

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017042001

徐宏辉, 徐婧莎, 何俊, 等. 高效液相色谱-三重四极杆质谱法快速测定真菌气溶胶示踪物[J]. 环境化学, 2017, 36(12): 2683-2689.

XU Honghui, XU Jingsha, HE Jun, et al. Rapid determination of fungal aerosol tracers using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(12): 2683-2689.

高效液相色谱-三重四极杆质谱法快速 测定真菌气溶胶示踪物*

徐宏辉¹ 徐婧莎² 何俊^{2**} 姜瑜君¹ 浦静姣¹

(1. 浙江省气象科学研究所, 杭州, 310008; 2. 宁波诺丁汉大学化学与环境工程系, 宁波, 315100)

摘要 为实现真菌气溶胶示踪物的准确、快速、高灵敏测定, 通过高效液相色谱和三重四极杆质谱联用, 优化相关分析参数, 建立了对阿糖醇和甘露醇这 2 种目标有机示踪物无需衍生化处理即可进行直接检测的快速分析方法. 结果显示, 在流动相氨水的浓度 0.0001%、流速选择 0.4 mL·min⁻¹、柱温箱温度 45 °C、负离子模式条件下, 2 种目标有机示踪物的线性范围是 0.01—1 mg·L⁻¹ ($R^2 > 0.99$), 检测限分别达到 5.6 μg·L⁻¹ (阿糖醇)、9.4 μg·L⁻¹ (甘露醇). 该方法检测限低、灵敏度高、样品回收率高、重现性好, 并具有较好的实用性.

关键词 真菌气溶胶, 示踪物, 阿糖醇, 甘露醇, 高效液相色谱-三重四极杆质谱.

Rapid determination of fungal aerosol tracers using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

XU Honghui¹ XU Jingsha² HE Jun^{2**} JIANG Yujun¹ PU Jingjiao¹

(1. Zhejiang Institute of Meteorological Sciences, Hangzhou, 310008, China;

2. Department of Chemical and Environmental Engineering, The University of Nottingham Ningbo China, Ningbo, 315100, China)

Abstract: An accurate, fast and sensitive analytical method for fungi aerosol tracers including both arabitol and mannitol has been developed using high performance liquid chromatography (HPLC)-tandem mass spectrometry (MS/MS) without any derivatization process, which is able to greatly reduce sample preparation time. The optimum analytical condition has been established as below: ammonium hydroxide (ω : 0.0001%) as mobile phase with a flow rate of 0.4 mL·min⁻¹, oven temperature of 45 °C, and negative ion electrospray ionization. Under the abovementioned analytical condition, the linear range of the two organic tracers is 0.01—1 mg·L⁻¹ ($R^2 > 0.99$) and limits of detection (LOD) are 5.6 μg·L⁻¹ (arabitol) and 9.4 μg·L⁻¹ (mannitol), respectively. After validation and application to the real aerosol samples, this new method has been proved to be a reliable and cost-effective alternative technique for analysis of both arabitol and mannitol.

Keywords: fungal aerosols, tracer, arabitol, mannitol, HPLC-MS/MS.

2017 年 4 月 20 日收稿 (Received: April 20, 2017).

* 国家重点研发计划 (2016YFC0201900), 国家自然科学基金 (41303091, 91544226), 浙江省公益技术研究社会发展项目 (2015C33011) 和宁波市室内空气污染净化技术创新团队 (2017C510001) 资助.

Supported by the National Key R&D Program of China (2016YFC0201900), the National Natural Science Foundation of China (41303091, 91544226), Nonprofit Technology Applied Research Project of the Zhejiang Province (2015C33011) and Ningbo Innovation Team on Indoor Air Pollution Control Technology (2017C510001).

** 通讯联系人, Tel: 18957488010, E-mail: Jun.He@nottingham.edu.cn

Corresponding author, Tel: 18957488010, E-mail: Jun.He@nottingham.edu.cn

生物气溶胶在大气中的扩散、传播会引发人类的急慢性疾病以及动植物疾病,甚至影响农作物的产量,还可以间接影响全球气候变化,并对大气化学和物理过程有着潜在的重要影响^[1-3].我国对生物气溶胶特性的研究,特别是对真菌气溶胶的研究相对缺乏^[4-6].2012年在四川盆地的研究表明,真菌大量存在于植物及地表土壤等环境中,野外火灾发生地区的大气气溶胶中甘露醇和阿糖醇的浓度会急剧上升^[7].中国海南岛尖风岭为代表的热带雨林地区,真菌孢子对PM₁₀和有机碳的质量贡献分别可高达18.2%和26.1%^[8];东亚地区的颗粒物中也含有大量的真菌孢子^[9].

近年来已开始利用真菌孢子示踪物来测定和计算该类真菌对大气气溶胶的贡献并对其进行源解析^[7,10].阿糖醇(arabitol)和甘露醇(mannitol)作为广泛采用的真菌孢子示踪物,它们的浓度与气溶胶中真菌孢子的数目浓度具有极高的相关性^[8,11].目前对甘露醇和阿糖醇的检测分析主要有比色法和色谱法.比色法由于干扰物质多,误差较大;气相质谱法需要对样品进行衍生化处理,样品准备耗时过长^[12-13].

本研究利用高效液相色谱及三重四极杆质谱(HPLC-ESI-MS/MS),通过优化相关分析参数,建立对阿糖醇和甘露醇这2种目标有机示踪物无需衍生化处理即可进行直接检测的快速分析方法.该方法尚鲜见文献报道.最后,将该方法应用于在多个外场采样点所采集的气溶胶样品的测试.

1 实验部分(Experimental section)

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱:HPLC 30A(岛津,日本);质谱仪:ABsciex 3200 Q trap 三重四极杆质谱(爱博才思,加拿大).气相色谱-质谱仪:7890B气相色谱仪和5977A质谱仪(安捷伦,美国).

标准纯品:阿糖醇(≥99.9%)购自Sigma-Aldrich公司(St. Louis, USA);甘露醇(≥99.0%)购自Sigma-Aldrich公司(St. Louis, USA);氨水(色谱纯)购自Sigma-Aldrich公司(St. Louis, USA).双三甲基硅基三氟乙酰胺(BSTFA)购自Sigma-Aldrich公司(St. Louis, USA).

质量分数为0.001%(约0.528 mmol·L⁻¹)的氨水配制步骤为:取800 mL超纯水,经超声脱气后,加入160 μL的5%的氨水(由质量分数为25%的原氨水稀释5倍得到),摇匀、静置.本项目用到的所有流动相都需经超声脱气处理,超声仪的功率为150 W,使用频率为40 kHz,超声时间为5—10 min,以排除O₂和N₂等保证流量准确,提高色谱图重现性,同时避免流动相与空气中CO₂的接触形成碳酸盐,吸附在柱子上而影响柱效.

1.2 色谱质谱条件

色谱柱选用Dionex阴离子交换分析柱(Dionex Carbopac MA1, 250 mm×4 mm)及保护柱(Carbopac MA1, 50 mm×4 mm),质谱的离子源采用电喷雾离子源.

流动相选择为质量分数0.001%的氨水和超纯水(10:90, V/V),恒流速设定为0.4 mL·min⁻¹,柱温箱温度为45℃.最佳离子喷雾电压设定为-3800 V,雾化气设定为38 psi,雾化温度设定为650℃,辅助加热气设定为80 psi,气帘气设定为46 psi.选择的各个目标物的代表性母、子离子对及对应的化合物参数如表4所示.进样量为10 μL.每两个样品之间采用相同的液相条件平衡柱子3 min.

1.3 样品分析过程

将阿糖醇以及甘露醇的标准品用超纯水进行稀释获得5 mg·L⁻¹的阿糖醇和甘露醇的单标溶液以及1 mg·L⁻¹的混标溶液用于方法优化.实际气溶胶样品的测试操作步骤如下:采样获得的24 h大流量(1.05 m³·min⁻¹)气溶胶样品,剪取3 cm×3 cm的滤膜;获得的24 h中流量(80 L·min⁻¹)气溶胶样品,剪取1/8的滤膜,分别加入3 mL的超纯水在室温下进行45 min的超声萃取,萃取过后经0.45 μm的滤膜过滤后用HPLC-ESI-MS/MS进行测试.

1.4 衍生化处理

配置0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1 mg·L⁻¹阿糖醇和甘露醇混标溶液,取500 μL混标溶液与100 μL衍生化试剂(BSTFA)加入带聚四氟乙烯盖子的试管,在80℃水浴中使用磁力搅拌棒搅拌1 h.取1 μL经衍生化处理的溶液注射进GC-MS进行测试.详细实验方法见文献[13].

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 特征母、子离子对的选择

三重四极杆质谱具有极佳的离子质量/电荷比选择性能,将 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的阿糖醇和甘露醇分别注入质谱分析确定母离子和子离子;在负离子条件下(负离子模式适合酸性及中性样品,或含有多个羟基时;目标示踪物偏中性且含数个羟基),各个组分在喷雾电压和雾化气的作用下形成喷雾状的带电液滴,接着在雾化高温和辅助加热气的作用下,离子从液滴中脱落,产生气相离子;气相离子在接口处聚焦,在气帘气的带动下进入质量分析器;利用 Q1 四极杆扫描母离子, Q3 四极杆扫描子离子,调整碰撞能量(CE)等质谱参数,使各离子强度最高,每个离子的质荷比(m/z)精确到 0.1 amu .甘露醇- ^{13}C 在实际空气颗粒物样品中几乎不存在,在本研究中作为内标物.阿糖醇、甘露醇和甘露醇- ^{13}C 的母离子分别为 m/z 151.0, m/z 181.0 和 m/z 182.0.阿糖醇、甘露醇及甘露醇- ^{13}C 的子离子依次为 m/z 71.0、59.0, m/z 89.1、71.0 以及 m/z 59.0、71.0、89.1、101.0.

2.2 液相参数的优化

分析柱及保护柱选择了适合糖醇类分离的阴离子交换分析柱(CarboPac MA1).与之匹配的流动相要求为碱性溶液,由于氢氧化钠溶液容易在高温下析出结晶,可能会在离子源高温下析出晶体堵塞接口,因此这里选用易挥发的高效液相级别的氨水作为流动相.流动相梯度浓度的改变经实验证明对目标物的分离和灵敏度影响不大,因此液相参数的优化主要是对流动相浓度、流速和柱温箱温度的优化.

优化流动相氨水的浓度可以使目标物的灵敏度提高,具体可通过改变流动相比例(氨水与超纯水的比例)实现流动相浓度的改变,经多次反复实验证实流动相氨水在质量分数为 $0.0001\%—0.001\%$ (约 $0.005—0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的范围内影响较大.如图 1,2 种有机示踪物的峰值受流动相氨水浓度的变化效果显著.阿糖醇和甘露醇在流动相浓度为 0.0001% (质量分数)时即流动相氨水(质量浓度约 0.001%)-超纯水比例为 $10:90$ (V/V) 时的峰值最高.因此,优化后的流动相氨水的质量浓度选定为 0.0001% (约 $0.0528 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$).

柱效是柱中流动相线性流速的函数,因此使用不同的流速可得到不同的柱效.一般流速越高,保留时间越短,柱压也越高,最佳流速下,柱压不应超过柱子的最高耐压.本研究采用恒流速洗脱,由于柱子的适用流速范围为 $0.2—0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,流速的优化选择在 0.2 、 0.25 、 0.3 、 0.35 、 0.4 、 0.45 、 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.但是,在实际实验操作中,每当流速 $\geq 0.45 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,柱压接近或超过最大值 2000 psi ,因此,流速的优化选择在 0.2 、 0.25 、 0.3 、 0.35 、 $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.图 2 显示阿糖醇和甘露醇在流动相流速为 $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,峰值最高.因此,优化后的流动相流速选择为 $0.4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

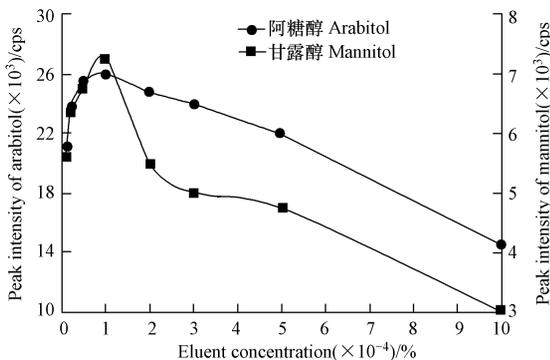


图 1 流动相浓度的变化对目标示踪物峰值的影响

Fig.1 Optimization of eluent concentration for arabitol and mannitol detection

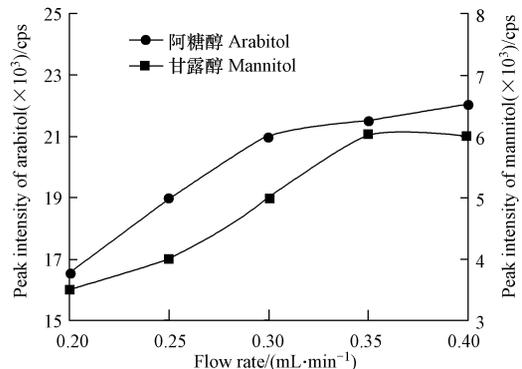


图 2 流动相流速的变化对 2 种目标示踪物峰值的影响

Fig.2 Optimization of eluent flow rate for arabitol and mannitol detection

不同的柱温会改变流动相黏度系数,柱温越高,样品保留时间越短,峰形越窄,峰的响应值越高.但柱温不宜超过柱子的最佳温度范围.柱子耐受温度为 $4—50 \text{ }^\circ\text{C}$,为确保柱子的柱效,长时间使用柱子时,

柱子温度以不超过其最高温度的 90% 为宜,因此,柱温箱温度的优化选择为 25、30、35、40、45 °C。如图 3 所示,2 种目标物在柱温箱温度为 45 °C 时峰值最高,因此,优化后的柱温箱温度选择为 45 °C。

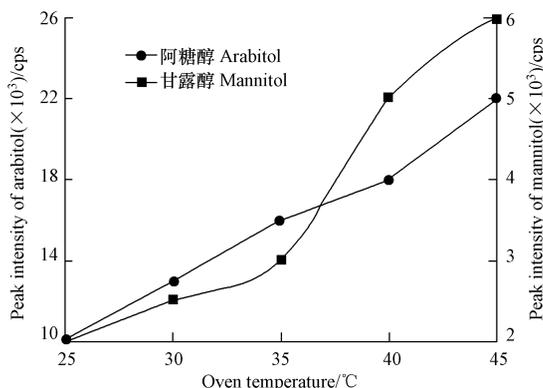


图 3 柱温箱温度的变化对 2 种目标示踪物峰值的影响

Fig.3 Optimization of column oven temperature for arabitrol and mannitol detection

2.3 质谱参数的优化

采用质谱多反应监测 (MRM) 分析方法 (MRM 方法具有灵敏度高、重现性好和准确度高的特点,适合已知分析物反应离子的检测),结合优化后的液相参数确定初步的液质联用 LC-MRM 方法。该方法单个样品的分析检测时间为 70 min,同步化模式为“LC sync”即液相同步模式。采用质谱多反应监测 (MRM) 分析方法可以选择多个母、子离子对同时进行检测,进入质量分析器 (QqQ) 后,利用 Q1 四极杆扫描母离子,然后 Q3 四极杆扫描子离子,设定只有质荷比为 151.0、181.0、182.0 的母离子 (表 1) 能通过一级质谱 (MS1/Q1) 进入碰撞室 (q2),设定在碰撞室被打碎的碎片离子中 71.0、59.0、89.1、101.0 等特征子离子 (表 1) 能通过二级质谱 (MS2/Q3) 并被最后的检测器检测;相同的母、子离子对的化合物参数相同。最后选择丰度最高的母、子离子组合进行定量,其他母、子离子组合用于定性。

质谱参数优化过程采用上述初步确定的液质联用 LC-MRM 方法,用流动注射分析法 (Flow injection analysis/ FIA),设定不同的离子源和化合物参数后,可以用来自动进样分析。分析结束后,比较各个化合物代表性的母、子离子对在不同的离子源和化合物参数条件下的峰值,从测试结果中选择拥有最高峰值的各参数为最终液质联用方法的质谱参数。每个离子对的化合物参数都需经多次优化后取最佳值以使其灵敏度最高,最终优化后得到的方法中的离子源参数为:气帘气 (CUR), 46.0 psi; 离子喷雾电压 (IS), -3800 V; 离子源雾化温度 (TEM), 650 °C; 雾化气 (Gas1), 38 psi; 辅助加热气 (Gas2), 80 psi。化合物参数见表 1。

表 1 化合物参数

Table 1 Compound parameters

	母离子 Parent ion	子离子 Product ion	去簇电压 Declustering potential /V	入口电压 Entrance potential /V	碰撞室入口电压 Collision cell entrance potential/V	碰撞能 Collision energy /V	碰撞室 出口电压 Collision cell exit potential/V
阿糖醇	151.0	71.0	-32	-2.5	-10	-25	-1.2
	151.0	59.0	-30	-3.0	-10	-28	-1.0
甘露醇	181.0	89.1	-32	-2.8	-15	-20	-1.7
	181.0	71.0	-32	-2.2	-8	-30	-1.2
甘露醇- ^{13}C	182.0	59.0	-38	-3.0	-10	-30	-1.2
	182.0	71.0	-38	-2.2	-10	-30	-1.2
	182.0	89.1	-35	-2.0	-15	-20	-1.5
	182.0	101.0	-35	-2.0	-15	-20	-1.2

2.4 方法评估

2.4.1 方法的各项指标评价

采用上述新建立的高效液相色谱及三重四极杆线性阱质谱方法对 2 种目标示踪物和内标物甘露醇-1-¹³C 的标准样品进行了测试,它们的特征母、子离子色谱图见图 4.由图 4 可知,2 种目标化合物得到了良好的分离,甘露醇和甘露醇-1-¹³C 的保留时间一致,但由于这 2 种物质拥有不同的母、子离子对,因此,各个离子对可分别从图中提取进行定量分析。

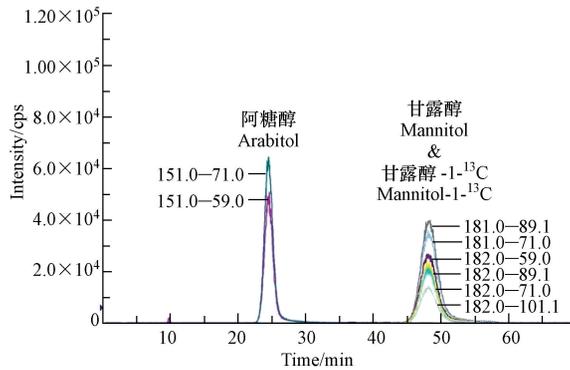


图 4 2 种有机示踪物和甘露醇-1-¹³C 的液质联用特征母子离子色谱图

Fig.4 The HPLC-MSMS chromatogram of 2 organic tracers and mannitol-1-¹³C on selective m/z

目标有机示踪物的特征母、子离子、保留时间、检测限、校准标线浓度范围、线性系数及加标回收率、重复率见表 2. 方法检测限(LOD)定义为信噪比 ≥ 3 的化合物最低浓度.萃取液中的检测限浓度同时转化成了其在空气中的 24 h 日均浓度:1.05 $\text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ 的大流量空气细颗粒物样品(24 h 采样总体积:1512 m^3)以及的 80 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 中流量空气细颗粒物样品(24 h 采样总体积:115.2 m^3).如表 2 所示,萃取液中检测限介于 5.6 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (阿糖醇)和 9.4 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (甘露醇)之间,转化成用 1.05 $\text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ 的大流量采样器采集的空气中的日均浓度为 0.7—1.2 $\text{ng} \cdot \text{m}^{-3}$,转化成用 80 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 的中流量采样器采集的空气中的日均浓度为 1.2—2.0 $\text{ng} \cdot \text{m}^{-3}$,皆小于上述提到的参考文献中的检测限^[12-13],说明对比其他的检测方法,该方法对于较低浓度($\text{ng} \cdot \text{m}^{-3}$ 级)的示踪物有很好的检测效果。

表 2 高效液相色谱及三重四极杆质谱的分析方法评估结果

Table 2 Evaluation results of HPLC-ESI-MSMS analytical method

保留时间 Retention time/min	注射体积 Injection volume/ μL	检测限 LOD		校准标线 Calibration curve			峰面积 Peak area RSD%			
		萃取浓度 Extracted concentration/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	气溶胶浓度 ^a Aerosol concentration ^a / $(\text{ng} \cdot \text{m}^{-3})$	气溶胶浓度 ^b Aerosol concentration ^b / $(\text{ng} \cdot \text{m}^{-3})$	浓度范围 Concentration range/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	线性系数 Linear coefficient	加标回收率 Recovery of spiked standards/%	重复率 (标准样品, $n=5$) Producibility	重复率 (气溶胶样品, $n=4$) Producibility	
阿糖醇	24.5	10	5.6	0.7	1.2	0.01—1	0.9998	101.3 \pm 2.3	1.4	0.4
甘露醇	48.3	10	9.4	1.2	2.0	0.01—1	0.9995	100.3 \pm 1.3	2.2	1.8
甘露醇-1- ¹³ C	48.3	10	5.6	n.a. ^c	n.a.	0.01—1	0.9996	101.3 \pm 1.8	1.6	n.a.

注:^a 24 h $\text{PM}_{2.5}$ 样品, 1512 m^3 采样空气体积. ^b 24 h $\text{PM}_{2.5}$ 样品, 115.2 m^3 采样空气体积. ^c 甘露醇-1-¹³C 作为内标物在实际空气颗粒物样品中几乎不存在, 不能被检测到。

^a 24 h $\text{PM}_{2.5}$ sample, 1512 m^3 air volume. ^b 24 h $\text{PM}_{2.5}$ sample, 115.2 m^3 air volume. ^c Not available as ¹³C-Mannitol can't be detected in aerosol samples.

另外,如图 5 所示,将新建立的 HPLC-ESI-MS/MS 的分析方法与传统的气相色谱质谱法(GC-MS)分别测试相同浓度标准物质配比的样品,对上述这 2 种目标有机示踪物分析效果及准确性进行比较.用两种方法检测甘露醇,相关系数达到了 0.948 ($R^2 = 0.8996, P < 0.001$);检测阿糖醇,相关系数达到了 0.951 ($R^2 = 0.9053, P < 0.001$).由此可见,新建立的 HPLC-ESI-MS/MS 的分析方法是有效且可靠的。

综上所述,用该新方法对 3 种示踪物可直接进行同步检测,各个示踪物的检测限均达到 $\text{ng} \cdot \text{m}^{-3}$ 级,且其回收率高,检测准确,重复率高,方法稳定.因此,经过上述实验结果证实新方法准确性高、可靠性强。

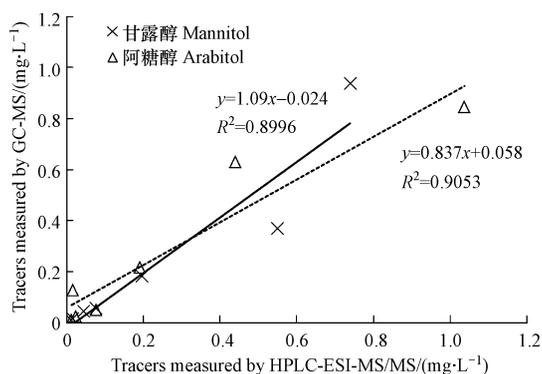


图5 HPLC-ESI-MS/MS法与气相色谱质谱法测试示踪物浓度的比较

Fig.5 Comparison of tracers concentrations measured by HPLC-ESI-MS/MS and GC-MS methods

2.4.2 实际样品分析

在2014年11月12日至2015年11月12日间于长三角地区4个采样点利用中流量采样仪采集空气细颗粒物($PM_{2.5}$)样品;采样点包括:宁波城郊(UNNC)、宁波市区(NMB)、临安郊区(LRABS)以及杭州市区(HMB).采样频率选在每6d1次,1次采样24h,空白样品每月收集1次.大流量($1.05\text{ m}^3\cdot\text{min}^{-1}$)采样的玻璃滤膜(武汉天虹, $18.2\text{ cm}\times 23.2\text{ cm}$)在采样前提前于 $550\text{ }^\circ\text{C}$ 下烘烤5h,以去除可能的有机物残留,然后在恒温恒湿的条件下平衡24h后用电子天平(型号:AL104, Mettler Toledo, 精确度 0.1 mg)称重,用铝箔纸密封包装用于后续采样;采样后的滤膜同样用铝箔密封包装存于 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 的冰箱中直至对样品进行提取分析.中流量($80\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$)采样的石英滤膜(Whatman, 直径 90 mm)在采样前于 $550\text{ }^\circ\text{C}$ 下烘烤5h,以去除可能的有机物残留,再在恒温恒湿的条件下平衡24h后用微量天平(型号:SE2-F, Sartorius, 精确度 $0.1\text{ }\mu\text{g}$)称重,用铝箔纸密封包装用于后续采样;采样后的滤膜同样用铝箔密封包装存于 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 的冰箱中直至对样品进行提取分析.

各个采样点收集的细颗粒物样品经分析后所得的上述有机示踪物的季均值如图6所示.长三角地区(4个采样点的均值)阿糖醇和甘露醇的年均浓度分别为 $5.6\pm 0.7\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$ 和 $5.7\pm 1.3\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$.通过对长三角地区4个点的实际样品分析结果可看出,真菌孢子示踪物阿糖醇和甘露醇的浓度在夏季的浓度比较高,特别是甘露醇,可能的原因是夏季温暖湿润的空气有利于孢子的繁殖.此外,夏季的气团有更多的海洋性来源,海藻中的孢子也会对阿糖醇和甘露醇有一定的贡献.

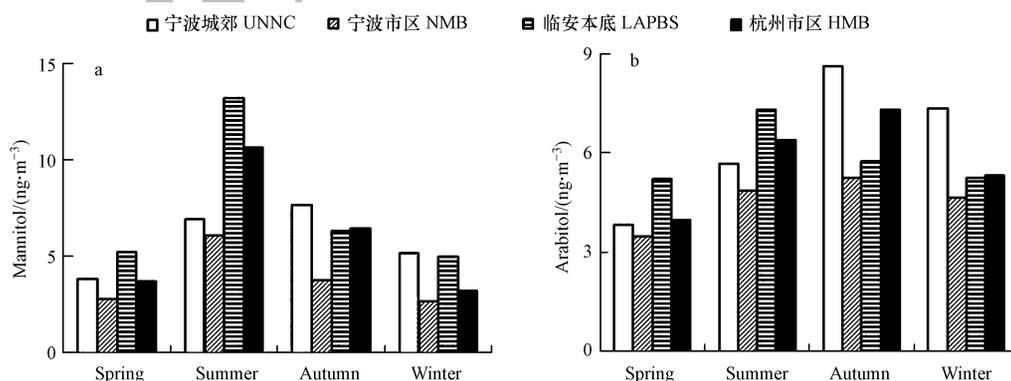


图6 长三角地区典型外场采样点真菌气溶胶有机示踪物的季平均浓度

a. 甘露醇 mannitol; b. 阿糖醇 arabitol

Fig.6 Seasonal average concentrations of fungi aerosol tracers at typical field sampling stations in Yangtze River Delta

3 结论(Conclusion)

基于优化后的高效液相色谱及三重四极杆质谱的新型分析方法,实现对阿糖醇和甘露醇这2种真

菌气溶胶有机示踪物无需衍生化处理即可进行直接检测.与传统的方法相比,本方法具有操作简单、快速、灵敏度高等优点.将新建立的 HPLC-ESI-MS/MS 的分析方法与传统的 GC-MS 分析方法分别测试相同浓度标准物质配比的样品,其结果显示用两种方法检测甘露醇和阿糖醇的相关系数分别达到了 0.948 ($R^2 = 0.8996, P < 0.001$) 以及 0.951 ($R^2 = 0.9053, P < 0.001$).由此可见,新建立的 HPLC-ESI-MS/MS 的分析方法是有效且可靠的.实验结果表明,该方法可应用于真菌气溶胶的日常分析,有助于提高该类气溶胶成分的检测效率并节省分析所需耗材.

通过对长三角地区 4 个点采集的空气细颗粒物($PM_{2.5}$)样品的分析结果可看出,长三角地区的阿糖醇和甘露醇在 2014 年 11 月至 2015 年 11 月间的年均浓度分别为 $5.6 \pm 0.7 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$ 和 $5.7 \pm 1.3 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$.且它们在夏季的浓度比较高,特别是甘露醇,可能的原因是夏季温暖湿润的空气有利于孢子的繁殖.此外,夏季的气团有更多的海洋性来源,海藻中的孢子也会对阿糖醇和甘露醇有一定的贡献.

参考文献 (References)

- [1] BURROWS S M, HOOSE C, POESCHL U, et al. Ice nuclei in marine air: Biogenic particles or dust? [J]. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2013, 13 (1): 245-267.
- [2] CORLETT R T. Climate change in the tropics: The end of the world as we know it? [J]. *Biological Conservation*, 2012, 151 (1): 22-25.
- [3] SHARMA S, CHAN E, ISHIZAWA M, et al. Influence of transport and ocean ice extent on biogenic aerosol sulfur in the Arctic atmosphere [J]. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres*, 2012, 117 (D12): 48-50.
- [4] 高敏, 仇天雷, 贾瑞志, 等. 北京雾霾天气生物气溶胶浓度和粒径特征[J]. *环境科学*, 2014, 35(12): 4415-4421.
GAO M, QIU T L, JIA R Z, et al. Concentration and size distribution of bioaerosols at no-haze and haze days in Beijing [J]. *Environmental Science*, 2014, 35(12): 4415-4421 (in Chinese).
- [5] 胡凌飞, 张柯, 王洪宝, 等. 北京雾霾天大气颗粒物中微生物气溶胶的浓度及粒径特征[J]. *环境科学*, 2015, 36(9): 3144-3149.
HU L F, ZHANG K, WANG H B, et al. Concentration and particle size distribution of microbiological aerosol during haze days in Beijing [J]. *Environmental Science*, 2015, 36(9): 3144-3149 (in Chinese).
- [6] 杜睿, 周宇光. 北京及周边地区大气近地面层真菌气溶胶的变化特征[J]. *中国环境科学*, 2010, 30(3): 296-301.
DU R, ZHOU Y G. Variation characteristics of fungi aerosols in the near-surface atmospheric layer in Beijing and surrounding area [J]. *China Environmental Science*, 2010, 30(3): 296-301 (in Chinese).
- [7] YANG Y, CHAN C Y, TAO J, et al. Observation of elevated fungal tracers due to biomass burning in the Sichuan Basin at Chengdu City, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2012, 431: 68-77.
- [8] ZHANG T, ENGLING G, CHAN C Y, et al. Contribution of fungal spores to particulate matter in a tropical rainforest [J]. *Environmental Research Letters*, 2010, 5 (2): 024010.
- [9] FU P, KAWAMURA K, KOBAYASHI M, et al. Seasonal variations of sugars in atmospheric particulate matter from Gosan, Jeju Island: Significant contributions of airborne pollen and Asian dust in spring [J]. *Atmospheric Environment*, 2012, 55: 234-239.
- [10] DESPRES V R, HUFFMAN J A, BURROWS S M, et al. Primary biological aerosol particles in the atmosphere: A review [J]. *Tellus Series B-Chemical and Physical Meteorology*, 2012, 64: 1-58.
- [11] BAUER H, CLAEYS M, VERMEYLEN R, et al. Arabitol and mannitol as tracers for the quantification of airborne fungal spores [J]. *Atmospheric Environment*, 2008, 42 (3): 588-593.
- [12] MEDEIROS P M, SIMONEIT B R T. Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1141 (2): 271-278.
- [13] SCHUMMER C, DELHOMME O, APPENZELLER B M R, et al. Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis [J]. *Talanta*, 2009, 77 (4): 1473-1482.