



微波辅助萃取-高效液相色谱法同时测定 PM_{2.5} 中 16 种多环芳烃

刘滔, 游钒, 袁小雪, 谢碧俊, 雍莉, 胡彬

(四川省疾病预防控制中心理化检验所, 四川 成都 610041)

摘要: 建立磁力搅拌辅助微波萃取-高效液相色谱法同时测定 PM_{2.5} 中 16 种多环芳烃 (PAHs) 的方法。以玻璃纤维滤膜采样, 滤膜经正己烷-丙酮 (v/v 2:1) 于磁力搅拌微波萃取仪中提取, 提取液经浓缩后用乙腈定容, 以乙腈和水作为流动相, 通过高效液相色谱反相梯度洗脱分离, 紫外和荧光串联检测器检测。16 种 PAHs 的线性范围为 0.025~5 μg/mL, 平均回收率为 78.8%~101.6%, 相对标准偏差为 0.4%~5.8%, 检出限为 0.005~0.051 ng/m³。该法快速、准确、灵敏、溶剂用量小, 满足 PM_{2.5} 中多环芳烃的痕量分析要求。

关键词: 微波萃取; PM_{2.5}; 多环芳烃; 高效液相色谱法

文献标志码: A **文章编号:** 1674-5124(2018)06-0048-06

Simultaneous determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in PM_{2.5} by microwave-assisted extraction coupled with high performance liquid chromatography

LIU Tao, YOU Fan, YUAN Xiaoxue, XIE Bijun, YONG Li, HU Bin

(Institute of Physicochemical Detection, Sichuan Center for Disease Control and Prevention, Chengdu 610041, China)

Abstract: A method for the simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in PM_{2.5} using magnetic stirring-microwave extraction coupled with high performance liquid chromatography was developed. Atmospheric particulates were collected by glass fiber membrane filter. The glass fiber membrane filter was extracted by adding n-hexane/acetone (v/v 2:1) in an magnetic stirring-microwave extraction apparatus. Extracting solution was added with acetonitrile to form a constant volume after enrichment, and separated by reversed phase HPLC and gradient elution with acetonitrile and water as mobile phase, then detected by ultraviolet-fluorescence detector. The linear range of 16 PAHs ranged from 0.025 μg/mL to 5 μg/mL. The average recoveries were from 78.8% to 101.6%. The relative standard deviations were between 0.4% and 5.8%. The detection limits ranged from 0.005 ng/m³ to 0.051 ng/m³. The method is rapid, accurate, sensitive, solvent saved, and it meets the trace analysis requirements of PAHs in PM_{2.5}.

Keywords: microwave extraction; PM_{2.5}; polycyclic aromatic hydrocarbons; high performance liquid chromatography

收稿日期: 2017-08-23; 收到修改稿日期: 2017-10-25

作者简介: 刘滔 (1988-), 男, 四川资阳市人, 主管技师, 硕士, 研究方向为卫生理化检验。

通信作者: 袁小雪 (1987-), 女, 湖北谷城县人, 助理研究员, 硕士, 研究方向为环境与卫生理化检验。

0 引 言

多环芳烃(PAHs)是一类典型的持久性有机污染物,由 2 个及以上不含杂原子和取代基的苯环构成,其主要来源为石化燃料及其他物质的不完全燃烧。大气细颗粒物 PM_{2.5} 中 PAHs 的浓度虽然很低,但其毒害性较大,被人体呼吸系统吸入,有致癌、致畸、致基因突变等效应^[1-2]。因此,PM_{2.5} 中 PAHs 的污染已经引起世界各国的普遍关注,美国国家环保总署确定了 16 种 PAHs 作为优先监测并控制的污染物,2012 年我国环保部发布了 GB 3095—2012《环境空气质量标准》,也同样新增了 PM_{2.5} 中 PAHs 等一系列监测指标。

目前,文献报道的 PM_{2.5} 中 PAHs 的分析方法主要有高效液相色谱法(HPLC)^[3-4]和气相色谱-质谱联用法(GC-MS)^[5-6]。GC-MS 法具有高灵敏、高定性能力,但分析高沸点 PAHs 及其同分异构体的分离存在一定的困难;而 HPLC 法不受组分挥发性和热稳定性限制,具有操作简便、灵敏度高、成本低等优势而被广泛使用。前处理方法主要有索氏萃取法^[7-8]、固相微萃取^[9-10]、超临界流体萃取^[11]、加速溶剂萃取^[12-14]和超声波萃取^[15-16]。其中,索氏萃取法提取效率高,但操作繁琐费时,消耗有机溶剂量大,且萃取后需进一步浓缩;固相微萃取方法萃取效率高,速度快,但成本较高,萃取所用纤维易碎,聚合物的涂层性质不稳定容易产生样品携带等;超临界流体萃取法由于适用于非极性或低极性 PAHs 的萃取,应用范围相对较窄,且技术成本较高;加速溶剂萃取法操作简便,萃取效率较高,但其后处理操作步骤多,组分损失较大;超声辅助萃取法操作简单、快速,但有机试剂扩散严重,萃取效率较低,且共提取物较多。而微波辅助萃取作为一种较高效的样品前处理方法已被成功地用于土壤、海水、河流沉积物及植物等样品中 PAHs 的提取^[17]。本文优化了微波萃取时间、溶剂及用量,微波辐射功率等萃取条件,建立了磁力搅拌辅助微波萃取-高效液相色谱法同时测定 PM_{2.5} 中 16 种优控多环芳烃的方法。

1 实验部分

1.1 试剂

16 种 PAHs 混合标准溶液(萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、屈、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),乙腈为溶剂,每个组分的质量浓

度均为 500 μg/mL, Accstandard 试剂公司;乙腈、正己烷、丙酮、二氯甲烷(HPLC 级, Scientific 试剂公司);超纯水(电阻率≥18.0 MΩ·cm)。

1.2 仪器及设备

1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司,同时配二极管阵列紫外检测器和多波长荧光检测器);多环芳烃液相色谱专用柱(4.6 mm×150 mm×5 μm, 美国安捷伦公司);Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司);N-EVAP-112 氮吹仪(美国 Organomation 公司);MARS X 微波萃取仪(美国 CEM 公司);TH-150C 型中流量 PM_{2.5} 采样器(武汉市天虹仪表有限责任公司);玻璃纤维滤膜(美国 Pall 公司,直径 90 mm)。

1.3 仪器分析条件

乙腈作为流动相 A 相,超纯水作为 B 相,其梯度洗脱程序为:0~20 min, 40%A; 20~25 min, 40%A→100%A; 25~30 min, 40%A。流动相流量为 2.0 mL/min,柱温为 25 ℃,进样量为 10 μL,紫外、荧光串联检测器检测。如表 1 所示,荧光检测器设定了波长切换程序,16 种 PAHs 中仅苊烯不具有荧光,选择紫外波长 220 nm 对其进行检测。

表 1 荧光检测器波长切换程序

组分	保留时间/min	激发波长/nm	发射波长/nm
萘、苊、芴	0	280	324
菲、蒽	10	254	370
荧蒽	12	290	460
芘、苯并[a]蒽	13	300	400
屈	16.2	280	385
苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,h]蒽、茚并[1,2,3-cd]芘	17.5	300	430
苯并[g,h,i]芘	22.5	305	500

1.4 样品的采集

在成都市区域内设置 3 个采样点,于 2016 年 2 月连续采样 7 d,2016 年 3 月连续采样 10 d(3 月为雾霾天气,固连续采样 10 d),采样流量为 100 L/min,采样时间为 24 h,采样点均避开污染源及障碍物。采样时,记录温度及大气压以换算标准采样体积。采样前,将玻璃纤维滤膜置于马弗炉中 500 ℃ 下加热烘烤 4 h,除掉有机物,冷却后将其放在恒温恒湿箱中平衡 24 h 后用十万分之一电子天平进行称量

恒重, 采样完成后将其再次平衡称量, 采集样品低温保存(-18℃以下), 并尽快完成多环芳烃提取及测定。

1.5 样品预处理

将采样后的玻璃纤维滤膜除去边缘无尘部分, 然后用切割器将滤膜切为四等份, 将四分之一滤膜剪碎后放入微波萃取罐内进行提取。微波提取条件为微波功率 300 W, 微波辐射 6 min, 压力 0.3 MPa, 萃取溶剂为正己烷-丙酮(体积比 2:1, 总体积为 15 mL), 并采用磁力搅拌附件对样品进行提取。萃取完成后, 将萃取液过滤后经氮吹仪浓缩至 1 mL 以下, 再向浓缩液中加入一定量的乙腈, 浓缩至 1 mL 以下, 重复 1 次, 将其溶剂完全置换为乙腈, 最后定容至 1.0 mL 待测。

将未经采样的玻璃纤维滤膜置于马弗炉中 500℃ 下加热烘烤 4 h, 去除有机物及增加滤膜韧性, 冷却后将滤膜放在恒温恒湿箱中平衡制得空白滤膜。将滤膜切为四等份, 用进样针向四分之一滤膜中滴加不同体积的不同浓度标准溶液, 滤膜再次平衡, 低温保存(-18℃以下), 制得空白加标样品。

2 结果与讨论

2.1 微波提取条件优化

2.1.1 提取溶剂及用量

考虑到微波萃取的特点及 16 种 PAHs 的理化性质, 选取正己烷/丙酮(v/v 1:1, 2:1)、二氯甲烷/丙酮(v/v 1:1, 2:1)、正己烷/二氯甲烷(v/v 1:1, 2:1)不同体积比的萃取溶剂进行提取。萃取条件为: 微波功率 300 W, 萃取时间 6 min, 萃取压力 0.3 MPa, 以此考察 16 种 PAHs 的萃取效果。如图 1 所示, 可知用正己烷-丙酮(2:1)提取时, 提取效率最高。因为 PAHs 在丙酮中的溶解度较大, PAHs 容易进入提取溶剂中, 而正己烷的沸点低, 可缩短浓缩时间, 从而减少待测物的损失; 其次, 由于正己烷对微波的吸收相对较弱, 可使微波升温减慢, 从而减少溶剂的挥发, 防止 PAHs 由于过热或溶剂挥发而损失^[18]。当正己烷与丙酮的体积比大于 2:1 时, PAHs 提取效率有所下降, 这可能是由于正己烷体积增加, 提取溶剂对微波的吸收效率降低, 从而降低了萃取效率。因此, 本实验最终选择体积比为 2:1 的正己烷/丙酮作为提取溶剂。此外, 还考察了溶剂用量对萃取效率的影响, 结果如图 2 所示, 当使用总体积为 15 mL 的正己烷/丙酮(2:1)时, PAHs

萃取效率最高。这可能因为适量的溶剂便可充分提取样品中 PAHs, 当溶剂用量继续增加时, 浓缩时间也相应增加, 从而可导致待测组分的挥发损失。固本文最后采用总体积为 15 mL 的正己烷/丙酮(v/v 2:1)作为提取溶剂。

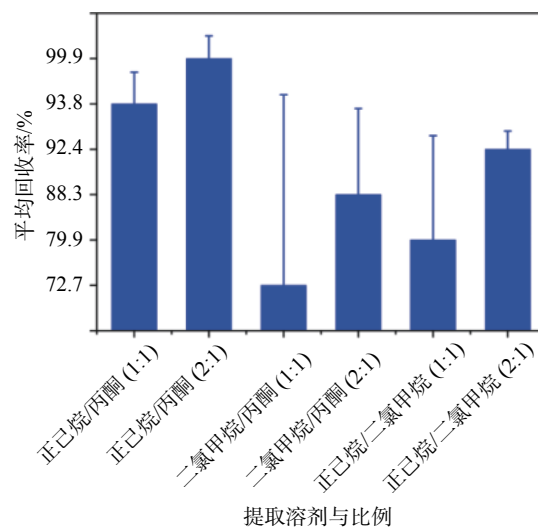


图 1 溶剂及比例对 PAHs 萃取效率的影响

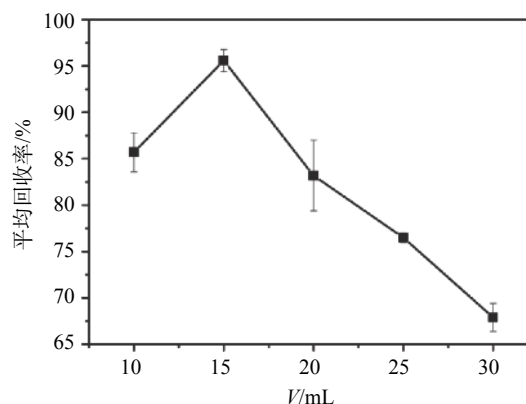


图 2 正己烷/丙酮(v/v 2:1)的用量对 PAHs 萃取效率的影响

2.1.2 微波辐射功率及时间

为考察微波功率及萃取时间对 PAHs 萃取效率的影响, 分别选用微波功率(100~900 W)和萃取时间(2~10 min)进行实验。结果表明, 当微波功率达到 300 W 以后, 提取效率不再升高反而有所降低, 可能因为随着微波功率的增加, 微波加热速率较快, 溶剂易挥发并带走待测组分, 导致其萃取效率降低; 当萃取时间为 2 min 时, PAHs 萃取效率偏低, 2 min 以后逐渐升高, 6 min 以后提取效率不再发生明显变化。因此, 采用微波功率 300 W, 萃取

加热时间 6 min 进行后续实验。此外, 还分别考察了微波萃取压力及磁力搅拌对 PAHs 萃取效率的影响, 结果表明: 当萃取压力为 0.3 MPa, 使用磁力搅拌时, PAHs 的萃取效率最高。主要因为磁力搅拌和适当的加压可增大萃取溶剂和样品的有效接触比表面积, 进而提高 PAHs 的萃取效率; 同时, 采用磁力搅拌, 还可缩短萃取时间, 减少 PAHs 因萃取时间过长而带来的损失。因此, 采用磁力搅拌附件, 压力 0.3 MPa 进行下一步实验。

2.2 微波萃取法与超声萃取及加速溶剂提取法的结果对照

分别采用微波萃取、超声萃取及加速溶剂萃取来考察 PAHs 的萃取效率。微波萃取选用最佳优化

条件, 超声萃取和加速溶剂的萃取温度、萃取时间及萃取剂用量的最佳实验条件参照文献[13, 16], 其他实验条件保持一致, 测定结果见表 2。由表可知, 微波萃取法的 PAHs 平均回收率及相对标准偏差 (RSD) 均比超声萃取法略好, 与加速溶剂提取法结果相当, 其萃取效率甚至优于文献报道的索氏提取法^[7]。对于低环 PAHs, 虽然微波萃取法及加速溶剂提取法的萃取效率都较低, 但也明显优于超声萃取法的结果, 这可能是由于低环 PAHs 易挥发, 超声萃取法密闭性较微波萃取法差, 从而导致低环 PAHs 在提取过程中更易损失; 且与超声波萃取和加速溶剂提取法相比, 微波萃取具有更加智能、快速、有机溶剂使用量少、稳定性好等优势。

表 2 微波萃取法与超声波萃取法及加速溶剂提取法的结果比较

组分	微波萃取法		超声萃取法		加速溶剂提取法	
	平均回收率/%	RSD(n=3)/%	平均回收率/%	RSD(n=3)/%	平均回收率/%	RSD(n=3)/%
萘	75.6	4.5	-	-	69.4	2.4
苊烯	77.9	3.7	-	-	70.2	3.4
苊	79.3	2.2	57.8	4.8	73.4	2.2
芴	82.0	0.7	63.6	3.2	78.8	4.4
菲	83.5	1.0	69.9	3.2	72.9	4.2
蒽	84.2	3.3	79.4	0.8	83.7	4.7
荧蒽	86.8	4.2	82.2	0.8	88.5	0.8
芘	89.9	5.4	87.6	2.4	86.4	0.9
苯并[a]蒽	93.6	0.5	89.9	3.1	95.8	2.8
屈	94.0	5.6	90.2	1.5	94.3	3.5
苯并[b]荧蒽	98.8	1.8	99.5	1.0	100.4	2.8
苯并[k]荧蒽	103.4	3.4	95.4	2.2	99.3	3.3
苯并[a]芘	97.2	2.1	97.6	5.3	98.6	4.3
二苯并[a,h]蒽	102.2	4.3	95.3	2.0	95.8	2.8
苯并[g,h,i]芘	107.3	3.0	102.4	4.2	97.7	2.5
茚并[1,2,3-cd]芘	101.5	5.9	99.0	4.9	99.3	3.7

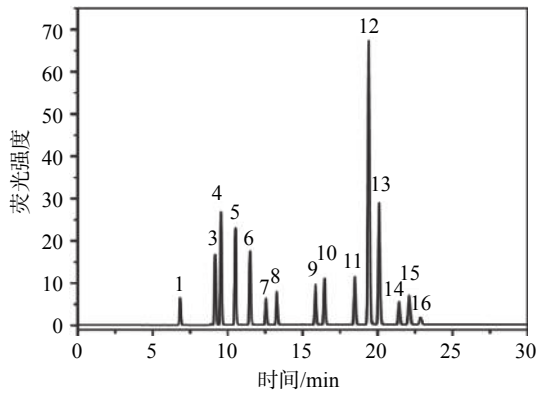
2.3 方法线性范围及检出限

将混合标准溶液稀释配制成质量浓度分别为 0.025, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 μg/mL 的混合标准系列, 依次进样分析。其荧光和紫外检测器的色谱图分别见图 3、图 4。然后以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得出 16 种 PAHs 在 0.025~5 μg/mL 范围内均具有良好的线性, 其线性

相关系数均 ≥ 0.999 8。连续进样 10 次接近于试剂空白的混合标准溶液, 以 3 倍标准偏差为仪器检出限, 然后以采样体积 144 m³, 采集效率 90%, 进样体积 10 μL, 计算方法检出限, 得到 16 种 PAHs 的方法检出限为 0.005~0.051 ng/m³。

2.4 方法精密度及准确度

在标准线性范围内, 在平行空白玻璃纤维滤膜



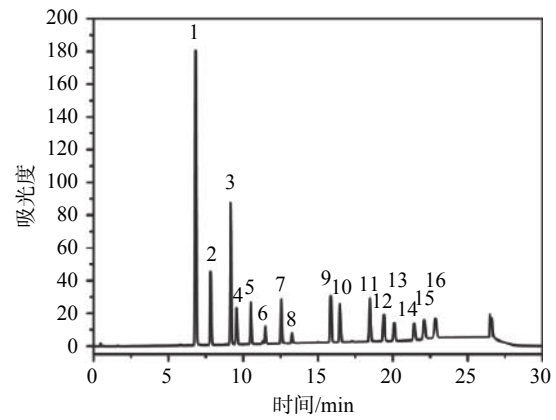
1. 萘; 3. 芘; 4. 芴; 5. 菲; 6. 蒽; 7. 荧蒽; 8. 芘; 9. 苯并[a]蒽;
10. 屈; 11. 苯并[b]荧蒽; 12. 苯并[k]荧蒽; 13. 苯并[a]芘;
14. 二苯并[a, h]蒽; 15. 苯并[g, h, i]芘; 16. 茚并[1, 2, 3-cd]芘。

图3 PAHs标准溶液荧光检测色谱图

上分别加入低(0.025 $\mu\text{g/mL}$)、中(0.5 $\mu\text{g/mL}$)、高(5 $\mu\text{g/mL}$)3个水平混合标准溶液各11份,滤膜平衡后按照1.5进行预处理后测定其浓度,分别计算16种PAHs的加标回收率,得到方法加标回收率在78.8%~101.6%之间,相对标准偏差在0.4%~5.8%之间。

2.5 实际样品测定

在最优实验条件下分析2016年2月和3月成都市3个采样点大气颗粒物样品中的PAHs,结果



2. 芘烯; 其余组分同图3。

图4 PAHs标准溶液紫外检测色谱图

见表3。由表可知,成都市2016年2月至3月,各采样点 $\text{PM}_{2.5}$ 中PAHs的总浓度范围为17.70~53.34 ng/m^3 ,且3月各采样点PAHs的总浓度均高于2月;各采样点的高环PAHs均有检出,少部分低环化合物芘烯、芘、芴未检出;各采样点中2环、3环PAHs的含量都较低。这些分布特征及规律与其他南方城市基本一致。并且,我国空气质量标准中仅苯并[a]芘给定限值为2.5 ng/m^3 ,而其他优控PAHs均无标准限值,国外也未制定有环境空气16种PAHs的限量要求。由此得出,2016年2月至3月,成都市的空

表3 各采样点 $\text{PM}_{2.5}$ 中16种PAHs的平均含量及总浓度

ng/m^3

组分	2月份			3月份		
	采样点1	采样点2	采样点3	采样点1	采样点2	采样点3
萘	0.14	0.07	0.17	0.65	0.45	0.88
芘烯	ND	0.13	0.81	0.21	0.17	0.65
芘	ND	0.10	0.17	0.06	0.15	0.11
芴	ND	ND	0.20	0.22	0.09	0.35
菲	0.63	0.75	0.72	1.25	0.85	0.87
蒽	0.09	0.09	0.19	0.32	0.08	0.04
荧蒽	1.94	2.56	3.94	3.84	2.97	3.93
芘	1.36	1.47	1.57	1.75	4.66	1.87
苯并[a]蒽	0.89	1.28	3.62	1.76	3.56	3.32
屈	1.77	1.97	4.65	4.25	2.47	6.56
苯并[b]荧蒽	1.84	2.32	4.44	5.67	4.99	6.49
苯并[k]荧蒽	0.93	1.11	2.43	2.85	5.87	3.08
苯并[a]芘	1.47	1.90	4.87	4.15	2.69	5.12
二苯并[a, h]蒽	0.99	1.46	2.30	2.77	6.90	3.56
苯并[g, h, i]芘	3.67	3.92	3.33	9.36	7.99	9.78
茚并[1, 2, 3-cd]芘	1.98	2.59	5.09	5.55	7.32	6.73
PAHs总浓度	17.70	21.72	38.50	44.66	51.21	53.34

气在一定范围内受到了PAHs的污染,且3月污染相对较严重。而引起这些污染的可能原因有:石油加工产品和煤不完全燃烧所释放出的烟尘与水汽及工业生产排放的废气等。

3 结束语

本文建立了磁力搅拌辅助微波萃取-高效液相色谱法同时测定大气PM_{2.5}中的16种PAHs。该方法具有分离效果好,操作简便、快速,选择性好,准确度及灵敏高等优点。与传统索氏提取、超声提取和加速溶剂提取法相比,微波辅助萃取对PAHs提取效率高,避免了有机溶剂的大量使用,样品处理过程中待测组分损失较少,且该法更加稳定、智能、省时,能够满足大批量样品的准确分析。将其应用于实际样品的测定,可为PM_{2.5}中PAHs的污染分布和源解析提供相应的数据支持。

参考文献

- [1] PANTHER B C, HOOPER M A, TAPPER N J. A comparison of air particulate matter and associated polycyclic aromatic hydrocarbons in some tropical and temperate urban environments[J]. *Atmos Environ*, 1999, 33(24): 4087-4099.
- [2] 王平利,戴春雷,张成江. 城市大气中颗粒物的研究现状及健康效应[J]. *中国环境监测*, 2005, 21(1): 83-87.
- [3] 张德云,孙成均,王涛. 高效液相色谱法测定室内空气中13种多环芳烃[J]. *华西医科大学学报*, 2002, 33(1): 140-143.
- [4] 何燕,王淑惠,解彦平,等. 高效液相色谱法测定空气中的16种多环芳烃[J]. *现代预防医学*, 2015, 42(8): 1475-1500.
- [5] 赵红帅,刘保献,常森,等. 控温超声提取-气相色谱-三重四级杆质谱测定大气细颗粒物(PM_{2.5})中的多环芳烃[J]. *分析化学*, 2014, 42(5): 729-734.
- [6] 刘斐,段凤魁,李海蓉,等. 固相微波萃取-气相色谱串联质谱法检测北京大气细颗粒物中的多环芳烃[J]. *分析化学*, 2015, 43(4): 540-546.
- [7] GOGOU A I, APOSTOLAKI M, STEPHANOU E G. Determination of organic molecular markers in marine aerosols and sediments: one-step flash chromatography compound class fractionation and capillary gas chromatographic analysis[J]. *J Chromatogr A*, 1998, 799(1-2): 215-231.
- [8] 高少鹏,刘大猛,安祥华,等. 高效液相色谱法测定某钢铁厂地区大气颗粒物PM_{2.5}中16种多环芳烃[J]. *环境科学*, 2006, 27(6): 1052-1055.
- [9] KOZIEL J A, ODZIEMKOWSKI M, PAWLISZYN J. Sampling and analysis of airborne particulate matter and aerosols using in-needle trap and SPME fiber devices[J]. *Anal Chem*, 2001, 73(1): 47-54.
- [10] KOLAR K, CIGANEK M, MALECHA J. Air/polymer distribution coefficients for polycyclic aromatic hydrocarbons by solid-phase microextraction sampling[J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1029(1-2): 263-266.
- [11] SHIMMO M, ANTTILA P, HARTONEN K. Identification of organic compounds in atmospheric aerosol particles by on-line supercritical fluid extraction-liquid chromatography-gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1022(1-2): 151-159.
- [12] 刘兴国,张艳海,刘晓达,等. 高效液相色谱法同时测定雾霾中的16种多环芳烃[J]. *环境化学*, 2015, 34(7): 1383-1385.
- [13] 江阳,刘滔,汪文家,等. 加速溶剂萃取-高效液相色谱法同时测定大气颗粒物PM_{2.5}中16种多环芳烃[J]. *中国测试*, 2015, 41(6): 43-51.
- [14] 袁小雪,江阳,杨长晓,等. 快速溶剂提取-高效液相色谱法测定PM_{2.5}中16种多环芳烃[J]. *分析化学*, 2017, 45(11): 1641-1647.
- [15] HAYAKAWA K, MURAHASHI T, AKUTSU K, et al. Comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particulates collected in downtown and suburban Kanazawa, Japan[J]. *Atmos Environ*, 2002, 36(35): 5535-5541.
- [16] 常君瑞,李娜,徐春雨,等. 超声提取-高效液相色谱法测定PM_{2.5}中的多环芳烃[J]. *实用预防医学*, 2016, 23(3): 267-269.
- [17] BUDZINSKI H, LETELLIER M, GARRIGUES P, et al. Optimisation of the microwave-assisted extraction in open cell of polycyclic aromatic hydrocarbons from soils and sediments-study of moisture effect[J]. *J Chromatogr A*, 1999, 837(1-2): 187-200.
- [18] 周娜,骆和东,李呐,等. 食品中苯并(a)芘的微波辅助萃取方法的研究. *光谱学与光谱分析*, 2014, 34(3): 787-790.

(编辑:莫婕)