

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017.03.2016063001

张秀蓝, 任立军, 杨文龙, 等. 液相色谱法测定大气样品中多环芳烃的方法优化[J]. 环境化学, 2017, 36(3): 621-627.

ZHANG Xiulan, REN Lijun, YANG Wenlong, et al. Optimization of liquid chromatography method for the determination of 16 PAHs in air[J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(3): 621-627.

液相色谱法测定大气样品中多环芳烃的方法优化*

张秀蓝 任立军 杨文龙 郭婧 吴忠祥** 董亮 杜兵

(国家环境保护二噁英污染控制重点实验室, 国家环境分析测试中心, 北京, 100029)

摘要 优化了液相色谱法测定大气样品中多环芳烃(PAHs)的前处理净化手段, 相较于弗洛里土柱, 硅胶能有效去除仪器分析中目标物定性和定量分析的背景干扰. 通过控制样品溶剂转换时浓缩体积, 提高了低环数多环芳烃的回收率, 各目标物的空白加标回收率在53%—128%之间(RSD<20%). 使用高效液相色谱(HPLC)二极管阵列/荧光检测器联用测定大气中的PAHs, 当以 $100\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 采样24 h时, 16种PAHs的方法检出限为 $0.08\text{—}0.29\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$, 定量下限为 $0.32\text{—}1.16\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$. 通过对实际样品的测定, 验证了方法的可行性.

关键词 大气, 多环芳烃, 液相色谱法, 净化.

Optimization of liquid chromatography method for the determination of 16 PAHs in air

ZHANG Xiulan REN Lijun YANG Wenlong GUO Jing WU Zhongxiang**
DONG Liang DU Bing

(State Environmental Protection Key Laboratory of Dioxin Pollution Control, National Research Center for Environment Analysis & Measurement, Beijing, 100029, China)

Abstract: A method was optimized for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in atmospheric samples by liquid chromatography (HPLC). Compared to florisil column, silica gel column had better purification effect, which effectively removed the background interference for target analysis. Furthermore, higher recovery of low rings number PAHs were obtained by controlling the solvent volume in the solvent conversion process. The recoveries of 16 PAHs in the spiked standard solutions ranged from 53% to 128% (RSD < 20%). Using high performance liquid chromatography (HPLC) method and combined detectors was fluorescence detector (FLD) and diode array detector (DAD). The detection limits for the 16 PAHs were $0.08\text{—}0.29\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$, and the quantification limit were $0.32\text{—}1.16\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$ for the air samples collected at $100\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ sampling rate and 24 h sampling time. The results of several actual atmospheric samples confirmed the feasibility of this method.

Keywords: air, PAHs, liquid chromatography, purify.

多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons, 简称 PAHs)是指分子中含有两个或两个以上苯环的碳

2016年6月30日收稿(Received: June 30, 2016).

* 国家重大仪器设备开发专项(2012YQ14000804)和环保公益性行业科研专项(201309001)资助.

Supported by National Project for Key Scientific Instrument and Equipment Development(2011YQ060084) and Special Fund for the Public Welfare Industry on Environmental Protection (201309001).

** 通讯联系人: Tel:010-84665737, E-mail: wu.zhongxiang@cneac.com.

Corresponding author, Tel:010-84665737, E-mail: wu.zhongxiang@cneac.com.

氢化合物,其中苯环是以线状、角状或簇状排列的稠环化合物^[1].PAHs 惰性较强、性质稳定,具有持久性致癌、致畸、致突变作用^[2],是最早被发现的环境污染物之一^[3].1976年美国环保局(EPA)提出的129种“优先污染物”中包含16种PAHs^[4];2005年欧盟发布了《关于多环芳香烃的指令》(PAHs指令2005/69/EC),对16种PAHs的污染状况加以限制^[5];1990年我国将其中7种列入水环境“优先控制污染物”名单中^[6].

PAHs的检测方法见证了仪器发展的轨迹,从最早的薄层层析法^[7]、荧光比色法^[8]、气相色谱法^[9],到目前出台的标准方法包括液相色谱法^[10-12]和气相色谱-质谱法^[13-14],不仅方法检出限大幅度降低,实现了对多种环境介质的测定;且目标物的检测种类也不局限于苯并[a]芘,实现了16种同时测定.

液相色谱法测定多环境介质中PAHs的标准化过程为我国环境调查提供了技术保障.王超等^[15]对比了超高效液相色谱和高效液相色谱技术在测定PAHs的差异,并指出了前处理过程中浓缩环节以及定容体系对结果准确性可能造成影响.但是,在基体复杂的样品分析过程中,液相色谱法仍不可避免遇到困难——样品基体复杂,需要充分净化,仪器定量时受到强烈的干扰.

本研究针对这一困难,对比研究了硅胶和弗罗里硅土的净化效果.研究结果表明使用活化后的硅胶柱能够有效地去除干扰,实现PAHs的二极管阵列和荧光检测.本研究对于学习和掌握标准HJ647—2013^[12]具有一定的帮助.

1 实验部分(Experimental section)

1.1 仪器、试剂与材料

高效液相色谱仪(1260,美国安捷伦),具有二极管阵列(DAD)和荧光检测器(FLD),加速溶剂萃取仪(ASE-300,美国戴安),旋转蒸发仪(R210/v700/v850,瑞士Buchi公司),大流量采样器(HV-1000F/700F型,日本柴田株式会社).

石英纤维滤膜(QFF):使用前马弗炉400℃灼烧5h,密封保存于恒温干燥箱内.聚氨酯泡沫(PUF):使用前先用去离子水清洗,丙酮去除水分,再依次用丙酮和二氯甲烷提取并干燥.

16种PAHs标样(2000 μg·mL⁻¹,美国AccuStandard).

有机试剂均购自美国J. T. Baker公司,其中正己烷和二氯甲烷为农残级,乙腈为色谱纯.无水硫酸钠,分析纯,使用前600℃灼烧4h,冷却后密封保存在干燥器中.

硅胶柱:2.0 g(英国ISOLUTE),使用前130℃活化12h.弗罗里硅土柱:1.0 g(美国Supelco).

1.2 样品采集和前处理

1.2.1 样品采集和提取

使用HV-1000F/700F型大流量空气采样器采集气体样品,以100 L·min⁻¹,24h连续采集,采样头配备可采集总悬浮颗粒物(TSP)的切割机.QFF用于收集大气颗粒物中的PAHs,PUF收集气态中的PAHs.使用快速溶剂萃取(PLE)法提取QFF和PUF,提取液为二氯甲烷:正己烷(体积比1:1),提取温度100℃,压力1500 psi,静态提取时间10 min,淋洗体积50%池体积,循环3次萃取.萃取溶液经过浓缩后将溶剂转化为正己烷,继续浓缩至1.0 mL.

1.2.2 样品净化

研究对比了硅胶柱和弗罗里硅土柱的净化效果,净化条件分别为:

硅胶柱:使用4 mL正己烷预处理活化好的小柱,然后将样品浓缩液通过小柱,再使用6 mL正己烷洗脱得到目标物.

弗罗里硅土柱:使用前依次使用二氯甲烷和正己烷活化(各5 mL)小柱,加样后,使用12 mL二氯甲烷和正己烷(V/V=2:8)混合溶液洗脱目标物.

由于使用液相色谱法定量,分析前需将样品定容体系转换为乙腈,转换过程中样品溶剂量不宜低于0.8 mL,避免低环数PAHs挥发损失.

1.3 色谱条件

色谱柱:Agilent,ZORBAX Eclipse PAH,4.6 mm×50 mm×3.5 μm,柱温30℃,流速1.0 mL·min⁻¹,流

动相为水(A)和乙腈(B). 梯度洗脱程序:50%A 起始并保持 5 min,在第 10 min 时将 A 降为 0%,并保持 4 min,然后回到起始状态.色谱图见图 1,检测器条件见表 1.

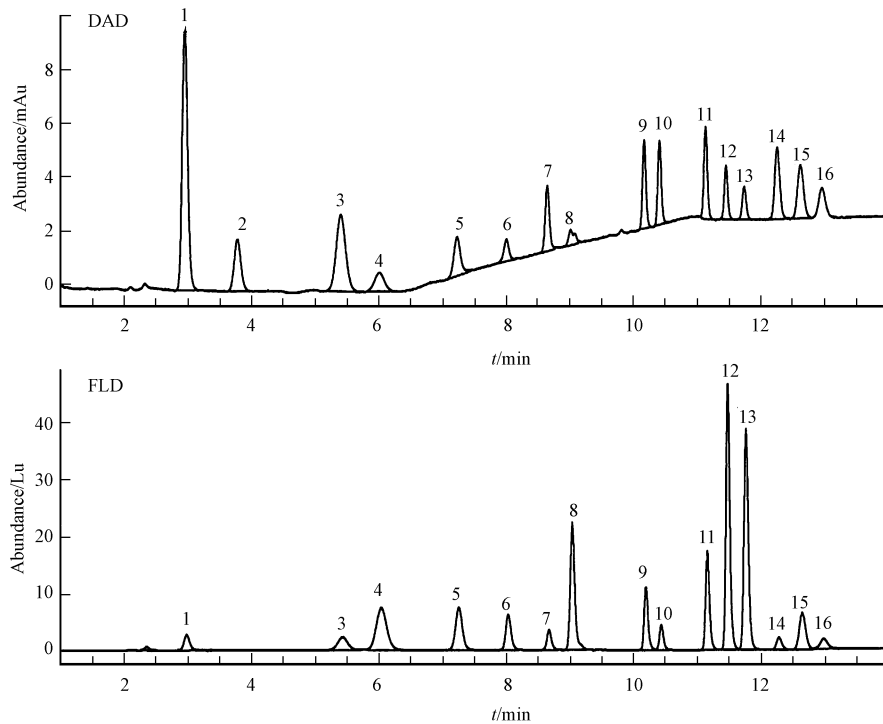


图 1 PAHs 标准溶液高效液相色谱图($0.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

(Note: 1. Nap 萘, 2. Acy 苊烯, 3. Ace 苊, 4. Flu 芴, 5. Phe 菲, 6. Ant 蒽, 7. Fla 荧蒽, 8. Pyr 芘, 9. BaA 苯并[a]蒽, 10. Chr 蒽, 11. BbF 苯并[b]荧蒽, 12. BkF 苯并[k]荧蒽, 13. BaP 苯并[a]芘, 14. IcdP 茚并[1,2,3-cd]芘, 15. DahA 二苯并[a,n]蒽, 16. BghiP 苯并[g,h,i]芘.)

Fig.1 DAD and FLD chromatograms of PAHs standard solution($0.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

表 1 16 种 PAHs 的紫外和荧光检测条件

Table 1 Conditions of UV and FLD for PAHs

PAHs	<i>t</i> /min	DAD/nm	FLD		PAHs	<i>t</i> /min	DAD/nm	FLD	
			Ex/nm	Em/nm				Ex/nm	Em/nm
Nap	2.953	220	280	334	BaA	10.2	267	268	383
Acy	3.778	229	—	—	Chr	10.44	287	288	390
Ace	5.431	261	268	308	BbF	11.16	256	300	436
Flu	6.035	229	280	324	BkF	11.48	307,240	308	414
Phe	7.256	251	292	366	BaP	11.77	296	296	408
Ant	8.033	252	253	402	IcdP	12.28	297	297	398
Fla	8.674	236	360	460	DahA	12.65	210	300	410
Pyr	9.039	240	336	376	BghiP	12.99	250	302	506

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 净化条件的选择

液相色谱法测定环境样品中 PAHs 时,由于样品基体复杂,如果不充分的去除样品中干扰物,在实际样品分析时可能会遇到无法定性和定量的现象.如图 2 所示.参照 Zhou^[16]等的前处理过程对样品进行净化,即使用佛罗里硅土柱净化样品,结果显示紫外检测器和荧光检测器均不能对样品进行定量.由于背景干扰,甚至产生了荧光猝灭的现象.同样的样品再使用硅胶柱净化,样品溶液中 PAHs 的干扰物被

去除,使用荧光法可以定量,但是 DAD 测定结果依然干扰明显(如图 2 所示).说明硅胶柱较佛罗里硅土柱有较好的净化效果.因此,前处理方式确定为: PLE 提取、硅胶柱净化,转换溶剂为乙腈并定容,液相色谱 DAD 和荧光检测.

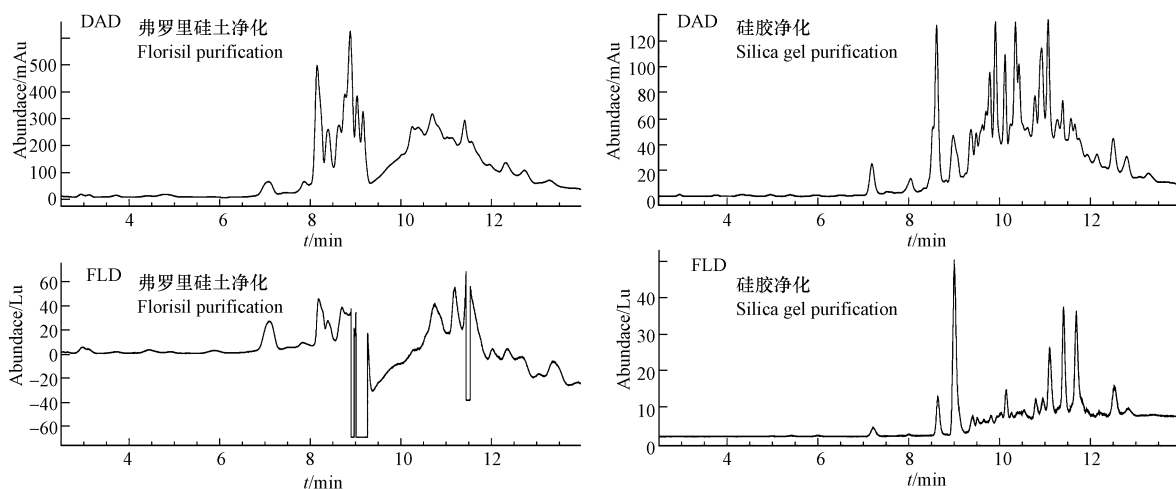


图 2 佛罗里硅土柱和硅胶柱净化后的色谱图

Fig.2 Chromatograms of PAHs samples cleaned by Silica and Florisil respectively

2.2 溶剂转换

16 种 PAHs 其环数、分子量相差较大,具有不同的挥发性.实验证明,在每个浓缩环节都会导致小分子的萘、苊烯、苊等物质的损失.因此,合理的进行溶剂转换是保障方法准确度的关键环节之一.研究对比了不同浓缩体积转换为乙腈,在 6 mL 正己烷中加入混合标准物质 $5 \mu\text{g}$ ($2000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \times 2.50 \mu\text{L}$),氮吹浓缩至一定体积(0.5 mL、0.8 mL 或近干),加入 5 mL 乙腈,再次浓缩至同样体积,重复 3 次加入 5 mL 乙腈,最终定容体积均为 1 mL,每种浓缩方式均平行测定 3 次,其回收率如图 3 所示.

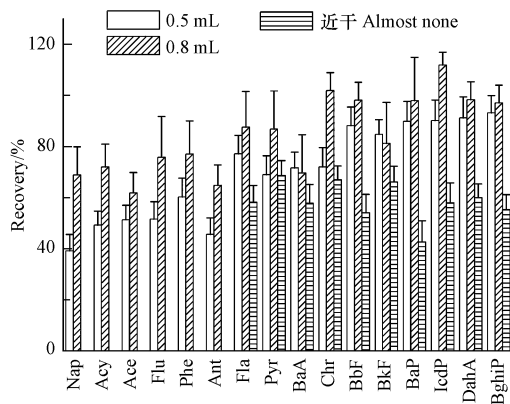


图 3 溶剂转换加标回收率

Fig.3 Recoveries of different ways for solvent exchange

由图 3 可知,在转换溶剂时,将样品浓缩至近干,则可能直接导致萘、二氢苊、苊、苊等多种物质无检出,其它化合物的损失也较大.若采用浓缩至 0.5 mL 进行溶剂转换,仍会造成萘、二氢苊等物质的回收率低于 50%.因此,建议使用浓缩过程后样品体积不宜过少($\approx 0.8 \text{ mL}$),可通过多次加入乙腈,实现溶剂充分转换.

2.3 方法参数

参照《HJ 168—2010 环境监测 分析方法标准制修订 技术导则》^[17]的要求,液相色谱法测定 PAHs 的方法检出限.对于萘、菲和苊等 3 种物质依据全程序空白测定得到;其它 13 种物质则依据空白样品低浓度加标计算得到.参考仪器检出限和定量下限,选择加标浓度为 $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,即 $0.35 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$ (采样

量 144 m^3)^[12,14].空白和空白加标样品均平行测定 7 次,计算 7 次测定的标准偏差,方法检出限为 $3.14 \times \text{SD}$,定量下限为 4 倍的方法检出限.除苊烯(DAD 测得)外,各目标物的方法检出限和定量下限均由 FLD 测得,详见表 2.当以 $100 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 流速采样,采集 24 h 时,大气中 PAHs 的方法检出限为 $0.08\text{—}0.29 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$,定量下限为 $0.32\text{—}1.16 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$.检出限和定量下限与标准方法中提供的浓度相当^[13-14].

表 2 16 种 PAHs 的仪器和方法的检出限和定量下限
Table 2 DL and LOQ of PAHs for the instrument and method

PAHs	仪器 LC Instrument/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$				方法 Method/ $(\text{ng} \cdot \text{m}^{-3})$	
	DAD		FLD		DL	LOQ
	DL	LOQ	DL	LOQ		
NaP	0.018	0.073	0.005	0.017	0.08	0.32
Acy	0.011	0.036	—	—	0.13	0.51
Ace	0.008	0.025	0.004	0.015	0.10	0.40
Flu	0.031	0.101	0.001	0.005	0.28	1.12
Phe	0.013	0.043	0.001	0.004	0.09	0.36
Ant	0.028	0.093	0.002	0.005	0.21	0.86
Fla	0.009	0.029	0.003	0.010	0.11	0.45
Pyr	0.045	0.15	0.0005	0.002	0.29	1.16
BaA	0.005	0.017	0.001	0.003	0.08	0.32
Chr	0.005	0.018	0.002	0.008	0.23	0.91
BbF	0.005	0.016	0.001	0.002	0.16	0.64
BkF	0.008	0.028	0.0002	0.001	0.11	0.43
BaP	0.015	0.049	0.0003	0.001	0.17	0.68
IcdP	0.007	0.022	0.005	0.015	0.18	0.71
DahA	0.009	0.028	0.002	0.005	0.11	0.45
BghiP	0.015	0.049	0.006	0.020	0.19	0.77

2.4 方法考察

需要指出的是,在多环芳烃的测定过程中萘、菲等化合物空白检出频率较高,因此在方法建立和样品测定时必须增加空白样品的测定.根据标准方法的规定,用于采集大气样品的石英/玻璃纤维滤膜和聚氨酯泡沫在采样前都需要经过严格的干扰去除过程(详见“1.1 节”),采样前核实其空白含量,其中萘和菲不得高于 50 ng ,其它化合物不得高于 10 ng ^[12].

依据“1.4 节”测定空白加标样品,分别对 QFF 和 PUF 进行加标测定,加标浓度依次为 $0.69 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$ 和 $6.94 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$,每组样品测定 6 次.其中, QFF 的低浓度加标回收率为 $63\%\text{—}128\%$,相对标准偏差(RSD) $<20\%$; QFF 的高浓度加标回收率为 $67\%\text{—}112\%$, RSD $<15\%$. PUF 的低浓度加标回收率为 $53\%\text{—}123\%$, RSD $<15\%$; PUF 的高浓度加标回收率 $59\%\text{—}117\%$, RSD $<20\%$.

2.5 实际样品的测定

依据“1.2 节”和“1.3 节”内容采集测定大气中的 PAHs,采集时间为 2015 年度 3、4、5 月的 20—23 日,地点为北京市朝阳区某一办公楼顶.每次采样 24 h(每日 10:00 点至次日 10:00 点),采集流量 $100 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,连续采集 3 d.测定结果如图 4 所示.

3—5 月,测定点位大气中 PAHs 的平均浓度依次为 391 、 165 、 $149 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$,其中 PUF 测定气相中 PAHs 浓度为 236 、 116 、 $117 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$, QFF 测定颗粒相中 PAHs 浓度为 156 、 49 、 $34 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$;蒽和芘是最主要的组成成分.浓度水平与早期报道的北京大气中 PAHs 的浓度水平相当^[18-20].其中,3 月份测定浓度高于 4、5 月之和,可能是受到当地冬季供暖的影响^[20].

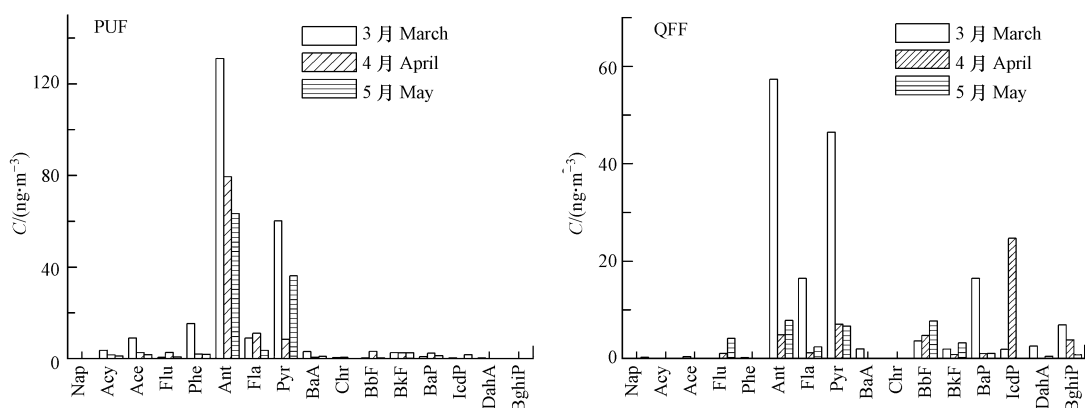


图 4 3—5月北京某点位大气中 PAHs

Fig.4 The concentrations of PAHs in atmospheric samples collected at a sampling site in Beijing from March to May

3 结论 (Conclusion)

液相色谱法测定环境空气中的 PAHs,在使用荧光、紫外或 DAD 检测器时,不充分的净化过程会干扰样品定量的最终结果.采用硅胶柱净化,能够较好的去除干扰,满足测定的需求.另外,样品在每一次的浓缩过程,不同的组分都可能有不同的损失,因此在氮吹浓缩过程中需控制样品溶液体积不小于 0.8 mL.还需要注意的是,样品分析过程中要匹配全程序空白的测定,控制萘、菲等物质的干扰.总之,通过对前处理流程的优化,液相色谱法能够满足对大气中 PAHs 的监测,当采样体积为 144 m^3 时,方法检出限为 $0.08\text{—}0.29 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$,定量下限为 $0.32\text{—}1.16 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$,能够满足空气质量标准的监测需求.

参考文献 (References)

- [1] UNEP, Chemicals. Europe regional report.Regionally based assessment of persistent toxic substances[R]. Switzerland; Global Environment Facility,2002.
- [2] USEPA. Technical support document: Control of emissions of hazardous air pollutants from motor vehicles and motor vehicle fuels. EPA420-R-00-023[R].Assessment and Standards Division Office of Transportation and Air Quality, 2000.
- [3] PHILLIPS D H.Fifty years of benzo(a) pyrene[J]. Nature, 1983, 303: 468-472.
- [4] US EPA. Drinking water standards and health advisories table[R]. 2007.
- [5] 段小丽.多环芳烃污染的人体暴露和健康风险评价方法[M]. 北京:中国环境科学出版社,2011
DUAN X L. Exposure measurement and health risk assessment of human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2011(in Chinese).
- [6] 周文敏,傅德黔,孙宗光.水中优先控制污染物黑名单[J].中国环境监测,1990,6(4):1-3.
ZHOU W M, FU D Q, SUN Z G. The precedence-controlled pollutants of water[J]. Environmental monitoring of China, 1990, 6(4):1-3 (in Chinese).
- [7] GB/T 5009.27—1985.食品中苯并(a)芘的测定方法 [S].1985
GB/T 5009.27—1985. Determination of benzene and (a) pyrene in food [S]. 1985(in Chinese).
- [8] GB 11895—89.水质苯并(a)芘的测定 乙酰化滤纸层析荧光分光光度法[S].
GB 11895—89. Water quality-determination of benzo (a) -pyrene-Acetylated paper chromatography with fluorescence spectrophotometric method [S].(in Chinese)
- [9] GB/T 13198—91.水质 六种特定多环芳烃的测定 高效液相色谱法[S].
GB/T 13198—91. Water quality-determination of specified six polynuclear aromatic hydrocarbons-High performance liquid chromatography [S].(in Chinese)
- [10] HJ478—2009.水质 多环芳烃的测定 液液萃取和固相萃取高效液相色谱法[S].
HJ 478—2009. Water quality- Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons-Liquid-liquid extraction and solid-phase extraction followed by high performance liquid chromatographic method [S].(in Chinese)
- [11] HJ 784—2016.土壤和沉积物 多环芳烃的测定 高效液相色谱法[S].
HJ 784—2016. Soil and sediment-determination of polycyclic aromatic hydrocabons-high performance liquid chromatography [S].(in

Chinese)

- [12] HJ647—2013. 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].
HJ647—2013. , Ambient air and stationary source emissions-Determination of gas and particle-phase polycyclic aromatic hydrocarbons-High performance liquid chromatography [S] (in Chinese).
- [13] GB/T 26411—2010(2012). 海水中 16 种多环芳烃的测定 气相色谱-质谱法[S].
GB/T 26411—2010(2012). Determination of 16 polynuclear aromatic hydrocarbons in seawater by GC-MS [S].(in Chinese)
- [14] HJ646—2013. 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[S].
HJ646—2013. Ambient air and stationary source emissions-Determination of gas and particle-phase polycyclic aromatic hydrocarbons with gas chromatography/mass spectrometry [S].(in Chinese)
- [15] 王超,彭涛,吕怡兵,等. 液相色谱法测定水中 16 种多环芳烃的方法优化.[J].环境化学, 2014, 33(1): 62-68.
WANG C, PENG T. LV Y B, et al. Optimization of liquid chromatography method for detection of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(1): 62-68(in Chinese).
- [16] ZHOU L, DONG L, HUANG Y R, et al. Spatial distribution and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Camphor (Cinnamomum camphora) tree bark from Southern Jiangsu, China [J]. Chemosphere, 2014, 107: 297-303.
- [17] HJ 168—2010.环境监测 分析方法标准制订修订技术导则 [S].
HJ 168—2010. Environmental monitoring technical guideline on drawing and revising analytical method standards [S]. (in Chinese)
- [18] 王英锋,张珊珊,李杏茹,等. 北京大气颗粒物中多环芳烃浓度季节变化及来源分析[J].环境化学,2008, 27(3): 393-394.
WANG Y F, ZHANG S S, LI X R, et al. Seasonal variation and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in airborne particulates of Beijing[J]. Environmental Chemistry, 2008, 27(3): 393-394(in Chinese).
- [19] 李杏茹,郭雪清,刘欣然,等. 北京市冬季大气气溶胶中 PAHs 的污染特征[J]. 环境化学, 2008, 27(4):490-493.
LI X R, GUO X Q, LIU X R, et al. Pollution characteristics of PAHs in the atmospheric aerosols in winter time of Beijing [J]. Environmental Chemistry, 2008, 27(4):490-493(in Chinese).
- [20] 张逸,陈永桥.张晓山,等. 北京市不同区域采暖期大气颗粒物中多环芳烃的分布特征[J]. 环境化学, 2004, 23(6):681-685.
ZHANG Y, CHEN Y Q, ZHANG X S, et al. Distribution characteristics of PAHs in atmospheric particles in different areas of Beijing during heating-period[J]. Environmental Chemistry, 2004, 23(6): 681-685(in Chinese).