

HPLC 法检测土壤中的 16 种多环芳烃

摘要: 本文依据《土壤和沉积物 多环芳烃的测定 高效液相色谱法》新标准的测定方法对土壤中 16 种多环芳烃进行了测定。该方法采用超声波萃取方法提取土壤样品中多环芳烃, 萃取液用硅胶柱方式净化, 浓缩定容后, 用配备了紫外/荧光检测器的高效液相色谱仪检测。最低定量限在 0.16~3.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 平均回收率在 71.2%~103%之间, 相对标准偏差在 6.1%~13.8%之间。

关键词: 农残 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

多环芳烃(PAHs)是指分子中含有两个或两个以上苯环结构的化合物, 是煤、石油、煤焦油等有机化合物的热解或不完全燃烧产物, 具有致畸、致癌、致突变和生物难降解的特性, 是目前国际上关注的一类持久性有机污染物(POPs)。多环芳烃性质稳定, 极易吸附在固体颗粒物上, 在环境中难降解, 可在生物体内蓄积。多环芳烃在环境中虽是微量的, 但分布广, 人们通过大气、水、食品、吸烟等途径摄取, 是人类癌症的重要起因。多环芳烃的提取方法目前主要有索氏提取法、超声提取法、超临界流体萃取、微波辅助萃取、加压流体萃取等方法。

目前, 多环芳烃的监测技术应用最广的分析方法是色谱法, 常用的有气相色谱法和液相色谱法。高效液相色谱具有选择性好、灵敏度高的优点, 应用最为普遍, 已成为分析多环芳烃的首选方法。

河南省环境监测中心站编制了《土壤和沉积物 多环芳烃的测定 高效液相色谱法》新标准的意见征询稿, 本文采用此稿方法, 测定了土壤中 16 种多环芳烃的含量。该方法采用超声波萃取方法提取土壤样品中多环芳烃, 萃取液用硅胶柱方式净化, 浓缩定容后, 用配备了紫外/荧光检测器的高效液相色谱仪检测。

1. 实验部分

1.1 试剂

乙腈、正己烷、二氯甲烷、丙酮为液相色谱纯级别;

多环芳烃标准贮备液: 含十六种多环芳烃的乙腈溶液, 包括萘、苊、二氢苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、屈、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]花、茚并[1,2,3-c,d]芘, 浓度为 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。硅胶固相萃取柱: 500 mg/6 mL 无水硫酸钠。

多环芳烃标准使用液: 取多环芳烃标准贮备液, 用乙腈稀释至 0.004 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.010 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.020 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.050 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 六个浓度的多环芳烃标准使用液。

1.2 仪器

Prominence LC-20A 液相色谱仪系统, 配有紫外及荧光检测器。

1.3 分析条件

色谱柱: C18 (4.6 mm \times 250 mm I.D, 5 μm), 流动相: A: 水; B: 乙腈;

流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 0 μL ; 洗脱方式: 梯度洗脱, 洗脱时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间	单元	操作	值
----	----	----	---

0.01	Pumps	B.Conc	60
0.01	SPD-20AV	Wavelength CH1	225
0.01	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength	420
0.01	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength	260
8.00	Pumps	B.Conc	60
17.20	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength	420
17.20	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength	260
18.00	Pumps	B.Conc	100
18.50	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength	440
18.50	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength	270
21.00	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength	420
21.00	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength	260
24.00	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength	430
24.00	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength	290
28.00	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength Ch2	500
28.00	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength Ch2	250
18.00	Pumps	B.Conc	100
35.01	Pumps	B.Conc	60
45.00	Controller	Stop	

注：因为苯并[g,h,i]芘和茚并[1,2,3-c,d]芘保留时间相近，为避免波长变换导致峰形变异，在此阶段荧光检测器使用双波长检测功能

检测波长：各化合物的检测波长见表 2。

表2 各化合物检测波长

化合物	紫外波长(nm)	激发波长(nm)	发射波长(nm)
萘		275	350
蒽	225		
二氢蒽		275	350
芴		275	350
菲		275	350
蒽		260	420
荧蒽		270	440
芘		270	440
屈		260	420
苯并[a]蒽		290	430
苯并[b]荧蒽		290	430
苯并[k]荧蒽		290	430
苯并[a]芘		290	430
二苯并[a,h]蒽		290	430
苯并[g,h,i]芘		290	430
茚并[1,2,3-c,d]芘		250	500

1.4 样品处理

称取 10.0 g 试样用 20 mL 正己烷/丙酮(1+1)进行超声波萃取后,将萃取液转入旋转瓶中, 60 °C下

用旋转蒸发器浓缩至 1 mL。依次用 5 mL 二氯甲烷和 15 mL 正己烷冲洗硅胶柱，弃去流出液。在溶剂流干之前，将 1 mL 萃取浓缩液转移到净化柱上，并用约 0.5 mL 的正己烷冲洗浓缩瓶，将洗涤液加入硅胶柱，然后再用 2 mL 二氯甲烷洗涤浓缩瓶，将洗涤液加入净化柱，用合适的容器接收流出液，最后用 15 mL 二氯甲烷洗涤净化柱，收集流出液于上述容器中。流出液经硫酸钠脱水、浓缩定容至 1 mL 以下，加入 3 mL 乙腈，再浓缩至 1 mL。浓缩液经 0.45 μm 滤膜过滤后待测。

2. 结果讨论

2.1 16 种多环芳烃的标准曲线结果

图1、图2是浓度为1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的多环芳烃标准品的在波长为225 nm时采集得到的紫外色谱图和使用表2的检测波长得到的荧光色谱图。从图中可知，各化合物都得到很好的分离。

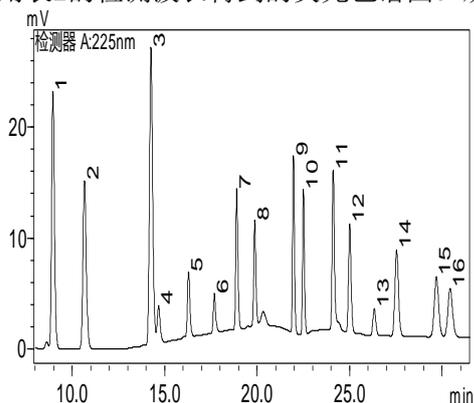


图1 多环芳烃标准品的紫外色谱图

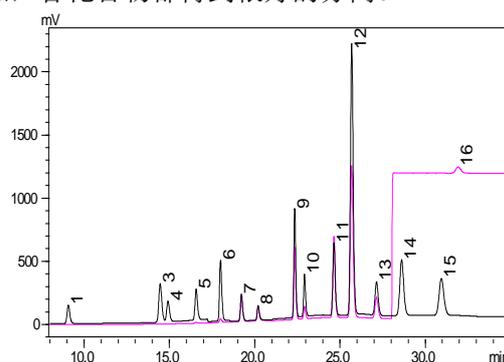


图2 多环芳烃标准品的荧光色谱图

2.2 线性关系

除萘用紫外检测器检测外，其它15种化合物用荧光检测器相应的激发波长和发射波长进行检测，将浓度为0.004 $\mu\text{g/mL}$ ，0.010 $\mu\text{g/mL}$ ，0.020 $\mu\text{g/mL}$ ，0.050 $\mu\text{g/mL}$ ，0.100 $\mu\text{g/mL}$ 和0.200 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液按1.2中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，线性方程及相关系数见表3。在此浓度范围内，曲线的相关系数R在0.998~0.999之间，线性关系良好。

表3 16种化合物的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 r
1	萘	$Y = 7078162.0X - 13904$	0.99994
2	苊	$Y = 186821X - 255$	0.99995
3	二氢苊	$Y = 36496510X - 37590$	0.99997
4	芴	$Y = 17198400X - 7904$	0.99994
5	菲	$Y = 24662040X - 12603$	0.99998
6	蒽	$Y = 42917560X - 21787$	0.99983
7	荧蒽	$Y = 19198270X - 17358$	0.99996
8	芘	$Y = 11059110X - 22561$	0.99961
9	屈	$Y = 66793220X - 39109$	0.99999
10	苯并[a]蒽	$Y = 26305980X - 6879$	0.99999
11	苯并[b]荧蒽	$Y = 55460640X - 28531$	0.99998
12	苯并[k]荧蒽	$Y = 242198400X - 108271$	0.99998
13	苯并[a]芘	$Y = 33919700X - 21366$	0.99961

14	二苯并[a,h]蒽	$Y = 70781620X - 13904$	0.99994
15	苯并[g,h,i]花	$Y = 51615550X - 27396$	0.99869
16	茚并[1,2,3-c,d]芘	$Y = 9275290X + 2983$	0.99930

2.3 方法的重复性和回收率

对浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的土壤样品进行 6 次平行测定，各组分的平均回收率在 71.2% 和 103% 之间，满足检测的要求。相对标准偏差（以 RSD% 表示）在 6.1% 和 13.8% 之间，结果的重复性良好。

表 4 多环芳烃加标回收率和重复性

化合物名称	平均回收率%	RSD%
萘	72.7	8.5
蒽	75.0	9.9
二氢蒽	71.2	6.1
芴	86.1	9.2
菲	77.4	9.7
蒽	94.7	9.5
荧蒽	79.7	13.8
芘	79.7	9.4
屈	87.3	9.3
苯并[a]蒽	89.2	9.9
苯并[b]荧蒽	84.0	7.3
苯并[k]荧蒽	79.4	9.7
苯并[a]芘	79.0	9.7
二苯并[a,h]蒽	103	8.7
苯并[g,h,i]花	87.1	9.0
茚并[1,2,3-c,d]芘	75.4	13.6

2.4 方法的灵敏度

以土壤取样量为 10.0 g 计算得到的各组分的最低检出限（ $S/N=3$ ，LOD 表示）、最低定量限（ $S/N=9$ ，LOQ 表示）见表 5。方法的最低检出限为 0.05~1.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，最低定量限为 0.16~3.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，方法的灵敏度良好。

表 5 最低检出限及最低定量限

化合物名称	LOD($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
萘	0.69	2.10
蒽	0.66	2.00
二氢蒽	0.05	0.16
芴	0.28	0.85
菲	0.28	0.84
蒽	0.24	0.71
荧蒽	0.23	0.71
芘	0.55	1.66

屈	0.89	2.71
苯并[a]蒽	0.34	1.02
苯并[b]荧蒽	0.30	0.90
苯并[k]荧蒽	0.40	1.20
苯并[a]芘	0.40	1.21
二苯并[a,h]蒽	0.26	0.81
苯并[g,h,i]芘	0.13	0.39
茚并[1,2,3-c,d]芘	1.12	3.39

3. 结论

本实验根据新标准的方法，使用了配有紫外/荧光检测器的高效液相色谱仪检测了土壤中 16 种多环芳烃。16 种多环芳烃的最低定量限在 0.16~3.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，校准曲线的相关系数 R 在 0.998~0.999 之间，线性关系良好。本法具有快速便捷，重复性好和灵敏度高等优点，适合土壤中多环芳烃的检测。