, 研究方向: 水污染控制与修复

有机锡污染物兼有重金属和持久性有机污染物的特性,具有高毒性、持久性和生物富集性,已有相关报道证明可导致包括软体动物、鱼类和哺乳动物在内的物种发生性畸变、行为改变、免疫力下降、机体功能失调,并会通过食物链的富集影响生态系统^[1-3]. 有机锡中的三苯基锡(TPhT)和三丁基锡(TBT)还是目前已知内分泌干扰物中仅有的两种有机金属化合物^[4-5],即使处于1~2 ng/L的极低质量浓度水平,也会对海洋浮游生物、软体动物和某些鱼苗等敏感的水生生物产生慢性和急性毒性^[6-7]. 由于水体有机锡的质量浓度处于痕量或超痕量水平,而且容易富集于沉积物中,因此,样品的预处理和检测方法便成了该类污染物研究的瓶颈. 气相色谱(GC)法因具有优越的分离能力,成为检测TPhT的常用方法. 但是,该法需进行样品衍生化,过程复杂、费时. 高效液相色谱法(HPLC)因分析前不需要衍生,减少了操作步骤和样品中TPhT的损失,节省了分析时间,可通过改变固定相和流动相获得理想的分离效果,尤其适用于沉积物和生物等复杂样品中TPhT的分离与检测^[8]. 本实验以汕头市贵屿镇练江沉积物为研究对象,探讨TPhT的最佳提取与分析方法,从而建立沉积物中TPhT的HPLC检测方法,期待为监测水体TPhT污染现状、研究其生物毒性和修复效果等做出贡献.

1 实验材料与方法

1.1 沉积物

沉积物混合样品于2008年4月4日采集于汕头市贵屿镇练江(116°20'22", 23°18'839").

1.2 沉积物样品中TPhT检测方法的建立与优化

称取定量沉积物加入一定体积100 mg/L TPhT标准溶液、HCl溶液和25 mL乙酸乙酯后,超声萃取;离心收集上层有机相,加无水硫酸钠脱水后,于40℃旋转蒸发至干,用流动相($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}:V_{0.1\% \text{三氟乙酸溶液}}=50:45:5$)定容至10 mL,利用HPLC进行检测. 色谱柱为Shim-pack VP-ODS 150 mm × 4.6 mm 5 μm;柱温25℃;流动相流速1.000 mL/min;进样量20 μL;检测波长206 nm.

1.3 工作曲线

向沉积物中加入标准溶液,使样品中TPhT的质量分数分别为0.5、1、5、10、20、30、40、50、60、70、75 mg/kg,提取TPhT后进行HPLC检测,利用TPhT质量分数与对应的峰面积作工作曲线.

1.4 方法的精密度

开展3个质量分数水平的加标实验,每个水平做7个平行样,计算标准偏差和相对标准偏差,确定方法的精密度.

1.5 沉积物中TPhT的检测

根据研究确定的方法,检测样品沉积物中TPhT的质量分数.

2 结果与讨论

2.1 提取方法对TPhT检测的影响

利用了5种方法提取沉积物中的加标TPhT,通过比较回收率确定TPhT高效液相检测的前处理方法. 方法1:向5 g沉积物中加入1.5 mL 100 mg/L TPhT标准溶液→加2 mL 6 mol/L HCl溶液、25 mL乙酸乙酯→4℃暗处静置24 h→超声萃取15 min→离心收集有机相;方法2:向5 g沉积物中加入1.5 mL 100 mg/L TPhT标准溶液→加1 mL 6 mol/L HCl溶液、1 mL 0.1 g/mL NaCl溶液、25 mL乙酸乙酯→4℃暗处静置24 h→超声萃取15 min→离心收集有机相;方法3:向5 g沉积物中加入1.5 mL 100 mg/L TPhT标准溶液→加2 mL 6 mol/L HCl溶液、25 mL乙酸乙酯→4℃暗处静置24 h→离心收集有机相;方法4:向5 g沉积物中加入1.5 mL 100 mg/L TPhT标准溶液→加2 mL 0.1 g/mL NaCl溶液、25 mL乙酸乙酯→4℃暗处静置24 h→超声萃取15 min→离心收集有机相;方法5:向5 g沉积物中加入1.5 mL 100 mg/L TPhT标准溶液→加2 mL 6 mol/L HCl溶液、25 mL乙酸乙酯→摇床中摇动→超声萃取15 min→离心收集有机相.

结果如图1所示,方法1比方法3多了超声萃取的步骤,回收率从45.6%提高到61.9%,可见超声萃取是提取沉积物中TPhT的重要步骤. 方法2、4都加入了NaCl,回收率很低,说明NaCl的加入不利于TPhT从沉积物转移至有机相. 方法5没有进行暗处静置,而是在恒温振荡器中振荡摇动,这样可以

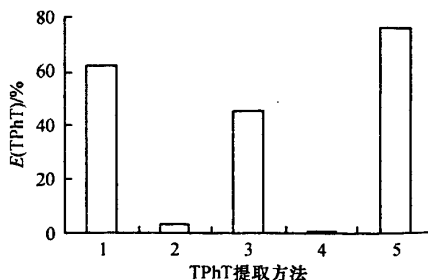


图1 提取方法对TPhT检测的影响

增加沉积物颗粒与萃取剂乙酸乙酯的接触机会,明显地提高沉积物中 TPhT 萃取效率,回收率达 76.5%。以下实验在方法 5 的基础上对沉积物中 TPhT 的萃取方法做了进一步的优化,从而建立沉积物中 TPhT 的 HPLC 检测方法。

2.2 沉积物质量对 TPhT 回收率的影响

分别向干质量为 1、2、3、4、5 g 的沉积物样品中,加入 1.5 mL 100 mg/L TPhT 标准溶液,按 2.1 中方法 5 的步骤进行提取后,测定回收率,考察沉积物质量对回收率的影响。结果如图 2 所示,回收率为 79.5%~89.6%。当沉积物质量为 2 g 时,TPhT 的回收率最高,而且该质量的样品超声萃取后的有机相,于 40℃ 旋转蒸发至干所需时间明显比 5g 样品的少,因此,以下实验均选取 2g 沉积物开展研究。

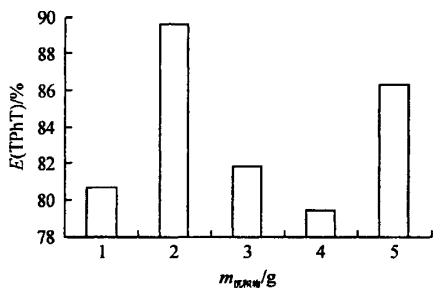


图2 沉积物质量对 TPhT 回收率的影响

2.3 HCl 体积对 TPhT 检测的影响

把提取方法中的 6 mol/L HCl 溶液的添加量分别调节为 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL,考察不同 HCl 添加量对回收率的影响。由图 3 可知,水相中 6 mol/L HCl 添加量的改变对 TPhT 的萃取效果产生显著的影响,在 0~3 mL 的范围内,萃取效果随 HCl 的增加而改善,当体积为 3 mL 时,TPhT 的响应峰面积最大。在以下的实验中,选择加入 HCl 的体积为 3 mL。

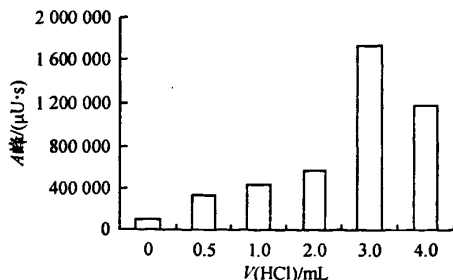


图3 HCl 体积对 TPhT 检测的影响

2.4 振荡时间对 TPhT 回收率的影响

在 140 r/min 摇速下分别振荡 5、15、30、45、60 min,考察振荡时间对回收率的影响,结果见图 4,回

收率变化范围在 88%~135% 之间。振荡时间与回收率之间没有明显的规律,基本上是呈先升后降的趋势,这与 TPhT 在不同的时间里,在有机相中的溶解和沉积物中的吸附处于动态变化有关。振荡时间为 5、15 min 时,回收率偏高,分别达到 118.4%、134.7%。综合考虑实验时间和 TPhT 回收率,本实验确定选取的振荡萃取时间为 30 min,此时 TPhT 回收率为 110.0%。

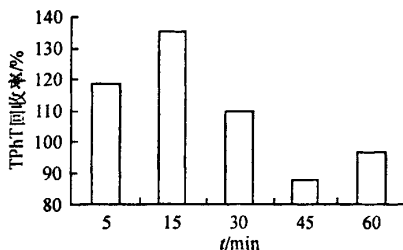


图4 振荡时间对回收率的影响

2.5 TPhT 工作曲线

向沉积物中加入标准溶液,使样品中 TPhT 的质量分数分别为 0.5、1.5、10、20、30、40、50、60、70、75 mg/kg,绘制 TPhT 工作曲线。工作曲线方程为 $y = 25354x + 166193$,相关系数 R 为 0.988,式中 y 为峰面积, x 为 TPhT 的质量分数。由于沉积物具有复杂性,富含种类繁多的有机物,增加了 TPhT 萃取分离和检测的难度,因此个别质量分数 TPhT 的峰面积与趋势线的重合效果不是非常理想。但是,与现有有关沉积物中 TPhT 检测方法相比,本工作曲线在实验设置的质量分数范围之内,其线性关系仍然是较理想的。

2.6 方法的精密度

开展 3 个质量分数水平的加标实验,每个水平做 7 个平行样,计算标准偏差和相对标准偏差。把结果从小到大排列于表 1 中,并对各指标的最大值和最小值进行狄克逊检验。当样本数为 7 时, $Q_{0.05} = 0.507$ 、 $Q_{0.01} = 0.637$ 。若 $Q \leq Q_{0.05}$,则检验值为正常值;若 $Q_{0.05} < Q \leq Q_{0.01}$,则检验值为偏离值,但仍需保留;若 $Q > Q_{0.01}$,则检验值为离群值,应予剔除。检验结果表明,所有结果均为正常值。对检验后的测定结果进行统计,当 TPhT 质量分数分别为 0.5、5、75 mg/kg 时,测定的峰面积分别为 $(114\ 527.8 \pm 28\ 157.2)\text{uV}\cdot\text{s}$ 、 $(233\ 922.1 \pm 42\ 049.2)\text{uV}\cdot\text{s}$ 和 $(2\ 175\ 564.6 \pm 368\ 851.3)\text{uV}\cdot\text{s}$,对应的相对标准偏差(RSD)均小于 30%,分别为 24.6%、18.0% 和 17.0%,可见该方法的精密度较理想。

表 1 方法的精密度

$A_{\text{测}}$	$w(\text{TPhT})/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$		
	0.5	5	75
X_1	83 137.4	176 665.0	1 753 203.1
X_2	86 291.6	192 931.3	1 877 779.6
X_3	97 014.2	216 424.6	1 886 443.8
X_4	110 944.3	240 831.5	2 194 357.2
X_5	125 322.1	240 888.7	2 211 880.2
X_6	142 667.8	279 423.4	2 586 425.5
X_7	156 317.5	290 290.2	2 718 863.0
Q_{min}	0.043	0.143	0.129
Q_{max}	0.187	0.096	0.137
$\bar{x} \pm s$	114 527.8 \pm 28 157.2	233 922.1 \pm 42 049.2	2 175 564.6 \pm 368 851.3
RSD/%	24.6	18.0	17.0

2.7 沉积物样品中 TPhT 的检测

根据上述实验建立和优化的检测方法,本部分实验分析贵屿镇练江沉积物样品中的 TPhT 质量分数。称取 2 g 已研磨并过 100 目筛后的干沉积物样品,加入 3 mL 6 mol/L HCl 溶液和 25 mL 乙酸乙酯后,在 140 r/min 摇速下振荡萃取 30 min,超声萃取 15 min,通过离心收集有机相。有机相经无水硫酸钠吸水后,在 40 ℃ 条件下旋转蒸发至溶剂不再减少,加入流动相定容至 10 mL,并进行 HPLC 检测,共检测样品 5 份。

结果是:

样品	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
$\rho(\text{TPhT})/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	1.18	1.38	0.71	0.60	0.83

如上所示,TPhT 质量分数为(0.94 \pm 0.33) mg/kg。据有关近海与河流水样、沉积物和水生生物中有机锡的研究,报导的 TPhT 质量分数分别为 20 ~ 460 ng/L、0.05 ~ 1 和 0.01 ~ 3 mg/kg^[1,8-9]。因此,本研究的结果表明,贵屿镇沉积物已受到 TPhT 的严重污染。

3 结论

(1)以贵屿镇练江沉积物为研究对象,建立和优化了沉积物中 TPhT 的检测方法。该方法是在 2 g 沉积物中加入 3 mL 6 mol/L HCl 溶液和 25 mL 乙酸乙酯后,把沉积物置于 140 r/min 恒温振荡器中振荡 30 min,超声萃取 15 min,离心收集有机相并加无水硫酸钠脱水后,于 40℃ 旋转蒸发至干,用 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{纯净水}}:V_{0.1\% \text{ 三氯乙酸溶液}}=50:45:5$ 的流动相定容,并进行 HPLC 检测。

(2)当沉积物中加标的 TPhT 质量分数为 0.5 ~

75 mg/kg 时,TPhT 的工作曲线方程为 $y = 25\,354x + 166\,193$,相关系数 R 为 0.988。经检测贵屿镇练江沉积物中的 TPhT 质量分数为(0.94 \pm 0.33) mg/kg。

[参考文献]

[1] GOMEZ-ARIZA J L, SANTOS M M, MORALES E, et al. Organotin contamination in the Atlantic Ocean off the Iberian Peninsula in relation to shipping[J]. Chemosphere, 2006, 64(7):1100-1108.

[2] RUDEL HEINZ, MULLER JOSEF, STEINHANSES JURGEN, et al. Retrospective monitoring of organotin compounds in freshwater fish from 1988 to 2003: Results from the German environmental specimen bank [J]. Chemosphere, 2007, 66(10):1884-1894.

[3] VELTMAN KARIN, HUIJBREGTS MARK A J, MARTINE J, et al. Organotin accumulation in an estuarine food chain: Comparing field measurements with model estimations. Marine Environmental Research, 2006, 61(5):511-530.

[4] PAVONI BRUNO, CENTANNI ELENA, VALCANOVER SARA, et al. Imposed levels and concentrations of organotin compounds (TBT and its metabolites) in Nassarius nitidus from the Lagoon of Venice[J]. Marine Pollution Bulletin, 2007, 55(10-12): 505-511.

[5] PELLERITO CLAUDIA, NAGY LASZLO, PELLERITO LORENZO, et al. Biological activity studies on organotin (IV)** complexes and parent compounds[J]. Journal of Organometallic Chemistry, 2006, 691(8):1733-1747.

[6] SOUSA ANA, MASTSUDAIRA CHIHO, TAKAHASHI SHIN, et al. Integrative assessment of organotin contamination in a southern European estuarine system (Ria de Aveiro, NW Portugal): Tracking temporal trends in order to evaluate the effectiveness of the EU ban[J]. Marine Pollution Bulletin, 2007, 54(10): 1645-1653.

[7] CHANDRINOUS, STASINAKIS A S, THOMAIDIS N S, et al. Distribution of organotin compounds in the bivalves of the Aegean Sea, Greece[J]. Environment International, 2007,33(2):226-232.

[8] VERSLYCKE T A, VETHAAK A D, ARIJS K, et al. Flame retardants, surfactants and organotins in sediment and mysid shrimp of the Scheldt estuary (The Netherlands) [J]. Environmental Pollution, 2005, 136(1):19-31.

[9] World Health Organization. Concise International Chemical Assessment Document 14:tributyltin oxide[R]. <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad14.pdf>,1999.

[责任编辑:刘蔚媛]