

王建宇,李丽,王蕴平,等.在线固相萃取-超高效液相色谱法检测水中 15 种多环芳烃类污染物[J].环境化学,2018,37(12):2832-2836.
WANG Jianyu, LI Li, WANG Yunping, et al. 5 kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons in water were detected by solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography[J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(12): 2832-2836.

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.[®] 沃特世公司(Waters[®])

在线固相萃取-超高效液相色谱法检测水中 15 种多环芳烃类污染物*

王建宇¹ 李丽¹ 王蕴平¹ 王桂芳¹ 袁汉成² 洪云鹤² 孙颖^{1**}

(1. 北京市水文地质工程地质大队, 北京, 100195; 2. 沃特世科技(上海)有限公司, 北京, 100026)

摘要 由于传统固相萃取需耗费大量时间,使用很多有机溶剂,在样品量多的时候,会出现大量样品滞留,为提高实验室工作人员的工作效率,本文建立了在线固相萃取-超高效液相色谱法测定水中 15 种多环芳烃类污染物的方法.水样经在线固相萃取小柱富集,高效液相色谱柱分离,乙腈和水溶液梯度洗脱,荧光检测器检测,外标法定量.在进样量为 2 mL 时,萘、二氢萘、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、噻、苯并(a)蒽、苯并(b)荧蒽、苯并(k)荧蒽、苯并(a)芘、二苯并(a,h)蒽、苯并(g,h,i)芘、茚并(1,2,3-cd)芘在 5—80 ng·L⁻¹ 范围内均具有良好的线性关系.实际水样回收率均大于 70%,此方法可用于水中 15 种多环芳烃类污染物的检测.

关键词 多环芳烃, 在线固相萃取, 超高效液相色谱仪.

15 kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons in water were detected by solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography

WANG Jianyu¹ LI Li¹ WANG Yunping¹ WANG Guifang¹ YUAN Hancheng²
HONG Yunhe² SUN Ying^{1**}

(1. Beijing Institute of Hydrogeology and Engineering Geology, Beijing, 100195, China;
2. Waters Technologies (Shanghai) Limited, Beijing, 100026, China)

Abstract: The traditional solid-phase extraction has many disadvantages. It always takes a lot of time and uses too many organic solvents. Besides that, when there are a large number of samples need to be solid-phase extraction, most of them will have the phenomenon of retention. To improve the working efficiency of the staff in laboratory, we provide a new technology of on-line solid phase extraction. This method can test 15 polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) pollutants in water. The water is enriched by on-line solid phase extraction column, high performance liquid chromatography column separation, acetonitrile and aqueous solution gradient elution, fluorescence detector detection, and external standard method quantification. When the sample volume is 2 mL, below samples will have a good linear relationship in the range of 5—80 ng·L⁻¹ like naphthalene, acenaphthene, fluoranthene, phenanthrene, anthraquinone, fluoranthene, pyrene, chrysene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, Benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene, benzo(g,h,i)pyrene, indole(1,2,3-cd)pyrene. And also this water sample recovery rate has exceeded 80%. This method can be used to detect 15 kinds of polycyclic aromatic hydrocarbon pollutants in water.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, on-line solid phase extraction, ultra performance liquid chromatography.

多环芳烃(PAHs)是环境强致癌物,有致畸作用、致突变作用,具有持久性和积累性等特点.即使是低至痕量级含量

* 北京城市副中心重大地质问题—海绵城市地下水环境详细调查(2017-F-93)资助.

** 通讯联系人, Tel: (010) 51560262, E-mail: 277458218@qq.com

的 PAH 长期对人类作用,也会对人体的健康产生极大的影响,被我国政府列入“中国环境优先污染物黑名单”中。目前,使用比较广泛的检测多环芳烃的 3 种标准方法是 EPA550、EPA550.1 和 EPA610,所采用的样品前处理方法是液-液萃取和离线固相萃取(SPE),其中的旋转蒸发和氮气辅助蒸发易引入误差。

本文采用 Waters OA(Open Architecture)系统的 Online SPE 模式自动进行水样前处理,建立了分析水体中 15 种多环芳烃的快速分析方法,具有自动运行、降低成本、重现性好、过程可控等特点。本研究采用 Waters PAHs 专用快速柱通过优化控制流程,缩短了分离时间,提高了分析灵敏度。当前,该法已可以成功应用于北京市及周边地区地下水中多环芳烃类物质的检测中,为进一步改善生态环境、保护人类的身体健康、推动经济社会可持续发展提供了理论和实践依据。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

在线固相萃取-超高效液相色谱仪(Waters Open Architecture 系统 ACQUITYQSM-BSM -2777C-FLR, Waters 公司,美国),乙腈、甲醇(色谱纯, Fisher Scientific 公司,美国),纯净水(娃哈哈纯净水,中国),C18 小柱(CNWBOND HC-C18 SPE Cartridge 500 mg, 6 mL), Oasis[®] HLB 固相萃取柱(Waters 公司,美国), 0.22 μm 聚醚砜(PES)水相针式滤头(Waters 公司,美国),多环芳烃标准品:多环芳烃类标准物质(CDGG-110124-06) 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (纯度 $\geq 96.4\%$, O2Si 公司,美国。萘、二氢萘、苊、菲、蒽、荧蒽、芘、蒾、苯并(a)蒽、苯并(b)荧蒽、苯并(k)荧蒽、苯并(a)芘、二苯并(a,h)蒽、苯并(g,h,i)芘、茚并(1,2,3-cd)芘,溶剂:乙腈)。

1.2 实验条件

全自动在线固相萃取装置配有两根在线固相萃取小柱及两个泵,四元泵(富集泵)用于在线固相萃取,二元泵(分析泵)用于色谱分析。在 0—3.8 min,四元泵中的流动相带着样品从自动进样器注入到第一根在线固相萃取小柱中,完成样品的萃取富集和净化;4.1 min 时,六通阀开始切换至分析流路中,二元泵将富集在固相萃取小柱上的多环芳烃类污染物洗脱至色谱柱,色谱柱开始进行分离检测,同时四元泵开始对第二根在线固相萃取小柱进行冲洗和活化。

进样体积:2000 μL 。

1.2.1 在线固相萃取条件

水样前处理:水样经过 0.22 μm 聚醚砜(PES)水相针式滤头(Waters 公司,美国)过滤后,经在线固相萃取小柱进行样品前处理。

在线固相萃取小柱:XBridge C8 (2.1 mm \times 30 mm, 20 μm)(Waters 公司,美国),流动相 A 为乙腈,B 为水,梯度洗脱程序见表 1。

表 1 四元泵流动相梯度表

Table 1 Four-element pump flow phase gradient meter

Sequence	Time/min	Flow/($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)	A/%	B/%	C/%	D/%	Curve*
1	0.00	2.000	10.0	90.0	0.0	0.0	Intitle
2	0.50	2.000	10.0	90.0	0.0	0.0	11
3	3.80	0.010	10.0	90.0	0.0	0.0	11
4	4.10	2.000	100.0	0.0	0.0	0.0	11
5	8.50	2.000	10.0	90.0	0.0	0.0	11
6	15.00	0.200	10.0	90.0	0.0	0.0	6
7	16.00	0.200	10.0	90.0	0.0	0.0	6

* Curve: Waters 液相分析方法中液相梯度的变换曲线,即:预编 11 种梯度曲线,分为线性、步进、凹线、凸线等 4 种类型。其中 11 表示立即在某一设定时刻变成相应的流动相比例;6 表示从上一时刻到某一设定时刻平均变换成相应的流动相比例。

1.2.2 二元泵(BSM)色谱条件

色谱柱:Waters PAHs 专用快速柱(C18 S-3 μm Waters 公司,美国),柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;流动相 A 为乙腈,B 为水;梯度洗脱程序见表 2。

1.2.3 荧光检测条件

在使用荧光检测器进行检测时,多环芳烃类物质最合适的激发、发射波长不同,荧光检测波长时间事件程序如表 3 所示。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理

传统前处理 安装好固相萃取装置,将 C18 柱安装到固相萃取装置上。先用 10 mL 二氯甲烷预洗 C18 柱,使溶剂流净。接着用 10 mL 甲醇分两次活化 C18 柱,每次 5 mL;再用 10 mL 水分两次活化 C18 柱,每次 5 mL;在活化过程中,不要让柱子流干。在 1000 mL 水样(富集所用水样体积根据水质情况可适当增减)中加入 5 g 氯化钠和 10 mL 甲醇,混合均匀后,

以 $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速流过已活化好的 C18 柱.用 10 mL 水冲洗 C18 柱后,真空抽滤 10 min 或用高纯氮气吹 C18 柱 10 min,使柱干燥.用 5 mL 二氯甲烷洗脱浸泡 C18 柱,停留 5 min 后,再加 2 mL 二氯甲烷洗柱,用浓缩瓶收集流出液.浓缩至 0.5—1.0 mL,加入 3 mL 乙腈,再浓缩至 0.5 mL 以下,最后准确定容到 0.5 mL 待测.

表 2 二元泵流动相梯度表

Table 2 Second-element pump flow phase gradient meter

Sequence	Time/min	Flow/($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	A/%	B/%	Curve *
1	0.00	1.500	50.0	50.0	Intitle
2	0.50	1.500	50.0	50.0	6
3	3.80	0.010	50.0	50.0	11
4	4.10	1.500	50.0	50.0	11
5	5.30	1.500	50.0	50.0	6
6	9.40	1.500	90.0	10.0	6
7	9.60	1.500	100.0	0.0	6
8	11.80	1.500	100.0	0.0	6
9	12.10	1.500	50.0	50.0	6
10	20.00	1.500	50.0	50.0	6
11	22.00	0.200	50.0	50.0	6

* Curve: Waters 液相分析方法中液相梯度的变换曲线,即:预编 11 种梯度曲线,分为线性、步进、凹线、凸线等 4 种类型.其中 11 表示立即在某一设定时刻变成相应的流动相比例;6 表示从上一时刻到某一设定时刻平均变换成相应的流动相比例.

表 3 荧光检测波长时间事件编程表

Table 3 Fluorescence detection wavelength time event programming table

Sequence	Compound	Time/min	Event	Parameter/nm
1	萘	7.30	Ex Wavelength	240
	二氢萘	7.30	Em Wavelength	380
2	菲	7.30	Ex Wavelength	240
	蒽	7.95	Em Wavelength	460
3	荧蒽	8.00	Ex Wavelength	235
	芘	8.20	Em Wavelength	385
4	蒾	9.00	Ex Wavelength	295
	苯并(a)蒽	9.00	Em Wavelength	380
5	苯并(b)荧蒽	9.00	Ex Wavelength	295
	苯并(k)荧蒽			
	苯并(a)芘			
6	二苯并(a, h)蒽	9.00	Ex Wavelength	295
	苯并(g, h, i)芘			
	蒽并(1,2,3-cd)芘			
7	萘	9.00	Ex Wavelength	295
	二氢萘	10.78	Em Wavelength	500

在线前处理 标准浓度为 $20 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$,上样量为 $2000 \mu\text{L}$,QSM 洗脱程序见“1.2.1”.如表 4 所示,使用传统 SPE 处理方法,回收率为 9.6%—76.7%;使用 Online SPE 方法,回收率为 78.0%—104%.可见,使用 Online SPE 方法可有效改善水体中多环芳烃类化合物分析检测时的回收率.

表 4 两种前处理方式回收率的比较

Table 4 Comparison of recovery rates between two pretreatment methods

化合物	回收率/%		化合物	回收率/%			
	传统	在线		传统	在线		
1	萘	13.5	78.0	9	苯并(a)蒽	59.5	93.5
2	二氢萘	9.6	84.6	10	苯并(b)荧蒽	53.5	97.9
3	菲	27.3	104	11	苯并(k)荧蒽	58.9	92.6
4	菲	64	103	12	苯并(a)芘	58.5	98.6
5	蒽	56.4	87.8	13	二苯并(a, h)蒽	63.3	95.1
6	荧蒽	62.7	82.6	14	苯并(g, h, i)芘	76.7	96.7
7	芘	66.7	92.7	15	蒽并(1,2,3-cd)芘	56.0	88.7
8	蒾	68.3	97.3				

2.2 在线固相萃取小柱的选择

研究选择 XbridgeC8 和 Oasis HLB 两种在线固相萃取小柱,分别对富集、净化效果进行测试.使用 Oasis HLB 小柱时,与目标物相比杂质响应较高,目标物响应较低,色谱峰有拖尾现象;使用 XbridgeC8 小柱时,与目标物相比杂质响应较低,目标物相应高,15 种多环芳烃类物质分离度高,峰型较好.因此,研究中选用 XbridgeC8 在线固相萃取小柱.

2.3 在线固相萃取解吸溶剂的选择

为了降低空白中的杂峰干扰,研究中对比了 3 种不同水溶液分别作为 QSM 水相对检测结果的影响.对比使用纯水和 5%甲酸-水作为 QSM 水相得到的检测结果可知,水中添加 5%的甲酸后杂质的荧光响应明显增强,本底较高.对比使用纯水和 2%氨水-水作为 QSM 水相得到的检测结果可知,水中添加 2%的氨水后,杂峰并没有得到明显改善,且在芬($t=7.21$ min)出峰位置后多了 1 个干扰峰.因此,研究中选用纯水作为 QSM 的水相.

2.4 方法学考察

本文方法验证参照 HJ168—2010《环境监测分析方法标准》.基质匹配法对标准物质进行逐级稀释后上机检测,色谱峰 3 倍信噪比时浓度为检出限(LOD),10 倍信噪比时浓度为定量限(LOQ);(试验中均采用国标的检出限及定量限)在 5—80 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内绘制标准曲线,线性方程、线性相关系数、检出限及精密度见表 5.15 种多环芳烃类物质在水中均呈现良好的线性关系,线性相关系数 0.9954—1.0000,LOD 为 0.4—1.5 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$,LOQ 为 1.6—6.0 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$.

表 5 15 种多环芳烃类物质的线性方程、线性相关系数、检出限及精密度

Table 5 Linear equations, linear correlation coefficients, detection limits, and precision of 15 PAHs

Analyte	线性方程	R^2	LOD/($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOQ/($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)
萘	$Y=53.6278x-15.6843$	0.9989	1.5	6.0
二氢萘	$Y=122.542x+137.24$	0.9998	0.5	2.0
芴	$Y=374.972x+5716.37$	1.0000	1.1	2.2
菲	$Y=120.237x+1414.88$	0.9970	0.8	3.2
蒽	$Y=514.31x-19.2227$	0.9999	1.3	5.2
荧蒽	$Y=86.772x+214.301$	0.9954	1.1	4.4
芘	$Y=237.225x+340.333$	0.9994	0.7	2.8
蒾	$Y=108.529x-60.1671$	0.9997	1.0	4.0
苯并(a)蒽	$Y=98.5281x-53.2223$	0.9998	0.8	3.2
苯并(b)荧蒽	$Y=109.196x-147.731$	0.9987	0.8	3.2
苯并(k)荧蒽	$Y=1169.64x-1521.37$	0.9987	1.3	5.2
苯并(a)芘	$Y=443.86x-1006.72$	0.9987	0.4	1.6
二苯并(a,h)蒽	$Y=254.269x-516.85$	0.9976	0.4	1.6
苯并(g,h,i)芘	$Y=60.1087x-130.726$	0.9978	0.8	3.2
茚并(1,2,3-cd)芘	$Y=33.7171x-62.2034$	0.9976	0.5	2.0

注:标准曲线的横坐标(X)表示标准溶液的浓度,称为普通变量,纵坐标(Y)表示仪器的响应值,称为随机变量.

2.5 实际样品检测

随机检测实验室中的水样,室内编号 R132(热矿水)、D389(地下水)两种样品进行检测,两个实际样品均未检出.分别在两个样品中进行加标回收,向 R132 样品中添加浓度为 5 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准溶液、向 D389 中添加浓度为 20 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准溶液,分别进行测定.由表 6 可知,R132 中加标检测中,15 种多环芳烃测定结果的 RSD<6.4%,加标回收率在 74%—106%之间;D389 中加标检测结果 RSD<2.2%,加标回收率在 93%—99%之间.

表 6 在优化好的条件下的加标回收率($n=5$)

Table 6 Addition recovery rate under optimized conditions ($n=5$)

Compound 1	R132				D389			
	加标值/ ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	检测值/ ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率/%	RSD/%	加标值/ ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	检测值/ ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率/%	RSD/%
萘	5	4.5	90	3.4	20	18.6	93	1.6
二氢萘	5	4.4	88	4.4	20	19.0	95	1.9
芴	5	5.2	104	3.8	20	19.6	98	0.9
菲	5	5.3	106	5.1	20	18.9	95	1.2
蒽	5	4.3	86	4.3	20	19.4	97	1.2
荧蒽	5	3.8	76	5.2	20	19.7	98	2.2

续表6

Compound 1	R132				D389			
	加标值/ (ng·L ⁻¹)	检测值/ (ng·L ⁻¹)	回收率/%	RSD/%	加标值/ (ng·L ⁻¹)	检测值/ (ng·L ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
芘	5	3.8	76	6.4	20	19.7	93	1.3
蒽	5	3.7	74	3.5	20	18.5	92	1.6
苯并(a)蒽	5	4.6	92	3.6	20	19.5	98	1.6
苯并(b)荧蒽	5	4.4	88	5.2	20	19.7	99	1.5
苯并(k)荧蒽	5	4.7	94	2.8	20	19.3	96	1.2
苯并(a)芘	5	4.6	92	3.9	20	19.6	98	1.8
二苯并(a, h)蒽	5	4.7	94	2.8	20	19.7	99	1.3
苯并(g, h, i)芘	5	4.2	84	4.6	20	19.2	96	2.0
茚并(1,2,3-cd)芘	5	4.1	82	2.7	20	19.1	95	1.1

3 结论

本研究建立了地下水中 15 种多环芳烃类物质残留的 Online SPE-FLR 快速检测方法.目标物经 XBridge C8 在线固相萃取小柱富集、净化,PAHs 专用快速柱分离,色谱峰形尖锐、对称性好,可在 20 min 内完成 15 种多环芳烃类物质的分离检测.地下水中 15 种多环芳烃类物质检出限 0.4—1.5 ng·L⁻¹,此方法只需 2 mL 水样样本,包括前处理只需 20 min 即可完成一次分析,大大提高了分析效率,节约了分析成本,极大地缩短了检测时间.结果表明,在一定的浓度范围内,15 种多环芳烃各组分峰面积和浓度呈良好的线性关系,方法的精密度、准确度可以满足水中 15 种多环芳烃的检测要求.

参考文献 (References)

- [1] HJ 478-2009,水质多环芳烃的测定液液萃取和固相萃取高效液相色谱[S].北京:中国环境科学出版社,2009
- 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].Beijing: China Environmental Press,2009(in Chinese).