

超高效液相色谱法同时快速测定 PM_{2.5} 中 16 种多环芳烃

张伯韬¹ 刘晓英¹ 张晓瑜¹ 王松松¹ 郭凝¹ 张甜甜¹ 王志昱¹ 张天然¹ 董桂贤¹

¹ 烟台市疾病预防控制中心,烟台 264003

摘要:目的 建立采用超高效液相色谱-二极管阵列检测器-荧光检测器同时快速检测环境空气 PM_{2.5} 中 16 种多环芳烃的方法。方法 采用玻璃纤维滤膜(90 mm)采集 120 m³ 环境大气中的 PM_{2.5},取 1/4 采样滤膜,剪碎后放入 50 mL 离心管中,加入 5.0 mL 乙腈,涡旋,水浴超声提取 30 min,再涡旋,萃取液过 0.2 μm 微孔滤头后进样。带大体积流通池,Waters PAH C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×50 mm,3 μm)分离,二极管阵列检测器测定萘,荧光检测器采用程序定时控制荧光检测波长,检测其他 15 种多环芳烃,外标法定量。结果 16 种多环芳烃 8.5 min 内完全分离,在 2.0~200.0 μg/L(萘为 50.0~5000 μg/L)范围内,峰面积和质量浓度的线性关系良好($r \geq 0.9990$),以 3 组高、中和低浓度作为不同的添加水平,平均加标回收率为 80.8%~94.5%,相对标准偏差为 3.7%~13.1% ($n=5$),检出限为 0.002~0.1 ng/m³,定量限为 0.006~0.3 ng/m³。结论 该方法操作方便、分离效果好、线性范围宽、高灵敏度、高通量,能满足环境空气 PM_{2.5} 中 16 种多环芳烃的检测要求。

关键词:超高效液相色谱法 PM_{2.5} 多环芳烃 大体积流通池

中图分类号:O657

文献标志码:A

DOI:10.19813/j.cnki.weishengyanjiu.2024.01.022

环境污染问题是当前全球关注的重点问题,环境污染问题中的多环芳烃污染是环境监测领域关注的焦点。多环芳烃是由多个苯环组成的芳香族化合物^[1],有 150 余种,来源于工业生产、有机物热解或化工燃料的不完全燃烧。多环芳烃的水溶性较差,脂溶性较强,辛醇-水分配系数高,因此,它们在环境基质中的浓度非常低,且许多多环芳烃具有致癌、致畸和致突变等“三致”效应,对环境和人类健康具有较大危害^[2]。地表水和地下水,土壤和空气中的多环芳烃通常以混合物形式存在,而不是以单一化合物形式存在。美国国家环境保护局已经将这些化合物确定为重点污染物,在其优先污染物清单中列出的 16 种母体多环芳烃化合物一直是大多数研究者关注的焦点。由

于环境样品为痕量且基质复杂,建立其快速、灵敏、可靠、高效的检测方法是发展的必然趋势。

目前环境空气 PM_{2.5} 中多环芳烃的测定方法有气相色谱-质谱法^[3-4]、高效液相色谱法^[5-9]和超高效液相色谱荧光法^[10-12]。常规液相色谱检测多环芳烃通常需要 30 min 左右,耗时,灵敏度低。本文建立了超高效液相色谱法-荧光检测器-二极管阵列检测器同时测定 PM_{2.5} 中 16 种多环芳烃的方法,8.5 min 内可实现对 16 种多环芳烃的分离,使用大体积流通池后通量好,响应值高 4 倍以上,且一次的提取进样通过串联检测器就能完成 16 种多环芳烃的同时测定,节省了分析时间和大量的有机试剂,适合大批量样品的快速测定。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

ACQUITY UPLC H-Class 超高效液相色谱仪,带荧光检测器和二极管阵列检测器(美国 Waters 公司),带大体积流通池(美国 Waters 公司)。KQ-100B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),VORTEX GENIE2 涡旋振荡器(美国 Scientific 公司)、Milli-Q 超纯水器、微孔滤头(美

基金项目:烟台市科技创新发展计划(No. 2023YD066);山东省医药卫生科技发展计划(No. 202212010390)

作者简介:张伯韬,男,副主任技师,研究方向:环境和食品安全分析,E-mail:2483098664@qq.com

通信作者:董桂贤,女,硕士,主任技师,研究方向:环境和食品安全分析,E-mail:dgxian_77@163.com

国 PALL 0.2 μm GHP ACRODISC 13 mm)。

乙腈、甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司)。16 种多环芳烃混合标准储备液(200.0 mg/L,乙腈)、萘烯标准储备液(200.0 mg/L,乙腈)、1000 mg/L 十氟联苯标准储备液(北京北方伟业计量技术研究院)。

1.2 样品前处理

$\text{PM}_{2.5}$ 采样依据中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所雾霾监测与防护工作手册^[13]中 $\text{PM}_{2.5}$ 采样及质量浓度测定,采样流速 100 L/min,用直径 90 mm 的玻璃纤维滤膜,采样时间 20 h,采集 120 m^3 大气。

取适量采样滤膜,在滤膜上加入替代物(0.1 mL 十氟联苯溶液 40.0 mg/L),剪碎后放入 50 mL 离心管中,加入乙腈 5 mL,涡旋振荡混合均匀,在水浴中超声 30 min,超声时注意避光及控制温度(30 $^{\circ}\text{C}$ 以下,必要时水浴中加冰块降温)。

超声后再次涡旋振荡混合,用注射器将萃取液吸出,并采用 0.2 μm 针式过滤器过滤萃取液到样品瓶中,制备的样品当日完成测定。

1.3 标准曲线绘制

取一定量多环芳烃、萘烯和十氟联苯(作为替代物来使用,样品中并不含有。在样品提取前

加入,通过回收率评价样品前处理或采样过程对分析结果的影响。不加也可以)标准使用液于乙腈中,配制成 15 种多环芳烃、萘烯、十氟联苯质量浓度,分别为 0.002、0.050、0.100 mg/L; 0.005、0.100、0.200 mg/L; 0.020、0.200、0.400 mg/L; 0.050、0.400、0.600 mg/L; 0.100、1.00、1.00 mg/L; 0.150、3.00、3.00 mg/L; 0.200、5.00、5.00 mg/L 的混合标准系列工作溶液,贮存在棕色小瓶中,于冷暗处存放。

分别进样 5 μL 标准系列中各浓度混合标准使用液,记录色谱图,根据标准液的浓度和峰面积进行回归,绘制标准曲线,以保留时间为定性依据。

1.4 色谱条件

Waters PAH C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 50 mm, 3 μm);流动相为甲醇(A)、水(B)和乙腈(C);流速为 0.80 mL/min;柱温为 32 $^{\circ}\text{C}$;进样量 5 μL ;采样率 20 点/s;二极管阵列检测器(波长 230 nm)。采用梯度洗脱进行多环芳烃的色谱分离,洗脱梯度:0~5.4 min,70% A,30% B;5.4~8.5 min,70% A,30% C;8.5~9.0 min,100% C;9.0~10.0 min,70% A,30% B。荧光检测器参数见表 1。

表 1 荧光检测器参数

时间/min	激发波长(λ_{ex})/nm	发射波长(λ_{em})/nm	增益
0.00	276	331	10
2.72	295	315	1
3.40	249	390	10
3.70	249	390	1
4.10	246	499	10
4.40	312	390	1
5.00	275	390	1
6.00	300	422	1
6.80	364	409	1
7.20	299	410	1
7.90	305	500	10

2 结果

2.1 检测器和大体积流通池的选择

由图 1 可见,16 种多环芳烃在紫外区均有吸收,紫外检测器能同时测定,但灵敏度低,荧光检测器比紫外检测器具有更高的灵敏度,但萘烯和十氟联苯无荧光,因此综合考虑选用串联两种检测器,萘烯和十氟联苯用二极管阵列检测器(波长 230 nm)检测并计算,其余 15 种多环芳烃用荧光检测器检测。

本次试验采用大体积流通池,通量好,容纳东西多,增加了在荧光检测器的响应,峰高和峰面积增加 4~5 倍,峰型饱满,分离度好。从图 1B 和图 1C 相比较可以看出,使用大体积流通池后峰高响应值增高为 2~3 倍。

2.2 进样量和柱温的选择

用荧光检测器时 15 种多环芳烃中苯并[k]荧蒹的响应值很高,当用大体积流通池进 100 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液 10 μL ,柱子会过载产生荧光猝灭现象,

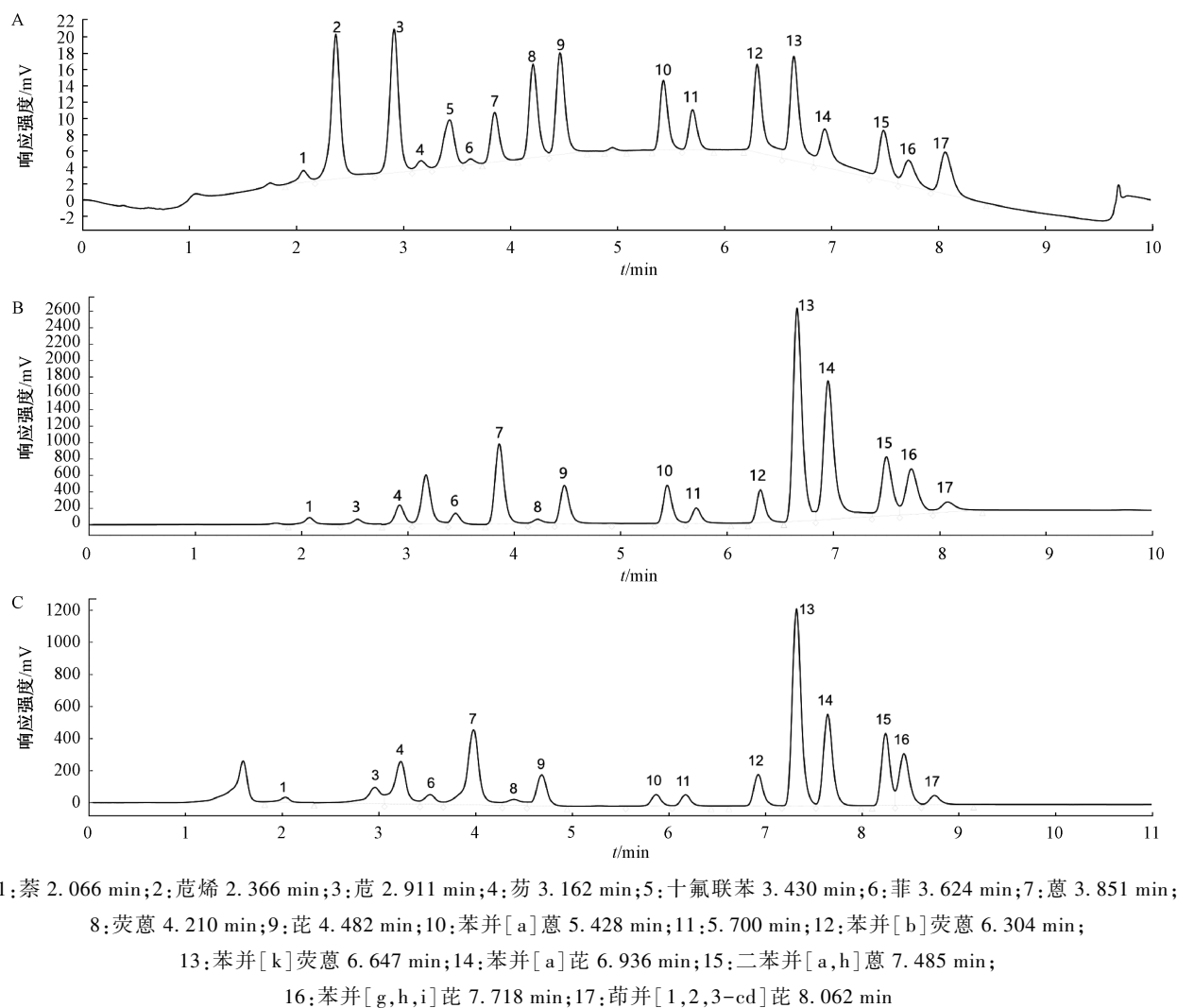


图 1 16 种多环芳烃和十氟联苯标准品的紫外色谱图 (A)、15 种多环芳烃标准品 (50.0 µg/L) 使用大体积流通池 (进样量 5 µL) 的荧光色谱图 (B) 和未使用大体积流通池 (进样量 10 µL) 的荧光色谱图 (C)

考虑紫外检测器灵敏度低需要大的进样量,所以选择 5 µL 进样量,苯并[k]荧葱在在 2.0~150.0 µg/L,其余 14 种多环芳烃在 2.0~200.0 µg/L 范围内,不会产生荧光猝灭现象。试验中发现柱温 35 °C 时,紫外检测器显示十氟联苯(3.317 min)与菲(3.338 min)的保留时间太接近,调整柱温为 32 °C 时,十氟联苯(3.430 min)与菲(3.624 min)能得到较好的分离(图 1A)。

2.3 线性范围和检出限

16 种多环芳烃化合物的浓度(x , µg/L)与峰面积(y)之间呈良好的线性关系,表 2 可见,相关系数 $\geq 0.999 0$ 。将接近定量限浓度的标准品加入样品基质中,按照 1.2 样品前处理方法进行操作后上机测定,根据多环芳烃化合物色谱图信噪比计算检出限和定量限。样品中被测组分峰高为基线噪声的 3 倍时的浓度为最低检出浓度,被测组分峰高为基线噪声的 10 倍时的浓度为最低定量浓度。以取样 1/4 滤膜最后定容到 5 mL 计,当

以 100 L/min 采集空气 20 h 时,16 种多环芳烃的检出限为 0.002~0.1 ng/m³,测定下限为 0.006~0.3 ng/m³(表 2)。

2.4 回收率实验

十氟联苯作为多环芳烃替代物,在样品处理前加载在滤膜上再进行提取,可考察样品提取方法的效率,其回收率为 85.8%~98.7%,说明该提取方法可行。称取 1/4 的空白滤膜样品 15 份分别于聚四氟乙烯离心管中,分别加入一定量的标准溶液,以高、中、低浓度作为不同的添加水平,每个水平 5 份,放置 2 h 后,按照 1.2 样品前处理的方法进行操作,上机测定。回收率为 80.8%~94.5%,相对标准偏差为 3.7%~13.1%(表 3)。

2.5 样品测定

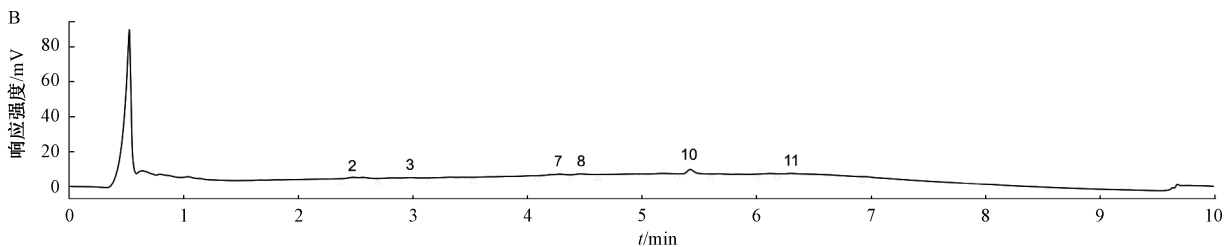
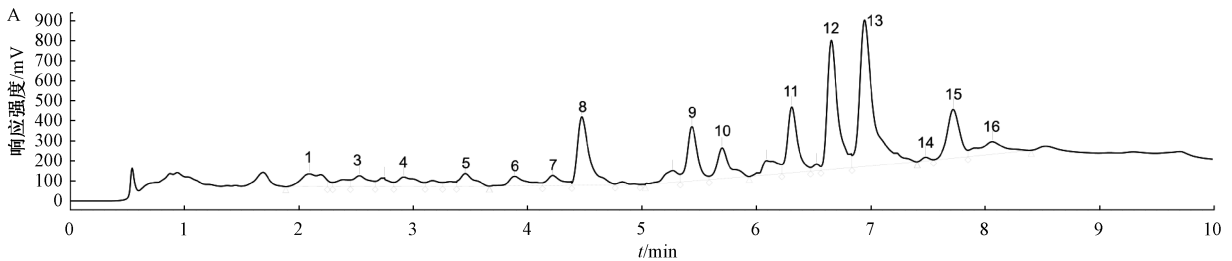
在 2022 年 12 月—2023 年 5 月,对烟台市芝罘区和龙口两地 46 份样本进行了 16 种多环芳烃的监测(图 2)。16 种多环芳烃的浓度为 0.02~18.7 ng/m³,检出率为 56.4%~100%,检出率顺序

为苯并[b]荧蒹>苯并[a]芘>二苯并[a,h]蒹>蒽>蒽>荧蒹>茚并[1,2,3-cd]芘>萘>苯并[a]蒽>蒽>菲>苯并[k]荧蒹>苯并[g,h,i]芘>萘烯>芴>芘;苯并[a]芘的浓度为 0.02~7.3 ng/m³,其中

12 月份采集样本 6 份,浓度为 2.9~7.3 ng/m³,平均值为 4.6 ng/m³,皆超过 GB 3095—2012《环境空气质量标准》(2.5 ng/m³),其余月份均未超标。

表 2 16 种多环芳烃超高效液相色谱测定法的线性范围、检出限和定量限

化合物	线性范围/ (μg/L)	回归方程	相关系数(<i>r</i>)	检出限/ (ng/m ³)	定量限/ (ng/m ³)
萘	2.0~200.0	$y = 1.19 \times 10^5 x + 1.83 \times 10^5$	0.9990	0.04	0.1
萘烯	50.0~5000	$y = 112x - 471$	0.9999	0.1	0.3
萘	2.0~200.0	$y = 2.94 \times 10^5 x + 1.17 \times 10^5$	0.9991	0.02	0.05
芴	2.0~200.0	$y = 7.66 \times 10^5 x + 8.50 \times 10^5$	0.9996	0.06	0.2
菲	2.0~200.0	$y = 1.20 \times 10^5 x + 1.66 \times 10^6$	0.9998	0.01	0.04
蒽	2.0~200.0	$y = 1.17 \times 10^5 x + 2.67 \times 10^6$	0.9998	0.004	0.01
荧蒹	2.0~200.0	$y = 8.02 \times 10^4 x + 9.66 \times 10^5$	0.9996	0.01	0.05
芘	2.0~200.0	$y = 5.18 \times 10^5 x + 3.85 \times 10^6$	0.9998	0.08	0.2
苯并[a]蒽	2.0~200.0	$y = 5.38 \times 10^5 x + 4.18 \times 10^5$	0.9992	0.04	0.1
蒽	2.0~200.0	$y = 2.32 \times 10^5 x + 1.72 \times 10^5$	0.9998	0.02	0.07
苯并[b]荧蒹	2.0~200.0	$y = 4.54 \times 10^5 x + 4.42 \times 10^5$	0.9997	0.01	0.04
苯并[k]荧蒹	2.0~150.0	$y = 3.07 \times 10^6 x + 3.06 \times 10^6$	0.9996	0.002	0.006
苯并[a]芘	2.0~200.0	$y = 2.49 \times 10^6 x + 2.73 \times 10^6$	0.9995	0.003	0.01
二苯并[a,h]蒹	2.0~200.0	$y = 9.36 \times 10^5 x + 3.56 \times 10^6$	0.9993	0.006	0.02
苯并[g,h,i]芘	2.0~200.0	$y = 8.59 \times 10^5 x + 2.88 \times 10^6$	0.9992	0.008	0.03
茚并[1,2,3-cd]芘	2.0~200.0	$y = 2.70 \times 10^5 x + 5.93 \times 10^5$	0.9990	0.03	0.1



1:萘;2:萘烯;3:萘;4:芴;5:菲;6:蒽;7:荧蒹;8:芘;9:苯并[a]蒽;10:蒽;11:苯并[b]荧蒹;12:苯并[k]荧蒹;
13:苯并[a]芘;14:二苯并[a,h]蒹;15:苯并[g,h,i]芘;16:茚并[1,2,3-cd]芘

图 2 雾霾样品的荧光光谱图(A)和紫外光谱图(B)

3 结论

本方法使用大体积流通池,通量好,增加了在荧光检测器的响应 4~5 倍,使检出限和定量限明显降低,可在 8.5 min 内实现 16 种多环芳烃的分离。同时本方法前处理部分简单,省去氮吹浓缩

等环节,减少样品之间的污染,从而提高了方法的回收率和结果的稳定性。该法操作方便、灵敏度高、分离效果好、重现性好、线性范围宽,并获得较好的精密度和准确度,适合大批量样品的快速测定。

表 3 空白滤膜的添加回收率和相对标准偏差 ($n=5$)

化合物	添加值/($\mu\text{g/L}$)	测定值/($\mu\text{g/L}$)	平均回收率/%	相对标准偏差/%
萘	4.0	3.4	84.5	13.1
	20.0	18.2	91.0	9.7
	40.0	36.2	90.4	7.3
萘烯	40.0	33.9	84.8	9.8
	200	182.0	91.0	8.9
	400	370.0	92.5	7.1
萘	4.0	3.7	93.5	9.4
	20.0	17.6	88.1	8.0
	40.0	36.5	91.2	3.8
芴	4.0	3.6	91.0	8.8
	20.0	18.3	91.7	9.5
	40.0	37.0	92.5	7.1
菲	4.0	3.7	93.5	9.4
	20.0	18.5	92.6	7.6
	40.0	32.3	80.8	7.6
蒽	4.0	3.8	94.5	8.0
	20.0	18.8	93.9	6.0
	40.0	34.2	85.6	7.7
荧蒽	4.0	3.6	89.5	7.2
	20.0	17.7	88.4	8.5
	40.0	34.6	86.6	8.9
芘	4.0	3.4	86.0	6.7
	20.0	18.2	90.9	9.5
	40.0	35.4	88.5	9.8
苯并[a]蒽	4.0	3.5	87.0	9.2
	20.0	17.8	88.9	5.1
	40.0	35.4	88.6	5.1
蒽	4.0	3.8	94.0	5.5
	20.0	18.1	90.7	5.5
	40.0	36.3	90.8	7.9
苯并[b]荧蒽	4.0	3.5	87.0	8.9
	20.0	17.9	89.4	9.3
	40.0	34.6	86.6	6.1
苯并[k]荧蒽	4.0	3.5	87.5	7.3
	20.0	18.4	91.8	4.5
	40.0	37.5	93.8	3.7
苯并[a]芘	4.0	3.5	87.5	7.3
	20.0	17.9	89.7	5.7
	40.0	33.9	84.7	4.4
二苯并[a,h]蒽	4.0	3.6	89.0	9.0
	20.0	18.4	92.0	7.8
	40.0	34.8	87.0	9.2
苯并[g,h,i]芘	4.0	3.6	89.5	8.7
	20.0	17.2	85.9	6.3
	40.0	34.5	86.4	8.4
茚并[1,2,3-cd]芘	4.0	3.5	86.5	9.3
	20.0	17.6	87.8	7.9
	40.0	34.9	87.3	5.7