

高效液相色谱法同时测定雾霾中的 16 种多环芳烃

刘兴国 张艳海 刘晓达 金燕
赛默飞世尔科技（中国）有限公司

关键词

加速溶剂萃取 高效液相色谱法 多环芳烃 雾霾

目标

建立 ASE-HPLC 联用方法快速测定雾霾中的多环芳烃。

引言

近年来，雾霾天气在我国不少地区频繁出现，尤其是在一些大城市，雾霾天气在冬季几乎成为常态。雾霾主要是由石油加工产品和煤不完全燃烧所释放出的烟尘与水汽，以及工业生产排放的废气等形成的，二氧化硫、氮氧化物和可吸入颗粒物是雾霾的主要组成；富集于其中的可吸入细颗粒物（PM2.5）上的多环芳烃（PAHs）具有致癌性和致突变性^[1]。2012 年环境保护部与质量监督检验检疫总局联合发布了新的环境空气质量标准，增加了 PM2.5 等检测指标^[2]。目前，分离和测定 PAHs 的主要方法有气相色谱法（GC）、气相色谱-质谱法（GC-MS）和高效液相色谱法（HPLC）等^[3-4]。环境保护部发布的方法采用索氏提取、高效液相色谱法（HPLC）测定环境空气及颗粒物中的 PAHs^[5]。本文探讨用加速溶剂萃取法提取雾霾中的 16 种 PAHs，紫外和荧光检测器联用进行测定。通过对 HJ647-2013 标准中样品前处理方法和色谱分析条件的优化，在 35min 内实现了 16 种 PAHs 的良好分离测定，其中萘的荧光反应较弱，采用紫外检测器进行检测。该方法节约了大量的前处理时间，提高了检测的灵敏度。

仪器

ASE 350 加速溶剂萃取仪 (Thermo Scientific)，Thermo U3000 高效液相色谱仪 (Thermo Scientific)，U3000 FLD3400RS 荧光检测器 (Thermo Scientific)。振荡器 (Thermo Scientific)。



Reacti-Therm 氮吹仪 (Thermo Scientific)。Thermo Scientific Chromeleon 6.80 色谱系统控制软件。

试剂与标准品

二氯甲烷、正己烷和乙腈均为色谱纯级别 (Fisher Scientific)。所有试剂均作空白实验，符合质量控制要求方可使用。水为超纯水机制备 (Thermo Scientific)。

16 种 PAHs 混合标准液 (AccuStandard, Inc.)，各组分的浓度分别为：萘 50.20 µg/ml、苊 25.14 µg/ml、苊烯 25.02 µg/ml、芴 40.15 µg/ml、菲 30.20 µg/ml、蒽 25.16 µg/ml、荧蒽 40.16 µg/ml、芘 40.17 µg/ml、苯并 [a] 蒽 10.12 µg/ml、屈 20.10 µg/ml、苯并 [b] 荧蒽 25.18 µg/ml、苯并 [k] 荧蒽 10.14 µg/ml、苯并 [a] 芘 20.16 µg/ml、二苯并 [a,h] 蒽 40.16 µg/ml、苯并 [g,h,i] 芘 25.18 µg/ml、茚并 [1,2,3-cd] 芘 25.08 µg/ml。对三联苯 -D14 (上海安谱)。

标准溶液的制备

替代物溶液

取对三联苯-D14 适量，用乙腈稀释至 1 µg/mL。

混合标准品溶液制备

取 16 种多环芳烃混合标准品适量，用乙腈稀释 500 倍。其中加入适量的替代物溶液使对三联苯浓度为 10 µg/L。

标准工作溶液

按 25、50、100、200、500、1000 和 2500 倍的比例稀释 16 PAHS 混合标准溶液，此为不同浓度标准工作溶液。

样品前处理

样品采集

参考 HJ647-2013 标准，采用 MTL 公司的石英滤膜采集 PM2.5 颗粒物，采样流量为 100 L/min，采样时间为 24h。样品采集完成后避光于 4 以下保存。

样品提取与净化

取样品石英滤膜一张，小心用镊子卷成圈，置于底层垫有纤维素膜的萃取池（10 mL）中，添加 50 µL 替代物溶液，加入适量硅藻土，按下列加速溶剂萃取条件萃取。萃取完成后萃取液氮吹浓缩至近干，如不需净化，定容至 1 mL，直接进行分析。

净化步骤参考标准 HJ647-2013：取 1 g/6 mL 硅胶柱，依次用 4 mL 二氯甲烷、10 mL 正己烷冲洗柱床，待柱内充满正己烷后，关闭流速控制阀浸润 5 min，打开控制阀，弃去流出液。在溶剂流干之前，关闭控制阀，将浓缩后的样品提取液全部转移入柱内，打开控制阀，用约 2-3 mL 正己烷洗涤浓缩瓶两次，将洗涤液转移入固相柱，用 10 mL 二氯甲烷 / 正己烷（1:1）洗脱固相柱，收集液于浓缩瓶中。待淋洗液流过硅胶柱后关闭流速控制阀，浸润 5 min，再打开控制阀，继续接收流出液至完全流出。浓缩至 0.5-1 mL，加入 3 mL 乙腈，再浓缩至 1 mL 以下，最后准确定容到 1 mL 待测。

ASE 提取条件

萃取溶剂：	正己烷
系统压力：	1500 psi
萃取温度：	100 °C
加热时间：	5 min
静态萃取时间：	5 min
循环次数：	2
冲洗体积：	60%
吹扫时间：	90 s
萃取池大小：	11 mL
总时间消耗：	20 min
总溶剂消耗：	20 mL

色谱条件

色谱柱：Hypersil Green PAH column, 5 µm, 4.6 × 250 mm (PN31105-254630, SN 11110309E1)

流动相：水和乙腈梯度洗脱：0-1 min，乙腈 60%；1-30 min，乙腈 60% 到 100%；30-36 min，维持乙腈 100%。流速 2.0 mL/min。

进样体积：10 µL

柱温：30 °C

检测波长：紫外检测器 230 nm，FLD 检测器采用波长梯度变化程序见表 2。

结果与讨论

梯度洗脱条件优化

实验过程显示流速对分离度和峰型有较大影响，通过调节流动相比例和流速，优化得到上述条件。在此条件下各组分、替代物均能得到较好的分离。表 1 列出了流速 1.4 mL/min 和流速 2.0 mL/min 条件下半峰宽和不对称度的对比，流速 2.0 mL/min 时峰宽和不对称度整体优于流速 1.4 mL/min 条件下的，且整个分析过程压力小于 190 bar，各组分均完全分离，分析时间缩短了 10 分钟。

表 1. 两种流速条件下半峰宽和不对称度对比

No.	Peak name	1.4mL/min Asymmetry(EP)	1.4mL/min Peak Width of half height (min)	2.0mL/min Asymmetry(EP)	2.0mL/min Peak Width of half height (min)
1	萘	1.03	0.10	1.10	0.07
2	芴	1.06	0.11	1.07	0.09
3	芘	1.09	0.11	1.11	0.10
4	菲	1.04	0.11	1.09	0.10
5	蒽	1.12	0.13	1.11	0.12
6	荧蒽	1.12	0.14	1.11	0.12
7	芘	1.07	0.14	1.09	0.12

No.	Peak name	1.4mL/min Asymmetry(EP)	1.4mL/min Peak Width of half height (min)	2.0mL/min Asymmetry(EP)	2.0mL/min Peak Width of half height (min)
8	苯并 (a) 蒽	1.14	0.15	1.10	0.14
9	屈	1.15	0.16	1.09	0.15
10	苯并 (b) 荧蒽	1.22	0.17	1.15	0.17
11	苯并 (k) 荧蒽	1.29	0.19	1.13	0.17
12	苯并 (a) 芘	1.26	0.17	1.15	0.17
13	二苯并 (a, h) 蒽	1.33	0.19	1.32	0.18
14	苯并 (g,h,i) 芘	2.00	0.27	1.23	0.21
15	茚并 (1,2,3-c,d) 芘	1.81	0.32	1.26	0.19

荧光检测器条件优化

通过对15种多环芳烃的激发波长和发射波长的比较和筛选,优化了最佳的检测波长和灵敏度变化程序(表2),实现了各组分的低含量检出。该荧光检测波长程序较HJ647-2013标准方法的波长组合灵敏度稍高。该条件下标准品溶液加替代物测定谱图见图1。

对于萘烯分析,采用紫外230nm进行测定,测定图谱见图2。

表2. 荧光检测器波长与灵敏度程序

时间 (min)	EX Wavelength(nm)	EM Wavelength(nm)	Sens
1	270	324	2
7.5	248	375	2
8.5	245	385	2
9.5	280	462	2
10.8	270	385	2
17.0	290	430	2
27.5	290	430	3
28.6	274	507	6
41	274	507	off

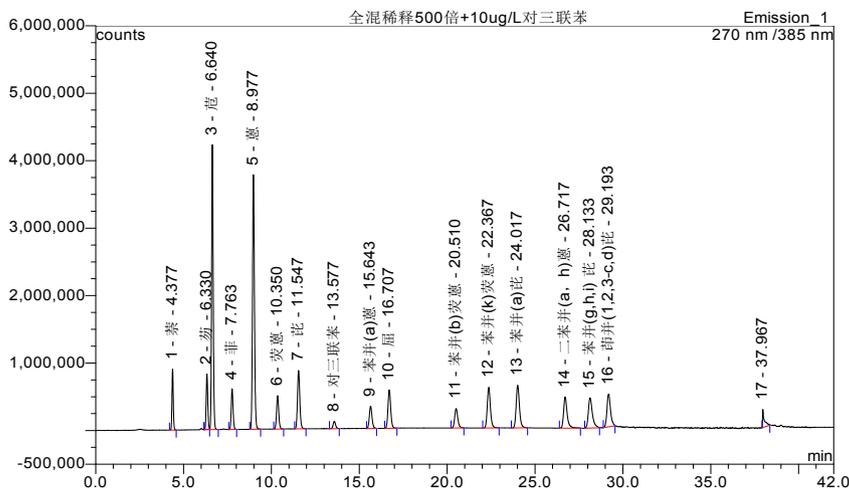


图1. 标准品溶液加替代物测定谱图

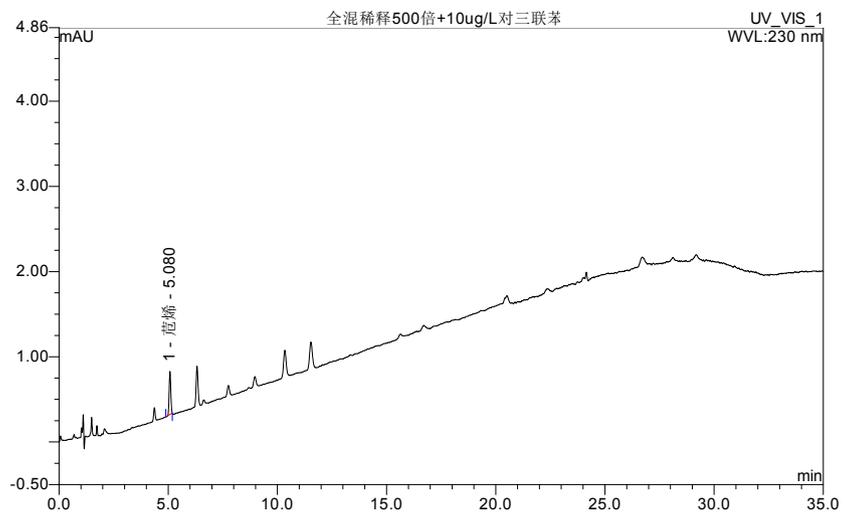


图 2. 蒽烯测定谱图

方法的重现性、线性范围和检出限

对系列浓度的 PAHs 混合标准溶液进行测定，各组分的回收率、线性方程和相关系数见表 3。PAHs 各组分线性关系良好，16 种 PAHs 组分的检出限（以信噪比 $S/N = 3$ 计）范围为 0.25 ~ 5.00 $\mu\text{g/L}$ ，各组分的加标回收率均在 57-113% 之间，符合 HJ647-2013 标准的检测要求。对混合标准溶液平行测定 5 次，峰面积的 RSD% 值为 0.20 ~ 1.84%。

表 3. 线性方程、回收率和检出限

序号	化合物	回收率 / %	线性方程	相关系数	RSD / %	检出限 / $\mu\text{g/L}$
1	萘	64.3	$y = 78920x - 6166$	0.9999	0.45	2.51
2	蒽烯	60.0	$y = 0.097x - 0.003$	0.9999	1.67	5.00
3	芴	58.9	$y = 113800x - 10121$	0.9999	0.71	2.06
4	芘	69.9	$y = 935753x - 39599$	0.9999	0.46	0.25
5	菲	115.7	$y = 124530x - 5689$	0.9999	0.60	1.51
6	蒽	76.5	$y = 99392x - 45046$	0.9999	0.59	0.25
7	荧蒽	113.8	$y = 92505x - 9016$	0.9999	0.35	2.01
8	芘	101.9	$y = 177800x - 14622$	0.9999	0.20	2.06
9	苯并(a)蒽	107.1	$y = 308280x - 8871$	0.9999	0.81	0.51
10	屈	105.3	$y = 274500x - 14059$	0.9999	1.41	0.20
11	苯并(b)荧蒽	92.4	$y = 125350x - 9162$	0.9999	0.56	1.26
12	苯并(k)荧蒽	89.3	$y = 651000x - 13369$	0.9999	0.70	0.51
13	苯并(a)芘	87.1	$y = 367850x - 15590$	0.9999	0.55	0.58
14	二苯并(a,h)蒽	78.2	$y = 143210x - 12361$	0.9999	1.56	2.08
15	苯并(g,h,i)芘	85.4	$y = 268140x - 16773$	0.9999	1.84	2.52
16	茚并(1,2,3-cd)芘	91.0	$y = 255450x - 20629$	0.9999	1.14	2.51

样品分析

按上述方法对 5 份雾霾样品进行前处理及进样分析，标准曲线法进行定量，测定谱图见图 3，分析结果见表 4。

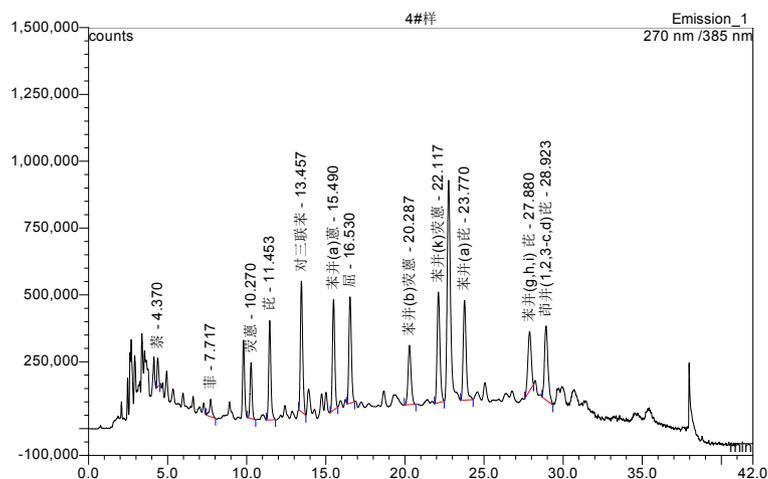


图 3. 雾霾样品测定谱图

表 4. 样品中 16 种多环芳烃含量 (单位 ng/m³)

序号	化合物	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5
1	萘	0.314	0.203	0.423	0.294	0.247
5	菲	0.192	0.139	0.246	0.203	0.152
6	蒽	-	-	-	0.059	-
7	荧蒽	0.572	0.443	0.930	0.555	0.363
8	芘	0.597	0.419	0.964	0.659	0.368
9	苯并(a)蒽	0.509	0.257	0.751	0.483	0.385
10	屈	0.525	0.315	0.759	0.516	0.414
11	苯并(b)荧蒽	0.746	0.468	1.094	0.728	0.625
12	苯并(k)荧蒽	0.251	0.156	0.358	0.238	0.199
13	苯并(a)芘	0.477	0.264	0.640	0.461	0.386
14	二苯并(a,h)蒽	0.218	-	0.276	0.223	0.158
15	苯并(g,h,i)芘	0.392	0.267	0.707	0.402	0.340
16	茚并(1,2,3-cd)芘	0.511	0.356	0.750	0.437	0.477

结论

建立了快速溶剂萃取结合 FLD 和 UV 检测器测定雾霾中 PAHs 的方法，简化了前处理步骤，缩短了前处理和分析时间，提高了检测灵敏度，该方法结果准确可靠，可满足雾霾中 PAHs 的测定要求。5 份样品中 PAHs 均有不同程度的检出，说明对大气环境的治理迫在眉睫，对于在同一天空下共呼吸的我们更要有爱护环境的意识，减少污染行为，共同努力创造一个洁净清新的生活环境。

参考文献

- [1] Hsiao WLW, MO ZY, Fang M, et al. Cytotoxicity of PM2.5 and PM2.5-10 ambient air pollutants assessed by the MTT and the Comet assays [J]. Mutation Research, 2000, 471: 45.
- [2] GB 3095-2012, 环境空气质量标准 [S]
- [3] 肖荣辉, 马继平, 鹿文慧, 等. 竹炭固相萃取 / 气相色谱-质谱联用对环境水样中 16 种多环芳烃的测定 [J]. 分析测试学报, 2009, 28(9): 1022—1026.
- [4] 陶敬奇, 王超英, 李碧芳, 等. 固相微萃取 - 高效液相色谱联用分析环境水样中的痕量多环芳烃 [J]. 色谱, 2003, 21(6): 599—602.
- [5] 国家环境保护总局. 环境空气和废气、气相和颗粒物中多环芳烃的测定 高效液相色谱法 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2013.

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

免费服务热线：800 810 5118
400 650 5118 (支持手机用户)

ThermoFisher
S C I E N T I F I C