

超声提取-高效液相色谱法测定 PM_{2.5} 中的多环芳烃

常君瑞, 李娜, 徐春雨, 方建龙, 李韵谱, 刘喆, 吴亚西

中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所, 北京, 100021

摘要: **目的** 超声法提取 PM_{2.5} 中的多环芳烃, 高效液相色谱—荧光—紫外检测器联用检测 PM_{2.5} 中 16 种多环芳烃的含量。 **方法** 取 1/4 滤膜剪碎, 加入 2.5ml 乙腈超声 60 分钟提取 PM_{2.5} 中的多环芳烃, 以乙腈、水为流动相进行梯度洗脱, 用紫外检测器和荧光检测器进行测定。 **结果** 16 种多环芳烃的检出限在 0.005~0.250 ng/m³ 之间, 除了蔡、茈烯、茈的相对标准偏差略偏大以及加标回收率略偏低外, 其余多环芳烃的提取效果良好。 **结论** 液相色谱法对 16 种多环芳烃起到较好的分离效果, 超声提取法对 PM_{2.5} 中的 16 种多环芳烃的提取效果良好, 本方法操作简便, 适合大批量样品的分析。

关键词: 超声提取; 高效液相; PM_{2.5}; 多环芳烃

Determination of the concentrations of PAHs in PM_{2.5} by high performance Liquid chromatography (HPLC) after ultrasonic extraction

Chang Junrui, Li Na, Xu Chunyu, Fang Jianlong, Li Yunpu, Liu Zhe, Wu Yaxi¹

Abstract: Objective To establish ultrasonic extraction/HPLC method to determine the concentrations of PAHs in PM_{2.5}. **Methods** One fourth of membrane was cut into pieces, and then placed in 5 mL glass tube. In order to extract PAHs from membrane, 2.5 mL of acetonitrile was added into the tube and the tube was placed in an ultrasonic bath for 60 min. Acetonitrile and

作者简介: 常君瑞, 1970 年出生于新疆, 女, 副研究员, 硕士研究生学历, 主要从事空气污染与人体健康的研究, E-mail: webhuman@126.com

Institute for Environmental Health and related Product Safety, China CDC

通讯作者: 吴亚西, 男, 研究员, 研究方向: 环境污染物检测

通讯作者: 吴亚西, 男, 研究员, 研究方向: 环境污染物检测

联系地址: 北京市朝阳区潘家园南里 7 号实验楼 106 室 E-mail: wuyaxi88@sina.com

邮编: 100021

water were used as mobile phase of gradient elution. HPLC/ UV-fluorescence detector was used to detect the concentrations of PAHs. **Results** The range of detection limits of PAHs was 0.005~0.250 ng/m³. All the 16 kind of PAHs have very high recovery rates, except Naphthalene, Acenaphthene and Acenaphthylene. **Conclusion** The method in this study can effectively determine the concentrations of PAHs in PM_{2.5} and is suitable for the analysis of large numbers of samples because of its simplicity.

Key words: Ultrasonic extraction, high performance Liquid chromatography, Particulate Matter 2.5, Polycyclic aromatic hydrocarbons

美国环保署（EPA）优先控制的16种多环芳烃苯（PAH_S）环数在2~6个之间，4环以下多环芳烃主要以气相存在，4环以上多环芳烃主要吸附在颗粒物（PM）上，采集空气中颗粒物测定多环芳烃时多采用超声提取法，超声提取有很多不同种类，选用的萃取溶剂以及操作步骤都有不同，大多需要多次萃取，合并萃取液后经过氮吹、浓缩、定容后方能上机检测。本方法的样品前处理参照NIOSH5506的方法^[1]，采用乙腈作为萃取液，优化了萃取体积，只需一次萃取，不需要后续的浓缩过程，使用高效液相色谱的荧光检测器、紫外检测器联用测定PM_{2.5}中多环芳烃其含量，在实际检测工作中取得了良好的实验效果。

1 材料与方法

1.1 仪器

waters2695高效液相色谱仪附waters 2489紫外检测器和waters 2475荧光检测器（美国Waters公司）；舒美KQ-500VDE双频数控超声波清洗器（天鹏电子新技术（北京）有限公司）；其林贝尔QL-861漩涡混合器（江苏其林贝尔仪器制造有限公司）；武汉天虹TH-150C智能中流量PM_{2.5}采样器（武汉市天虹仪表有限责任公司）；密理博Milli-Q Reference 超纯水系统（美国Millipore 公司）；

1.2 试剂与材料

乙腈（色谱纯）；16种PAHs混合标准品：萘、蒽、苊、芴、菲、蒎、荧蒹、芘、屈、苯并[a]蒹、苯并[b]荧蒹、苯并[k]荧蒹、苯并[a]芘、茚并[1,2,3-c,d]芘、二苯并

[a, h]蒽、苯并[g, h, i]花。标准品以乙腈为溶剂，每种成分的质量浓度均为200mg / L；实验用高纯水，均经0.22 μm滤膜过滤，超声处理；Waters多环芳烃专用色谱柱（4.6 mm×250mm）；Pall玻璃纤维滤膜。

1.3 空白滤膜的制备

为了去除有机物本底及增加滤膜韧性，用铝箔包裹滤膜在400℃马弗炉中灼烧5小时，在恒温恒湿箱(温度25℃，湿度50%)平衡24小时后称重，置于干燥器中备用。

1.4 样品的采集

采样器流量100 L / min，采样点距地面约15米，连续采样24小时，将采样后的滤膜放入滤膜夹，用铝箔封装后带回实验室，在恒温恒湿箱中平衡24h，再次称重后对样品进行处理及分析。

1.5 空白加标滤膜的制备

将1张制备好的滤膜等面积分为4份，1份作为对照测定其本底，其余3份每份分别加标0.2 μg、1 μg、10 μg，将加标后的滤膜分别放入离心管中加盖密闭，避光静置过夜后备用，此为空白加标滤膜。

1.6 采样加标滤膜的制备

将采样滤膜等面积分为4份，1份作为对照测定本底，其余3份每份分别加标0.08 μg、0.4 μg、4 μg，将加标后的滤膜分别放入离心管中加盖密闭，避光静置过夜后备用，此为采样加标滤膜。

1.7 样品的前处理

将采样/制备的滤膜剪碎后放入10mL圆底离心管中，加入2.5ml乙腈，漩涡后放入超声波清洗器中，震荡频率80千赫兹、超声60分钟，超声结束后冷却至室温，取萃取液以0.45 μm针式过滤器过滤，待测。

1.8 分析条件

1.8.1 色谱分析条件 以乙腈和水作为流动相，流速 1 ml/min，柱温 25℃，进样量 10 μl。采用梯度洗脱，洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序设定

时间 (min)	0	18	30	32
乙腈 (%)	70	100	100	70
水 (%)	30	0	0	30

1.8.2 检测器波长的选择 本方法采用紫外检测器和荧光检测器串联的方法测定多环芳烃，串联时紫外检测器在前、荧光检测器在后，紫外检测器波长为 0~6.5 min: 220nm; 6.5 min 以后 254nm。荧光检测器的波长程序设定见表 2。16 种多环芳烃中，蒽烯没有荧光响应，蒽在荧光检测器上的响应比较弱，通过紫外检测器进行积分及计算，其它均通过荧光检测器测定。

表 2 荧光检测器的波长程序设定

时间 (min)	0	7.6	10.2	17.5	29
λex(nm)	280	254	270	286	305
λem(nm)	324	402	384	430	480

2 结果

2.1 萃取体积的优化

取一份加标量为1 μg的空白加标滤膜，按萃取液体积不同分为三组，萃取体积5mL、4mL、2.5mL时16种多环芳烃的平均加标回收率分别为84.4、81.4%、88.5%，无明显差异，由于在超声过程中不使用浓缩步骤，考虑到灵敏度因素，萃取体积选用2.5mL。

2.2 检出限、精密度与准确度

2.2.1 检出限以及精密度结果 配制浓度为0.1 μg/ml的混标，连续进样7次并计算标准差，以3倍标准差为方法的检出限。取加标量为0.2 μg、1 μg、10 μg的空白加标滤膜各7份，经超声提取后过滤进样，计算不同浓度时的相对标准偏差（RSD），结果见表3。

表3 16种多环芳烃的检出限及相对标准偏差 %

多环芳烃成分	检出限	相对标准偏差		
		加标量 0.2μg	加标量 1μg	加标量 10μg
萘	0.043	12.6	15.1	13.3
萘烯	0.011	10.7	12.6	9.8
萘	0.005	11.2	9.6	8.8
芴	0.251	5.2	8.6	5.9
菲	0.015	5.9	7.5	8.3
蒽	0.032	9.1	2.2	1.5
荧蒽	0.012	2.4	1.9	1.2
芘	0.006	6.4	3.9	2.3
屈	0.006	8.5	4.4	2.3
苯并[a]蒽	0.007	8.8	3.1	3.3
苯并[b]荧蒽	0.007	6.0	2.8	2.4
苯并[k]荧蒽	0.009	8.8	4.1	2.8
苯并[a]芘	0.009	10.6	1.7	2.5
二苯并[a,h]蒽	0.014	5.9	4.3	3.8
苯并[g,h,i]芘	0.020	6.20	1.7	5.2
茚并[1,2,3-c,d]芘	0.021	7.6	3.8	6.1

2.2.2 准确度结果 取加标量为0.08 μg、0.4 μg的采样加标滤膜各7份，经本文的超声萃取法处理，过滤后进样，测定浓度并计算加标回收率，结果见表4。加标量为4 μg的采样滤膜因加标量与本底值相差过大，所以其加标回收率结果不予采用。

表4 16种多环芳烃的加标回收率 %

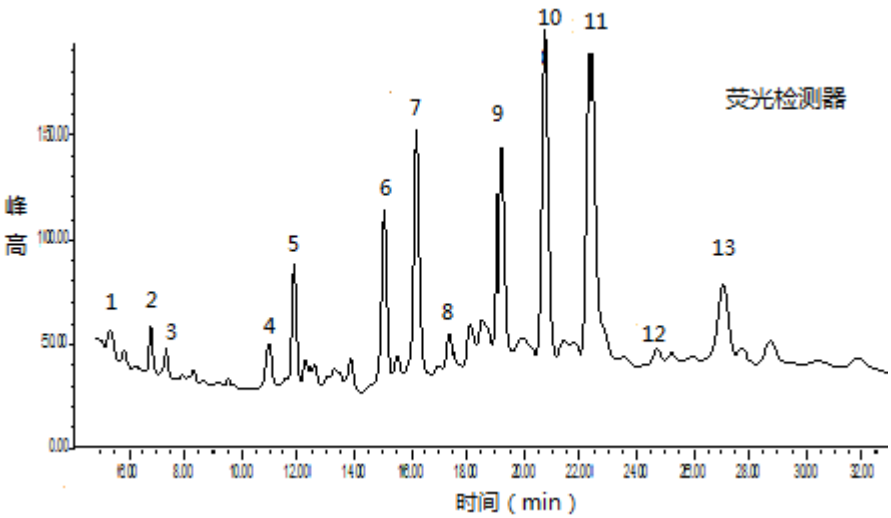
多环芳烃成分	加标量 0.2μg	加标量 1μg
萘	52.5	50.6
萘烯	52.6	62.2
萘	56.3	52.2
芴	62.5	91.4
菲	100.0	97.2
蒽	98.8	116.6
荧蒽	87.5	90.2
芘	87.5	93.3
屈	87.5	88.4
苯并[a]蒽	75.0	85.2
苯并[b]荧蒽	87.5	86.6
苯并[k]荧蒽	87.5	88.5
苯并[a]芘	75.0	84.0
二苯并[a,h]蒽	75.0	82.9
苯并[g,h,i]芘	75.0	78.6
茚并[1,2,3-c,d]芘	78.1	80.6

2.3 实际样品的测定

选定北京某居民区于 2014 年 5 月 12~16 日连续 5 天采集空气中的 PM_{2.5}，5 天的采样滤膜按采样先后顺序编号为 D1~D5，测定结果见表 5。图 1 为 D003 的荧光检测器色谱图，因未检出菲，所以总共有 13 种多环芳烃被检出。

表 5 PM_{2.5}中的多环芳烃浓度 (ng/m³)

成份\样品编号	D001	D002	D003	D004	D005
萘	0.03	0.15	0.03	0.02	0.09
苊烯	2.96	ND	ND	ND	ND
芴	0.73	1.36	0.75	1.50	0.76
苊	0.25	0.82	0.37	0.53	0.36
菲	0.12	0.14	ND	0.20	ND
蒽	ND	ND	ND	ND	ND
荧蒽	0.13	0.75	0.14	0.32	0.39
芘	0.22	1.33	0.23	0.27	0.80
屈	0.35	2.09	0.30	0.44	1.19
苯并[a]蒽	0.49	2.94	0.42	0.84	1.76
苯并[b]荧蒽	0.50	3.32	0.46	0.80	2.00
苯并[k]荧蒽	0.48	3.36	0.47	0.69	2.19
苯并[a]芘	0.23	1.52	0.45	0.12	0.98
二苯并[a,h]蒽	0.67	4.37	0.69	1.01	2.76
苯并[g,h,i]芘	0.23	2.15	0.17	0.64	1.32
茚并[1,2,3-c,d]芘	0.31	1.61	0.15	0.45	1.13
ΣPAHs	7.69	25.92	4.63	7.83	15.72



1-萘；2-芴；3-苊；4-荧蒽；5-芘；6-屈；7-苯并[a]蒽；8-苯并[b]荧蒽；9-苯并[k]荧蒽；10-苯并[a]芘；11-二苯并[a,h]蒽；12-茚并[1,2,3-c,d]芘；13-苯并[g,h,i]芘

3 讨论

在相对标准偏差测定中, 当加标量为 $0.2\ \mu\text{g}$ 、 $1\ \mu\text{g}$ 、 $10\ \mu\text{g}$ 时, 萘的 RSD 分别为 12.6%、15.1%、13.3%, 蒽的 RSD 分别为 10.7%、12.6%、9.8%, 结果略偏大; 在加标回收率的测定中, 当加标量 $0.04\ \mu\text{g}$ 、 $0.4\ \mu\text{g}$ 时, 萘的加标回收率分别为 52.5%、50.6%、, 蒽为 52.6%、62.2%, 蒽为 56.3%、52.2%, 三种物质的加标回收率偏低; 这与萘、蒽、蒽的分子量较小、蒸气压大、易于挥发的特性有关, 导致在前处理过程中出现了比较明显的损失, 随着分子量的增大, 蒽的 RSD 结果较萘和蒽略有改善, 其它 13 种多环芳烃的相对标准偏差及加标回收率结果均比较理想, 在精密度和准确度方面满足测试要求。

使用超声提取法萃取 $\text{PM}_{2.5}$ 中的多环芳烃时, 有时会出现萃取率偏低或不稳定的现象, 研究发现, 萃取容器的形状、体积及萃取液体积对萃取效果有影响, 当采用平底容器时, 颗粒物容易聚集到萃取液的顶端, 从而减弱了空化作用, 影响了萃取效果, 而采用圆底或尖底容器可以避免此种现象的出现^[2]。萃取液体积过大会出现超声死区, 从而影响提取效果, 本文采用的四分之一滤膜时加 2.5mL 乙腈, 取得了良好的提取效果。在萃取溶剂的选用方面, 苯、甲苯、二氯甲烷、乙腈、环己烷、乙醇、丙酮都比较常用, 本方法在检测中以乙腈、水作为流动相, 在萃取过程中使用乙腈, 避免了后续的氮吹、浓缩、定容的步骤, 避免了多步骤操作过程带来的不确定性和样品损失。

在北京某居民区采集的 $\text{PM}_{2.5}$ 中, 经测定 16 种多环芳烃的总含量在 $4.63\ \text{ng}/\text{m}^3 \sim 25.92\ \text{ng}/\text{m}^3$ 之间, 其中苯并[a]芘的含量在 $0.12 \sim 1.52\ \text{ng}/\text{m}^3$ 之间, 未超过 $2.5\ \text{ng}/\text{m}^3$ 的限值^[3]。有研究在 2012 年 3-8 月对北京西三环交通枢纽进行了颗粒物的采样和 16 种多环芳烃含量的测定, 总多环芳烃随温度的升高逐月降低, 3 月份浓度最高, 为 $119.72\ \text{ng}/\text{m}^3$, 7 月份浓度最低, 为 $17.70\ \text{ng}/\text{m}^3$ ^[4], 本文的采样时间为 5 月, 白天的日均温度达到 26°C , 由于多环芳烃在颗粒物与气相的分布受温度影响很大^[5], 环境温度越高、颗粒物上多环芳烃在采样期间

可能因解吸和挥发而从滤膜上的颗粒物中丢失，越多的环芳烃以气态形式分布，颗粒物中多环芳烃的比例呈下降趋势，特别是在夏季气候温热的条件下，当环境温度达到30℃或更高时，20%的苯并[a]芘和芘在蒸汽阱中被发现^[6]。因此，使用滤膜采集空气中的PM_{2.5}测定16种多环芳烃的含量，并不能代表其在全相空气中的实际含量，大部分4环以下的多环芳烃分布在气相中，而且随着环境温度、湿度、光照等条件的变化，包括5、6环多环芳烃在气相和颗粒物中的分配比例也在发生变化。

本文参照 NIOSH5506 的方法，以乙腈为萃取液超声提取，无需样品提取后的浓缩、定容过程，从方法特性指标来看，除了萘、蒽、芘的精密度指标波动略大、加标回收率略低外，其余多环芳烃的方法特性指标均能很好满足测试要求。本方法相较其它同类项超声提取法而言，操作步骤更为简便，适合样本量较大时颗粒中多环芳烃测定的样品前处理。

参考文献:

- [1] National Institute for Occupational Safety and Health of the United States of America. Method 5506 polycyclic aromatic hydrocarbon by HPLC[S]. Washington: NIOSH, 1998.
- [2] Capelo J L, Galesio M M, Felisberto G M, et al. Micro- focused ultrasonic solid-liquid extraction (μFUSLE) combined with HPLC and fluorescence detection for PAHs determination in sediments: optimization and linking with the analytical minimalism concept[J]. Talanta, 2005, 66 (5) : 1271-1280.
- [3] 中华人民共和国环境保护部, GB 3095-2012 环境空气质量标准[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2012.
- [4] 李骁, 钱枫, 何翔, 等. 京西三环地区大气颗粒物中多环芳烃的分布[J]. 环境污染与防治, 2013, 35(6): 60-64.
- [5] 李秋歌, 赵欣, LI AN, 等. 南京大气中多环芳烃的相分布[J]. 环境科学与技术, 2007,

30(4):34-39.

- [6] 王跃思, 孙扬, 徐新. 大气中痕量挥发性有机物分析方法研究[J]. 环境科学, 2005, 26(4):18-23.