

大气PM_{2.5}中18种多环芳烃的高效液相色谱分析方法

王茜, 郑国颖, 刘英莉, 郝玉兰, 高红霞, 李清钊, 蒋守芳, 王曼曼, 白玉萍

摘要: [目的] 采用高效液相色谱-紫外荧光(HPLC-UV-FLD)检测技术, 建立大气细颗粒物(PM_{2.5})中18种多环芳烃(PAHs)的分析方法。[方法] 利用超声波辅助提取-固相萃取法分离富集PM_{2.5}样品中的PAHs, 对不同的提取溶剂及比例进行回收率比较, 得到最优处理条件, 建立基于HPLC-UV-FLD的PM_{2.5}中PAHs的分析方法, 采用外标法定量。[结果] 优化色谱条件后, 18种PAHs在40 min内达到基线分离, 方法的精密度的2.9%~11%, 方法回收率为58.4%~105.3%。萘和苊的线性范围在0.05~50 µg/mL, 其余16种PAHs的线性范围均为0.01~50 µg/mL, 相关系数均大于0.997。[结论] 该方法灵敏度高, 线性范围宽, 适用于PM_{2.5}中18种PAHs的检测。

关键词: 超声波萃取; 高效液相色谱-紫外-荧光检测器; 多环芳烃; 大气细颗粒物

Establishment of High Performance Liquid Chromatography Approach for 18 PAHs in Ambient PM_{2.5}
WANG Qian, ZHENG Guo-ying, LIU Ying-li, HAO Yu-lan, GAO Hong-xia, LI Qing-zhao, JIANG Shou-fang, WANG Man-man, BAI Yu-ping (School of Public Health, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China). Address correspondence to WANG Man-man, E-mail: wmm2004@126.com
• The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To establish an analytical approach for determining 18 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in atmospheric fine particulate matters (PM_{2.5}) by high performance liquid chromatography with ultraviolet fluorescence detection (HPLC-UV-FLD). [Methods] The PAHs in PM_{2.5} samples were separated and enriched by ultrasonic assisted extraction combined with solid phase extraction. The optimal processing conditions were obtained by comparing the recovery rates estimated from selected extraction solvents and related proportions, which was then used to establish an analytical approach for the PAHs in PM_{2.5} based on HPLC-UV-FLD with external standard quantification. [Results] After optimization of chromatographic conditions, the 18 PAHs reached the baseline separation in 40 min. The precisions were 2.9%-11%, and the recovery rates were 58.4%-105.3%. The linear ranges were 0.05-50 µg/mL for acenaphthylene and acenaphthene and 0.01-50 µg/mL for the remaining 16 PAHs, with calculated correlation coefficients all greater than 0.997. [Conclusion] The method with high sensitivity and wide linear range could be applied to the detection of 18 kinds of PAHs in atmospheric PM_{2.5}.

Key Words: ultrasonic assisted extraction; high performance liquid chromatography with ultraviolet fluorescence detection; polycyclic aromatic hydrocarbons; fine particulate matter

多环芳烃(PAHs)是由2个以上的苯环组成的碳氢化合物, 具有致癌作用的多为4~6环的稠环化合物, 其中部分具有强致癌性^[1]。汽车工业、烹饪、采暖燃料等生产、生活活动中所排放的PAHs进入大气, 大约有70%~90%吸附在直径小于2.5 µm的细颗粒物(PM_{2.5})上^[2]。因此监测和分析PM_{2.5}中的PAHs的含量及组成, 对于了解大气污染物的来源和分布特征, 制定污染防治策略, 保护人类健康均具有重要意义。

目前, 相关研究多数集中在水和土壤中的PAHs, 而对于大气颗粒物中PAHs的研究相对较少, 目前我国尚未建立检测PM_{2.5}中的PAHs的国家标准。由于PAHs的基体复杂且含量较低, 故一次样品的富集和净化尤为重要, 传统的PAHs样品前处理技术主要有索氏提取、液液萃取及固相萃取等技术, 但上述方法具有操作复杂、萃取时间长、试剂消耗大等缺点, 近年来, 在这些方法的基础上又开发出一些选择性高、经济、高效的前处理技术, 如液相微萃取、固相微萃取、搅拌子吸附萃取、微耗损固相微萃取及分散固相微萃取。在样品前处理过程中, 微波、超声波、加压也可以加速萃取过程, 是前处理较为常用的辅助技术^[3]。测定PAHs含量的方法主要有荧光光度法^[4]、气相色谱法^[5]、

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.15413

[作者简介] 王茜(1970—), 女, 副研究员; 研究方向: 环境有害因素与健康; E-mail: wwqq517@aliyun.com

[通信作者] 王曼曼, E-mail: wmm2004@126.com

[作者单位] 华北理工大学公共卫生学院, 河北 唐山 063000

气相色谱质谱联用^[6]及高效液相色谱法(HPLC)^[7-8], 荧光法需要纸层析, 步骤繁琐, 对于复杂样品的分离效果较差, 目前已较少采用。

目前, 国内报道的大气PM_{2.5}中PAHs的分析方法多至16种。本研究利用超声波辅助提取-固相萃取分离富集PAHs, 利用高效液相色谱-紫外荧光(HPLC-UV-FLD)法检测分析18种PAHs优化色谱条件, 使18种PAHs各组分基本达到基线分离, 探讨检测PM_{2.5}中18种PAHs的方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

大气采样器(武汉天虹仪表有限公司); 玻璃纤维滤膜(90 mm, 上海宏与研究所); Agilent 1200 HPLC配有紫外及荧光检测器(安捷伦科技公司, 美国); KQ-500VDB 双频数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司, 中国); CVE-3100 离心浓缩溶媒回收装置(东京理化株式会社, 日本); PAHs专用柱(4.6 mm × 250 mm, Supelco, 美国); 固相萃取硅胶净化柱(迪马, 美国); 正己烷、二氯甲烷, 乙腈均为色谱纯(Sigma-aldrich, 美国); 超纯水(实验室超纯水系统, 艾科浦, 美国); 无水硫酸钠(Na₂SO₄) (分析纯)。

18种PAHs标准品1000 μg/mL: 萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、屈、苯并[j]荧蒽、苯并[e]芘、苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]芘、茚并[1, 2, 3-c, d]芘、苯并[g, h, i]芘、二苯并[a, h]蒽。均购自美国迪马。

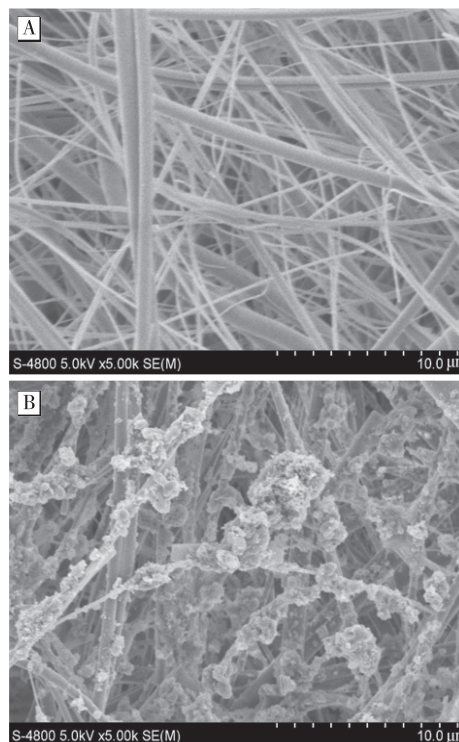
1.2 色谱条件

分别选取不同比例的甲醇/水和乙腈/水作为流动相, 从分离效果、灵敏度、峰形、保留时间等进行比较, 确定最佳分析条件; 检测波长的选择: 利用二极管阵列检测器对紫外波长扫描鉴定, 利用荧光检测器扫描确定荧光波长; 乙腈比例从60%至100%, 流速从0.5 mL/min至1.5 mL/min, 优化洗脱程序。

1.3 样品的采集

采样点设置在唐山市东部和西部两所学校的门前, 附近没有明显污染源, 周围无高大建筑物。使用PM_{2.5}大流量采样器(流速为100 L/min), 进气口高度离地面约1.5 m, 采样时间为2013年12月1日至2014年2月7日, 每天早晨8:00点开始采样, 每个样品连续采集24 h, 共获得37个样品, 采样所用滤膜为玻璃纤维滤膜。采样前用铝箔将滤膜包好, 并留有开口,

放入马弗炉中400℃加热5 h, 目的是去除有机物及增加滤膜韧性。采集前后将滤膜放在恒温恒湿箱中平衡至少24 h后进行称量。平衡条件: 温度(25 ± 1)℃; 相对湿度(50 ± 5)%, 采集的样品放置于-20℃冰柜中冷藏保存备用。样品电镜下观察见图1。



[注]A: 空白滤膜; B: 样品滤膜。

图1 玻璃纤维滤膜的电镜照片(×5000)

1.4 样品预处理

将玻璃纤维滤膜置于处理过的50 mL比色管中, 加入20 mL正己烷/二氯甲烷(体积比1:1)浸泡过夜。次日将浸泡过夜的滤膜放入40℃超声清洗器中超声振荡1 h, 然后将提取液倒入50 mL烧杯中, 再加入适量(没过滤膜即可)正己烷/二氯甲烷(体积比1:1)超声1 h, 提取液并入烧杯中, 如此反复3次。提取液经无水Na₂SO₄过滤, 滤液放入离心浓缩装置中(温度35℃, 转速3000 r/min(离心半径为13.5 cm), 真空泵压力50 hPa)离心浓缩至2 mL, 将浓缩液倒入固相萃取硅胶净化柱中进行分离净化, 用正己烷/二氯甲烷(体积比1:2)混合液洗脱, 再将洗脱液经氮吹近干后加入乙腈定容至1 mL, 经0.45 μm滤膜过滤待分析。

2 结果

2.1 前处理方法的选择与优化

2.1.1 萃取溶剂的选择 由于大气颗粒物中的成分复

杂,且PAHs的质量浓度较低,因此样品的前处理是分析过程中非常重要的环节。固相萃取是一种常用的样品前处理技术,主要是对样品进行富集与净化,即利用不同极性的溶剂将吸附在固相萃取柱上的化合物进行洗脱,以达到分离的目的。本研究利用这一方法对PM_{2.5}中的PAHs进行净化分离,针对颗粒物成分复杂、含量低等特点优化处理条件。分别选择正己烷、正己烷/二氯甲烷(体积比1:1)和乙腈作为萃取剂,比较其对PAHs的回收率。表1可见,萃取剂为正己烷时,平均回收率为75.5%;正己烷/二氯甲烷为萃取剂时,平均回收率为81.7%;而乙腈为萃取剂时,平均回收率为52.7%。因此本实验选择体积比为1:1的正己烷/二氯甲烷做为萃取溶剂。

表1 不同萃取剂对PAHs的回收率(%)

组分	正己烷	正己烷/二氯甲烷(1:1)	乙腈
蔡	ND	133.3	ND
苊烯	ND	61.3	56.2
苊	ND	102.2	43.9
芴	34.2	65.3	37.1
菲	67.7	74.7	47.4
蒽	65.1	72.3	52.1
荧蒽	95.8	81.3	55.2
芘	94.9	80.7	55.9
苯并[a]蒽	105.8	82.9	54.2
屈	113.6	82.4	55.9
苯并[b]荧蒽	136.2	79.9	54.7
苯并[k]荧蒽	107.9	79.1	55.0
苯并[j]荧蒽	104.1	80.6	54.2
苯并[a]芘	116.0	89.6	54.7
苯并[e]芘	101.6	97.0	57.8
茚并[1,2,3-c,d]芘	75.6	96.3	51.8
苯并[g,h,i]芘	71.1	84.7	52.5
二苯并[a,h]蒽	70.1	79.4	52.3
PAHs平均值	75.5	81.7	52.7

[注]ND:未检出。

2.1.2 洗脱液的选择 以不同比例的正己烷和二氯甲烷混合液作为洗脱液,经比较发现,洗脱液中正己烷:二氯甲烷为2:1(体积比)时,平均回收率为65.7%;体积比为1:1时,平均回收率是83.9%;体积比为2:1时,平均回收率是70.4%。结果表明,以体积比为1:1正己烷和二氯甲烷混合液做为提取剂和洗脱液时加标回收率最高。根据美国环境保护署(EPA)对PAHs检测方法回收率的要求,加标回收率应在70%~110%之间,因此本实验选择体积比为1:1的正己烷和二氯甲烷混合液为洗脱液。

2.2 色谱条件的优化

在色谱分析过程中影响分离效果的因素很多,如:流动相、色谱柱、温度、流速等都不同程度影响色谱峰的分离。乙腈的黏度系数小于甲醇,柱压低,分析时间较甲醇短,因此选择乙腈/水作为流动相合适,在实验过程中为使18种PAHs尽量在短时间内出峰且基本达到基线分离需要采用梯度洗脱程序,考虑到色谱柱、梯度泵的最大承受压力(≤ 400 Pa),对梯度洗脱程序进行优化。柱温对分离有一定影响,在室温条件下,分离结果随着温度升高保留时间逐渐缩短,但有些成分不能达到良好的基线分离,而且仪器柱温过高会影响仪器整体的协调性,因此,柱温选择30℃。经过多次实验确定如下色谱条件:色谱柱,PAHs专用柱,5 μ m C₁₈保护柱(Supelco,美国);流动相,乙腈和水;柱温30℃;进样量20 μ L;梯度洗脱程序见表2。

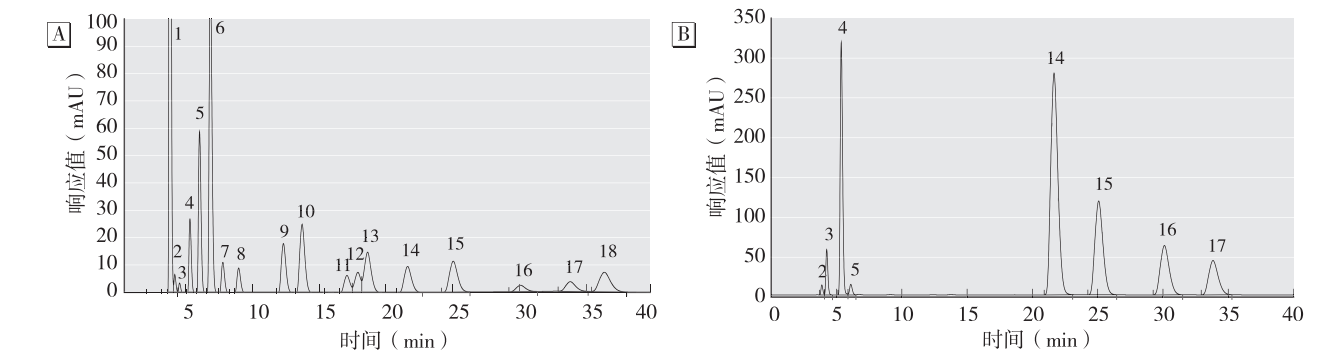
表2 梯度洗脱程序

时间(min)	比例(%)		流速(mL/min)	保持(min)
	乙腈	水		
0	65	35	1.0	10
14	85	15	1.0	—
30	90	10	1.2	—
40	85	15	1.2	10

18种PAHs对紫外检测器均有响应,但响应信号强弱不同,本研究对检测波长进行多次实验,最终根据各组分对不同检测波长的响应强度,筛选出最佳紫外检测波长是254 nm;荧光检测激发波长(λ_{ex})为280 nm,发射波长(λ_{em})为340 nm。实验结果显示,蔡、苊烯、菲、芴、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、屈、苯并[b]荧蒽、苯并[j]荧蒽、苯并[k]荧蒽、二苯并[a,h]蒽对紫外检测器灵敏度高,而苊、芴、苯并[a]芘、苯并[e]芘、茚并[1,2,3-c,d]芘、苯并[g,h,i]芘对荧光检测器灵敏度较高(见图2)。

2.3 方法评价

2.3.1 方法的线性范围、回归方程、相关系数及检出限 将已配制好的18种PAHs混合标准储备液配成一系列不同浓度的混合液依次进样,在优化的色谱条件下进行测定,各组分的峰面积($\hat{y}$)与浓度(x)间呈良好的线性关系,相关系数均大于0.995。其中苊烯和苊的线性范围在0.05~50 μ g/mL,其余16种PAHs的线性范围均为0.01~50 μ g/mL。方法中各化合物的线性方程、相关系数及检出限见表3,信噪比(S/N)=3。



[注]1: 萘; 2: 苊烯; 3: 苊; 4: 芴; 5: 菲; 6: 蒽; 7: 荧蒽; 8: 芘; 9: 苯并[a]蒽; 10: 屈; 11: 苯并[b]荧蒽; 12: 苯并[k]荧蒽; 13: 苯并[j]荧蒽; 14: 苯并[a]芘; 15: 苯并[e]芘; 16: 苝并[1, 2, 3-c, d]芘; 17: 苯并[g, h, i]花; 18: 二苯并[a, h]蒽。

图2 多环芳烃标准样品的紫外(A)和荧光(B)色谱图

表3 18种PAHs的线性方程, 相关系数和检出限

组分	紫外检测器		荧光检测器		检出限(ng/m ³)
	线性方程	相关系数(<i>r</i>)	线性方程	相关系数(<i>r</i>)	
萘	$\hat{y}=688.4x+7.551$	0.999 4	—	—	1.00
苊烯	$\hat{y}=16.31x-3.398$	0.998 9	$\hat{y}=146.4x-18.82$	0.997 9	25.00
苊	$\hat{y}=9.596x-0.905$	0.998 9	—	—	25.00
芴	—	—	$\hat{y}=919.8x-84.33$	0.999 4	1.00
菲	$\hat{y}=180.5x-15.59$	0.998 4	—	—	0.50
蒽	$\hat{y}=378.1x-10.86$	0.999 4	—	—	0.25
荧蒽	$\hat{y}=42.86x-3.458$	0.998 4	—	—	10.00
芘	$\hat{y}=39.46x-3.097$	0.998 9	—	—	10.00
苯并[a]蒽	$\hat{y}=99.99x-7.066$	0.998 9	—	—	4.00
屈	$\hat{y}=150.8x-8.294$	0.999 4	—	—	2.50
苯并[b]荧蒽	$\hat{y}=43.60x-0.069$	0.998 9	—	—	10.00
苯并[k]荧蒽	$\hat{y}=54.70x-2.034$	1.000 0	—	—	10.00
苯并[j]荧蒽	$\hat{y}=117.9x-12.66$	0.998 9	—	—	5.00
苯并[a]芘	$\hat{y}=80.57x-2.581$	0.998 4	$\hat{y}=2310x-122.5$	0.998 9	0.01
苯并[e]芘	$\hat{y}=107.8x-2.639$	0.998 9	$\hat{y}=1128x-68.78$	0.998 9	0.05
苝并[1, 2, 3-c, d]芘	$\hat{y}=91.69x-7.036$	0.996 9	$\hat{y}=513.3x-35.16$	0.998 9	0.07
苯并[g, h, i]花	$\hat{y}=37.26x-2.041$	0.995 9	$\hat{y}=629.4x-20.34$	0.999 4	0.75
二苯并[a, h]蒽	$\hat{y}=23.47x-0.145$	0.999 4	—	—	15.00

2.3.2 回收率及精密度 在预处理过的空白滤膜上分别加入1 μg和5 μg的18种PAHs混合标准品, 用1.4的方法处理滤膜, 经过正己烷浸泡过夜, 超声波提取, 离心浓缩等步骤后, 准确定容备色谱分析, 以实测值与原标准物质加入量之比求得加标回收率, 样品平行测定6次, 计算出平均加标回收率(表4)。18种PAHs的加标回收率在58.4%~105.3%之间, 能够满足环境样品的分析要求。

2.4 实际样品的分析

将采集的样品按实验方法处理, 经HPLC-UV-FLD检测分析。图3表明, 该方法灵敏、准确、可靠, 适用于大气PM_{2.5}中18种PAHs的分析。

表4 方法的回收率及相对标准偏差(*n*=6)

组分	加标量(μg)	回收率(%)	相对标准偏差(%)
萘	1	66.7	8.2
	5	71.5	6.3
苊烯	1	58.4	11.0
	5	62.2	9.4
苊	1	59.5	10.5
	5	68.0	8.7
芴	1	87.5	6.6
	5	91.0	5.3
菲	1	92.5	5.7
	5	96.0	4.5
蒽	1	98.2	4.1
	5	101.0	2.9

续表 4

组分	加标量(μg)	回收率(%)	相对标准偏差(%)
蒽	1	86.3	7.1
	5	90.2	5.5
芘	1	84.4	7.3
	5	89.0	5.4
苯并[a]蒽	1	91.0	5.0
	5	95.0	4.2
屈	1	89.2	5.5
	5	90.6	4.8
苯并[b]蒽	1	74.6	5.9
	5	80.5	5.6
苯并[k]蒽	1	71.5	6.6
	5	74.7	6.1
苯并[j]蒽	1	77.0	6.9
	5	89.4	6.4
苯并[a]芘	1	96.3	3.8
	5	99.0	3.2
苯并[e]芘	1	88.2	4.5
	5	94.5	2.8
茚并[1,2,3-c,d]芘	1	78.0	6.9
	5	85.6	5.7
苯并[g,h,i]花	1	96.0	4.2
	5	105.3	3.6
二苯并[a,h]蒽	1	77.4	7.3
	5	89.0	6.8

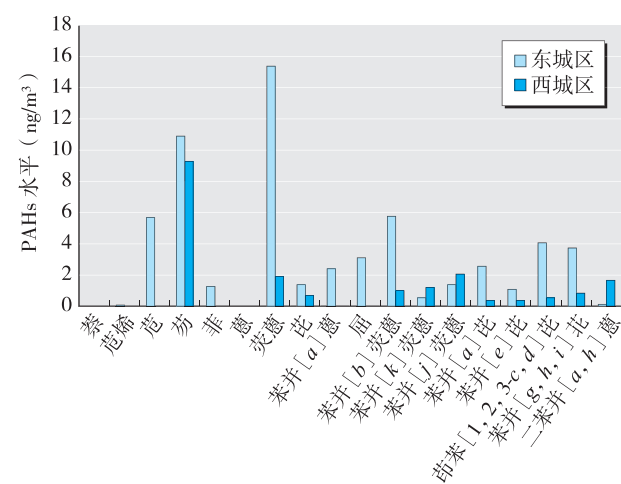


图3 唐山市区大气PM_{2.5}中18种PAHs的水平(ng/m³)

3 讨论

大气PM_{2.5}中的PAHs通过超声波辅助提取-固相萃取法,硅胶柱净化富集,再通过HPLC-UV-FLD检测分析,结果显示,18种PAHs中以3~6环的化

合物回收率较高,均在70%以上,其蒸汽压范围非常宽($1.1 \times 10^{-2} \sim 10^{-13}$ kPa, 25℃),苯环数目在2~3的PAHs蒸汽压较高,主要分布在气相中;具有5~6环的PAHs蒸汽压较低,主要吸附在颗粒物表面,3~4环的PAHs在气相和大气颗粒物均有分布^[9]。因此蒸汽压较高的2环的蒽、芘和菲在样品处理的过程中气化逸出,从而导致回收率较低。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

[1]刘金巍,安彩秀,王磊,等.质谱法测定大气颗粒物中多环芳烃的内标选择和质量控制[J].岩矿测试,2012,3(2):325-330.

[2]刘大锰,李运勇,蒋伯坤,等.北京首钢地区大气颗粒物中有机污染物的初步研究[J].地球科学,2003,28(3):327-332.

[3]李荫,柳叶,孙晓伟,等.多环芳烃样品前处理技术研究进展[J].环境化学,2015,34(8):1460-1468.

[4]何立芳,项晓燕,章汝平.超声波萃取-同步荧光法测定土壤中的多环芳烃研究[J].安全与环境学报,2011,11(5):103-108.

[5]刘菲,刘永刚.固相萃取-气相色谱测定地下水中多环芳烃的质量控制研究[J].有色矿冶,2004,20(1):51-55.

[6]李晓敏,张庆华,王璞,等.搅拌子固相-吸附-热脱附-气相色谱/质谱/质谱法快速测定空气中多环芳烃[J].分析化学,2011,39(11):1641-1646.

[7]郑红燕,汪利民,谭皓,等.大气中16种多环芳烃化合物高效液相色谱法测定[J].监测与检验技术,2006,24(9):564-566.

[8]Sikalos TI, Paleologos EK, Karayannis MI. Monitoring of time variation and effect of some meteorological parameters in polynuclear aromatic hydrocarbons in Ioannina, Greece with the aid of HPLC fluorescence analysis[J]. Talanta, 2002, 58(3):497-510.

[9]白玉萍,郑国颖,吴立新,等.工作场所空气中多环芳烃的采样和高效液相色谱分析[J].中华劳动卫生职业病杂志,2014,32(5):386-390.

(收稿日期:2015-07-01)

(英文编辑:汪源;编辑:洪琪;校对:汪源)