

超高效液相色谱法测定大气PM_{2.5}中16种多环芳烃

张艳, 冯翠霞, 陈剑刚

摘要:

[目的] 建立检测大气细颗粒物(PM_{2.5})中16种多环芳烃的超高效液相色谱法。

[方法] 滤膜采用乙腈超声提取、浓缩后,以乙腈和水为流动相进行梯度洗脱,在PAH C18柱上分离,对样品前处理和色谱条件进行优化,用超高效液相色谱仪、二极管阵列检测器和荧光检测器进行测定。

[结果] 16种多环芳烃在12 min内得到了良好的分离,在0.01~0.50 μg/mL范围内线性关系良好,检出限为0.003~0.036 ng/m³,测定下限为0.010~0.119 ng/m³; 0.02、0.05、0.20 μg三个加标水平下的平均回收率为68.5%~100.6%,相对标准偏差($n=7$) 在2.0%~7.3%之间。

[结论] 该法操作简便,具有分离时间短、分离效果好、灵敏度高的特点,适于大气PM_{2.5}样品中多环芳烃的测定。

关键词: 超高效液相色谱; PM_{2.5}; 多环芳烃

引用: 张艳, 冯翠霞, 陈剑刚. 超高效液相色谱法测定大气PM_{2.5}中16种多环芳烃[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(9): 836-839. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17129

Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in PM_{2.5} by ultrasensitive performance liquid chromatography ZHANG Yan, FENG Cui-xia, CHEN Jian-gang (Department of Physical and Chemical Test, Zhuhai Center for Disease Control & Prevention, Zhuhai, Guangdong 519060, China). Address correspondence to ZHANG Yan, E-mail: 21399831@qq.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

[Objective] To develop a method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in atmospheric fine particulate matters (PM_{2.5}) by ultrasensitive performance liquid chromatography.

[Methods] Samples were extracted and enriched with acetonitrile by ultrasonic wave. Then acetonitrile and water were used as mobile phase for gradient elution, and separation was conducted on a PAH C18 column. Sample preparation and chromatographic conditions were optimized. Ultrasensitive performance liquid chromatography, photodiode array detector, and fluorescence detector were used to detect PAHs.

[Results] Sixteen PAHs were separated in 12 min, showing a good linearity in the range of 0.01-0.50 μg/mL. The limits of detection for the PAHs were 0.003-0.036 ng/m³, and the limits of quantification were 0.010-0.119 ng/m³. The average recoveries of 16 PAHs at 0.02, 0.05, and 0.20 μg spiked levels were 68.5%-100.6%, with relative standard deviations of 2.0%-7.3% ($n=7$).

[Conclusion] The method developed is simple, rapid, efficient, and sensitive; therefore, it is suitable for determination of PAHs in PM_{2.5}.

Keywords: ultrasensitive performance liquid chromatography; PM_{2.5}; polycyclic aromatic hydrocarbon

Citation: ZHANG Yan, FENG Cui-xia, CHEN Jian-gang. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in PM_{2.5} by ultrasensitive performance liquid chromatography[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2017, 34(9): 836-839. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2017.17129

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons)是环境中广泛存在的一类有机污染物,具有持久性、致突

变作用、致癌作用、致畸作用以及生物蓄积性的特点,对环境和人体的危害较大。根据多环芳烃的存在情况及致癌性,美国环保署将16种多环芳烃列为优先控制的污染物。目前,随着环境污染的加剧,多环芳烃已被列为PM_{2.5}监测中的重点项目之一。

PM_{2.5}中多环芳烃的提取方法主要有索氏提取法^[1-2]和超声提取法^[3-6],相比之下,索氏提取法耗

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[作者简介] 张艳(1982—),女,博士,副主任技师;研究方向:主要从事理化检验; E-mail: 21399831@qq.com

[通信作者] 张艳, E-mail: 21399831@qq.com

[作者单位] 珠海市疾病预防控制中心理化检验所,广东 珠海 519060

时长,溶剂用量大;而超声提取因具有操作简单、快速、溶剂使用量小等特点而受到广泛使用。对于多环芳烃的常用分析方法有高效液相色谱法(HPLC)^[2-6]、气相色谱-质谱法(GC-MS)^[1,7]、气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)^[8-9]。本研究以标准方法HJ 647—2013^[2]为基础,对提取方式和色谱分离条件进行优化,建立了大气PM_{2.5}中16种多环芳烃的快速测定方法。采用超声提取法对样品进行提取,超高效液相色谱(UPLC)-二级管阵列(PDA)-荧光检测器(FLR)检测,通过优化色谱条件,在12 min内实现了16种多环芳烃的快速分离。该法提取效果良好、操作简便、分离快速,在PM_{2.5}中多环芳烃的监测应用中取得了良好的实验效果。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱仪Acquity UPLC H-Class配PDA和FLR检测器(Waters,美国),PAH C18柱(4.6 mm×50 mm, 3 μm)(Waters,美国),大气综合采样器KC-6120(崂山,青岛),超声波清洗器(Elma,德国),旋涡混合器(IKA,德国),氮吹仪(Organomation,美国),超纯水系统(Millipore,美国),0.22 μm有机系滤膜(津腾,中国)。

多环芳烃标准储备液(o2si,美国):萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、屈、苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,h]芘、苯并[g,h,i]芘、茚并[1,2,3-c,d]芘,质量浓度(下称浓度)均为200 μg/mL;十氟联苯标准(o2si,美国):纯度99%;乙腈、二氯甲烷等试剂均为色谱纯(Merck,德国);玻璃纤维滤膜(Whatman,英国)。

1.2 标准溶液配制

多环芳烃标准中间液(20.0 μg/mL):量取1.0 mL多环芳烃标准储备液于10 mL容量瓶中,乙腈稀释至刻度,混匀;多环芳烃标准使用液(1.0 μg/mL):量取0.5 mL多环芳烃标准储备液于10 mL容量瓶中,乙腈稀释至刻度,混匀;十氟联苯标准储备液(400 μg/mL):称取10.0 mg十氟联苯标准品于25 mL容量瓶中,乙腈稀释至刻度,混匀;十氟联苯标准中间液(40.0 μg/mL):量取1.0 mL十氟联苯标准储备液于10 mL容量瓶中,乙腈稀释至刻度,混匀;十氟联苯标准使用液(4.0 μg/mL):量取1.0 mL十氟联苯标准中间液于10 mL容量瓶中,乙腈稀释至刻度,混匀。准确移取多环芳烃标准使用

液和十氟联苯标准使用液于乙腈中,制备标准系列,多环芳烃浓度分别为0.01、0.02、0.05、0.10、0.25、0.50 μg/mL,十氟联苯的浓度分别为0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、1.00 μg/mL。

1.3 样品采集

将玻璃纤维滤膜用铝箔包好放入马弗炉中,在400℃下灼烧5 h,在恒温恒湿箱中平衡24 h后称重,置干燥器中备用。采样器以流量100 L/min连续采样20 h,将采样后的滤膜放入滤膜夹中,密封后带回实验室,在恒温恒湿箱中平衡24 h后称重,然后对样品进行处理。

1.4 样品提取

在滤膜上加入0.1 mL十氟联苯标准使用液,整张滤膜剪碎后放入离心管中,分两次共加入乙腈15 mL,涡旋混匀,于冰水浴中超声提取60 min,合并乙腈提取液,氮吹至1.0 mL,过0.22 μm滤膜,待测。

1.5 色谱条件

色谱柱:PAH C18柱(4.6 mm×50 mm, 3 μm);柱温:30℃;样品室温度:4℃;流动相:A相为乙腈,B相为水。梯度洗脱条件如下:0~5 min,A由40%升至75%,再在8 min内增至100%,保持至出峰完毕;流速:1.0 mL/min;进样体积:10 μL。PDA和FLR检测器串联使用,PDA波长为210~380 nm;FLR检测器的波长采取多波长编程程序。

1.6 质量控制

每批样品每20张滤膜取1张进行空白滤膜试验,空白中萘、菲<50 ng,其他组分<10 ng。为避免采样和实验过程的二次污染,需做好全程序空白、运输空白、试剂空白、实验室空白的质量控制,结果控制与空白滤膜一致。替代物十氟联苯的回收率控制在50%~125%之间。

2 结果

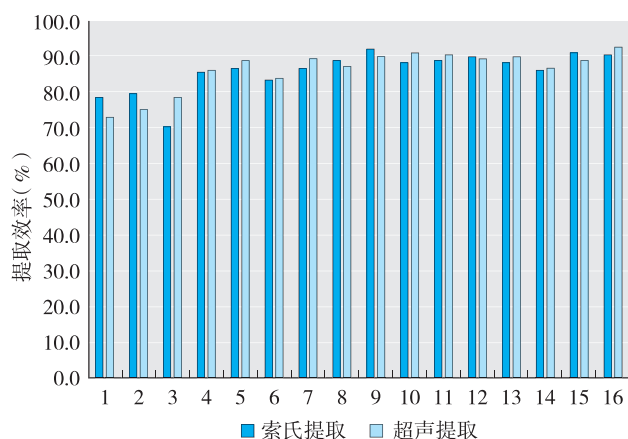
2.1 样品前处理的优化

提取溶剂的优化:考察乙腈和二氯甲烷的提取效率,结果表明乙腈和二氯甲烷对多环芳烃的提取效果相当。本方法以乙腈和水为流动相,在提取过程中选择乙腈为提取剂,无须溶剂转换。

提取体积的优化:取加标量为0.1 μg的空白加标滤膜按提取体积不同分成3组,提取体积10、15、20 mL时16种多环芳烃的平均加标回收率分别为69.7%、86.4%和87.5%,15 mL和20 mL对应的提取效

率无明显差异,由于后续有浓缩步骤,考虑到时间因素,提取体积选用15 mL。

索氏提取与超声提取的比较:取加标量为0.1 μg的空白滤膜8份,分成2组,一组按照“1.4”步骤操作进行超声提取,另外一组参照HJ 647—2013进行索氏提取。2种提取方式的平均提取效率在70.1%~92.5%之间。相比之下,萘和苊烯在索氏提取下的提取效率略高于超声提取,而苊在索氏提取下的提取效率略低于超声提取,其余13个组分的提取效率相差不大。见图1。



[注] 1. 萘; 2. 苊烯; 3. 苊; 4. 芴; 5. 菲; 6. 蒽; 7. 荧蒽; 8. 䓛; 9. 苯并[a]蒽; 10. 䓞; 11. 苯并[b]荧蒽; 12. 苯并[k]荧蒽; 13. 苯并[a]䓛; 14. 二苯并[a,h]䓛; 15. 苯并[g,h,i]䓛; 16. 茚并[1,2,3-c,d]䓛。

图1 索氏提取和超声提取的提取效率比较

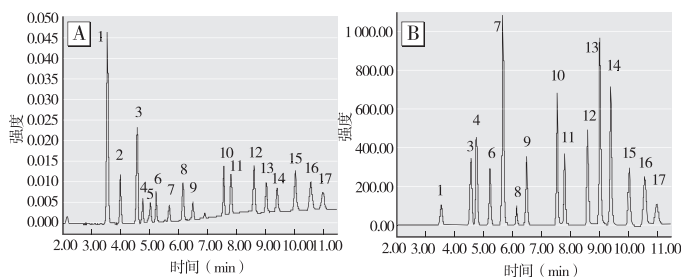
2.2 色谱条件的选择

比较了“4.6 mm × 50 mm, 3 μm”、“4.6 mm × 150 mm, 5 μm”以及“4.6 mm × 250 mm, 5 μm”3根PAH C18柱分别在UPLC和HPLC系统上的分离效果。使16种多环芳烃在尽可能短的时间内出峰且达到基线分离:150 mm柱在1.0 mL/min流速下需27 min;250 mm柱在1.5 mL/min流速下需29 min;而50 mm短柱在UPLC系统上仅需12 min就能达到较好的分离,且色谱峰型也得到了极大改善,因此本法选用50 mm短柱。以乙腈和水作为流动相,采用梯度洗脱方式,优化乙腈和水的组成比例及变化曲线。在优化的色谱条件下,16种多环芳烃在PDA和FLR检测器上的色谱图如图2所示。

2.3 方法的线性范围和检出限

将制备的标准系列分别进行色谱测定,保留时间定性。以目标物浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘

制标准曲线。在定量计算中,苊烯以228 nm波长处的响应进行定量计算,其余15种多环芳烃均采用荧光响应进行定量计算。16种多环芳烃在0.01~0.50 μg/mL范围内线性关系良好,相关系数均>0.999。以信噪比=3对应的样品浓度为方法的检出限,当以100 L/min采集空气20 h时,16种多环芳烃的检出限为0.003~0.036 ng/m³,测定下限为0.010~0.119 ng/m³。见表1。



[注] 1. 萘; 2. 苊烯; 3. 苊; 4. 芴; 5. 十氟联苯; 6. 菲; 7. 蒽; 8. 荧蒽; 9. 䓛; 10. 苯并[a]蒽; 11. 䓞; 12. 苯并[b]荧蒽; 13. 苯并[k]荧蒽; 14. 苯并[a]䓛; 15. 二苯并[a,h]䓛; 16. 苯并[g,h,i]䓛; 17. 茚并[1,2,3-c,d]䓛。

图2 16种多环芳烃的PDA色谱图(A)和荧光色谱图(B)

表1 16种多环芳烃的线性回归方程、相关系数、方法检出限及测定下限

成分	线性回归方程	相关系数	检出限 (ng/m ³)	测定下限 (ng/m ³)
萘	$y=5.03 \times 10^7 x - 1.12 \times 10^5$	0.9999	0.023	0.076
苊烯	$y=2.12 \times 10^5 x - 1.33 \times 10^3$	0.9999	0.036	0.119
苊	$y=1.52 \times 10^8 x - 4.11 \times 10^5$	0.9999	0.008	0.026
芴	$y=1.87 \times 10^8 x - 5.08 \times 10^5$	0.9999	0.006	0.020
菲	$y=1.25 \times 10^8 x + 1.56 \times 10^5$	0.9998	0.009	0.030
蒽	$y=4.66 \times 10^8 x - 1.06 \times 10^6$	0.9999	0.003	0.010
荧蒽	$y=3.92 \times 10^7 x + 4.59 \times 10^4$	0.9998	0.031	0.102
䓛	$y=1.50 \times 10^8 x - 4.08 \times 10^5$	0.9999	0.008	0.026
苯并[a]蒽	$y=2.67 \times 10^8 x - 8.23 \times 10^5$	0.9999	0.004	0.013
䓞	$y=1.41 \times 10^8 x - 3.70 \times 10^5$	0.9999	0.008	0.026
苯并[b]荧蒽	$y=2.41 \times 10^8 x - 6.84 \times 10^5$	0.9999	0.006	0.020
苯并[k]荧蒽	$y=3.92 \times 10^8 x - 1.17 \times 10^6$	0.9999	0.003	0.010
苯并[a]䓛	$y=3.67 \times 10^8 x - 1.48 \times 10^6$	0.9999	0.004	0.013
二苯并[a,h]䓛	$y=1.69 \times 10^8 x - 6.23 \times 10^5$	0.9999	0.010	0.033
苯并[g,h,i]䓛	$y=1.94 \times 10^8 x - 9.97 \times 10^5$	0.9998	0.012	0.040
茚并[1,2,3-c,d]䓛	$y=9.40 \times 10^7 x - 3.69 \times 10^5$	0.9999	0.027	0.089

2.4 方法的回收率和精密度

取空白滤膜进行加标,分别添加0.02、0.05、0.20 μg的多环芳烃标准溶液,每个加标水平平行测定7次,按照“1.4”步骤进行提取后测定,考察方法的回收率和精密度。见表2。

表2 方法的加标回收率及相对标准偏差(%)(n=7)

成分	加标 0.02 μg		加标 0.05 μg		加标 0.20 μg	
	回收率	相对标准偏差	回收率	相对标准偏差	回收率	相对标准偏差
萘	68.5	7.3	70.3	6.8	74.3	4.7
苊烯	70.1	5.1	72.8	5.6	84.0	4.5
苊	73.9	6.0	76.6	5.3	82.3	4.3
芴	87.1	4.5	86.0	5.1	89.0	3.9
菲	87.4	4.1	88.1	3.9	100.3	2.5
蒽	86.1	3.8	84.1	4.5	95.6	4.0
荧蒽	85.9	4.4	86.8	3.8	100.6	2.9
芘	84.5	5.1	84.2	4.5	98.4	3.7
苯并[a]蒽	81.8	4.6	82.6	4.2	99.0	3.6
䟽	83.9	4.8	83.2	4.5	99.5	3.7
苯并[b]荧蒽	82.8	4.6	83.1	4.4	99.0	3.5
苯并[k]荧蒽	85.1	2.5	83.0	4.2	98.9	3.4
苯并[a]芘	82.5	4.6	81.7	5.0	99.6	3.7
二苯并[a, h]芘	83.6	4.5	84.0	4.1	96.5	3.5
苯并[g, h, i]芘	84.2	3.9	82.9	3.8	95.1	3.4
苊并[1, 2, 3- c, d]芘	82.9	5.9	86.5	5.6	98.6	2.0

3 讨论

目前,对于大气PM_{2.5}中多环芳烃的提取,以索氏提取和超声提取为主,我国环境保护部发布的标准方法均采用索氏提取法。由于索氏提取的溶剂用量大、提取时间长,不利于大批样品的测定。从提取时间、溶剂使用量、操作简便程度等因素考虑,本研究选用超声提取。

对于16种多环芳烃的分离,PAH C18专用柱的分离效果优于普通C18柱。目前大多数研究采用粒径为5 μm、长度为250 mm或者150 mm的多环芳烃色谱柱进行色谱分离,分离时间在25 min左右甚至更长。本方法采用的多环芳烃色谱柱,由于其粒径小、长度短,结合UPLC系统,能极大地提高分离效果,改善色谱峰型,实现16种多环芳烃的快速分离。在本文的实验条件下,16种多环芳烃的分离只需12 min,相比HJ 647—2013方法中长达41 min的分离时间,分离效率明显提高。

16种多环芳烃均有紫外吸收,除苊烯无荧光响应外,其他15种多环芳烃在FLR上的响应明显高于在PDA上的响应,且在FLR上的干扰相对要少。在FLR上,苯并[k]荧蒽的响应最强,但由于在其最佳激发发射波长350 nm/430 nm下,高浓度易使检测器饱和,因此,本研究中苯并[k]荧蒽选择在激发发射波长350 nm/480 nm下进行测定。PDA和FLR串联使用,除获得紫外色谱图和荧光色谱图外,还可获得各组分相

应的紫外吸收图谱,有助于复杂基质中目标组分的判定,降低假阳性的风险。

16种多环芳烃的平均回收率为68.5%~100.6%,相对标准偏差(n=7)为2.0%~7.3%;随着加标浓度的增加,多环芳烃的回收率明显提高;萘、苊烯、苊3种物质的回收率略低于其余13种多环芳烃,这与其分子质量小、易于挥发有关。16种多环芳烃的测定下限为0.010~0.119 ng/m³,优于HJ 647—2013的0.16~1.04 ng/m³。

本研究建立的大气PM_{2.5}中多环芳烃的UPLC法灵敏度高,前处理操作简便、分离快速。测定下限、回收率和重现性等方法学指标均能满足PM_{2.5}中多环芳烃的检测要求,适用于大气PM_{2.5}中多环芳烃的测定。

参考文献

[1]环境空气和废气 气相和颗粒物中多环芳烃的测定 气相色谱-质谱法: HJ 646—2013[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2013.

[2]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: HJ 647—2013[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2013.

[3]陈艳, 李永波, 何丰瑞, 等. 超声萃取-高效液相色谱法同时测定大气PM_{2.5}中16种多环芳烃(PAHs) [J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(22): 3217-3220.

[4]牛晓梅, 陈素军. 高效液相色谱法测定PM_{2.5}中多环芳烃 [J]. 环境卫生学杂志, 2015, 5(1): 65-70.

[5]常君瑞, 李娜, 徐春雨, 等. 超声提取-高效液相色谱法测定PM_{2.5}中的多环芳烃 [J]. 实用预防医学, 2016, 23(3): 267-270.

[6]王茜, 郑国颖, 刘英莉, 等. 大气PM_{2.5}中18种多环芳烃的高效液相色谱分析方法 [J]. 环境与职业医学, 2016, 33(3): 278-282.

[7]朱曼洁, 叶芳挺, 王勇为. 应用ISQ单四极杆气质联用仪检测16种多环芳烃 [J]. 环境化学, 2011, 30(4): 901-902.

[8]刘保献, 赵红帅, 王小菊, 等. 超声提取-气相色谱-串联质谱法测定PM_{2.5}中多环芳烃 [J]. 质谱学报, 2015, 36(4): 372-379.

[9]马英歌, 孙谦, 景盛翱, 等. 超声萃取结合气相色谱三重四极杆质谱联用法测定PM_{2.5}大气污染物中多环芳烃含量 [J]. 环境化学, 2015, 34(12): 2327-2329.

(收稿日期: 2017-01-22; 录用日期: 2017-05-10)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 王晓宇; 校对: 陶黎纳)