

SPE-PDA /FLD 串联 HPLC 法测定水样中痕量多环芳烃

李 竺¹ 陈 玲^{1*} 郜洪文² 袁 园¹ 赵建夫^{1,2}

(1 污染控制与资源化研究国家重点实验室; 2 长江水环境教育部重点实验室, 同济大学, 上海, 200092)

摘 要 建立了固相萃取-PDA /FLD 串联 HPLC 法测定水样中多环芳烃 (PAHs) 的分析方法, 优化了固相萃取条件. 结果表明, 对 1L 水样加入 10% 有机改性剂进行固相萃取, 采用 3m l 四氢呋喃洗脱后进行 HPLC 分析, 平均回收率在 95. 22% — 100. 8% 间, 相对标准偏差为 0. 78% — 6. 68%, 方法的检出限在 0. 03— 220 ng• l⁻¹ 之间.

关键词 多环芳烃, 固相萃取, 高效液相色谱.

多环芳烃化合物 (PAHs) 因疏水性、难降解性和长距离迁移性, 在自然水体中以痕量浓度广泛分布. PAHs 类物质的分析常采用二极管阵列检测器 (PDA) /高效液相色谱 (HPLC) 和荧光检测器 (FLD) /高效液相色谱 (HPLC). 前者可根据待测物的光谱检索与标准物质光谱图的比较来实现待测组分的定性分析; 而后者因其极高灵敏度和良好选择性, 成为 PAHs 检测的常用方法^[1-5]. 本研究采用固相萃取法富集样品中的多环芳烃, 串联 HPLC 的 PDA 和 FLD 检测器作为分析手段, 以实现环境水体中痕量 PAHs 的定性和定量分析.

1 实验方法

分别选择一环、二环和三环多环芳烃中具有代表性的苯、萘、联苯、芴、菲和蒽作为研究对象. 6 种多环芳烃都具有较强的亲脂憎水性, 一定的生物累积性和毒性, 其中萘、菲和蒽对水生生物具有急性毒性.

准确称取标准样品, 用色谱级甲醇溶解于棕色容量瓶中 4℃ 保存. 储备母液浓度分别为: 苯 100mg• l⁻¹, 萘 10mg• l⁻¹, 联苯 10mg• l⁻¹, 芴 10mg• l⁻¹, 菲 10mg• l⁻¹, 蒽 10mg• l⁻¹.

用 5m l 四氢呋喃净化 ENV F18 固相萃取柱后抽空, 依次加入 10m l 甲醇和 10m l 纯水活化, 再以 5 m l• m in⁻¹ 流速加入水样, 然后用 5m l 纯水洗涤后, 空气脱水 5m in 至干, 以合适的溶剂洗脱吸附剂上的代测物, 取 20μ l 洗脱液进行 HPLC 分析.

Varian ProStar 高效液相色谱仪, 色谱柱: SHIMADZU 250mm × 4. 6 mm × 5μm C18 反相柱; 流动相: 乙腈-水 (75: 25) 等度洗脱; 流速: 1m l• m in⁻¹; 进样体积: 20μ l. PDA: 由于一环和二环 PAHs 在近紫外区吸收较强, 三环在中紫外区吸收较强, 选择 0—9. 5m in 检测波长为 210nm 以检测苯、萘和联苯, 9. 5—14m in 检测波长为 254nm 以检测芴、菲和蒽; 荧光检测器: 使各组分处于最佳激发 / 发射波长处: 苯 萘 (270nm /340nm), 联苯 (260nm /320nm), 芴 (270nm /340nm), 菲 蒽 (255nm / 370nm).

2 标准工作曲线

经过色谱条件的优化, 串联使用 PDA 和 FLD 检测器, 得到了 6 种 PAHs 的标准色谱图, 由图 1 可以看出, 6 种 PAHs 均获得理想分离. 苯具有微弱荧光, 但由于与其它 5 种 PAHs 相比, 荧光效率太低, 建议使用 PDA 检测.

取不同体积的 PAHs 母液, 配制成一系列浓度梯度的标准溶液, 依次测定, 得出各个浓度的峰面积, 以标准溶液的浓度与相应峰面积进行线性拟合, 得 PAHs 的线性回归方程, 如表 1 和表 2 所示,

2005 年 9 月 13 日收稿.

* 国家自然科学基金项目 (No. 20477030); 863 计划 (No. 2004AA649410); 上海市科技委员会科研计划项目 (No. 04FG14072).

** 通讯联系人: Tel (021) 65984261, E-mail: chenling@mail.tongji.edu.cn

结果表明, PAHs在 PDA 和荧光检测器的测定范围内均具有良好的线性相关性. 除苯以外, 荧光检测器对 PAHs的灵敏度为二极管阵列的 50—100倍, 故选用荧光检测器对含 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 级浓度的 5种 PAHs 样品进行定量分析, 而用 PDA 检测器对苯进行定量分析, 并借助光谱扫描和标准谱库检索对照法对 6 种 PAHs进行光谱定性分析.

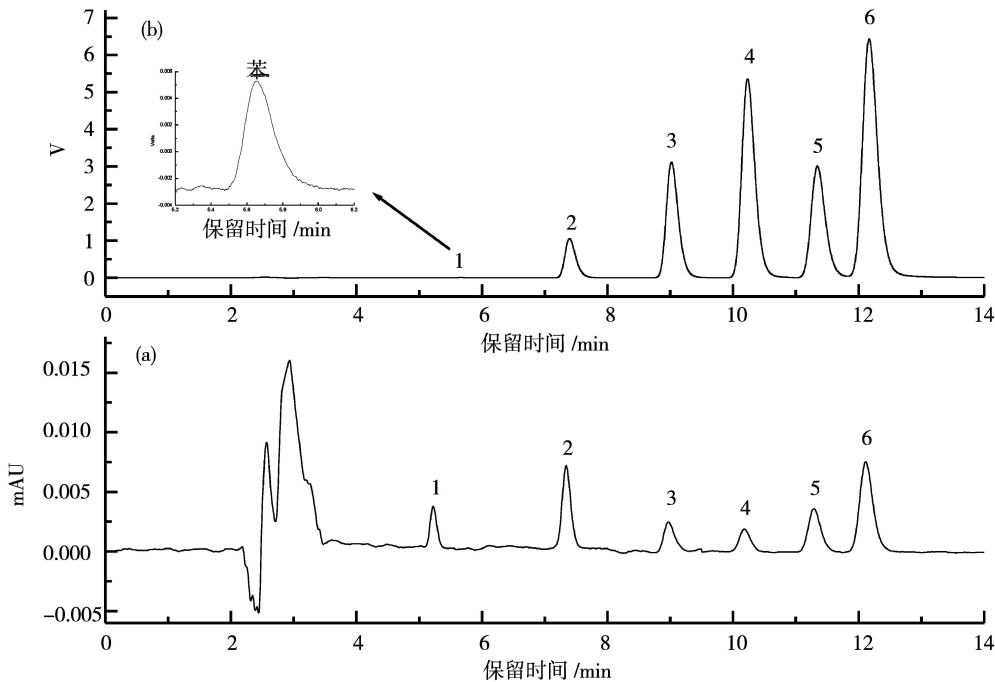


图 1 PAHs 的色谱图
1 苯, 2 萘, 3 联苯, 4 芴, 5 菲, 6 蒽
(a) 6种 PAHs 的 PDA 检测结果; (b) 6种 PAHs 的 FLD 检测结果

Fig 1 Chromatogram of PAHs with photodiode assay detector and fluorescence detector

表 1 二极管阵列检测器所得标准工作曲线
Table 1 The calibration curves of PAHs with PDA

PAHs	保留时间 /min	标准工作曲线	线性范围 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	线性系数
苯	5.20	$y=296.10x-52033$	0.5—20	0.9999
萘	7.30	$y=2869.4x+49759$	0.05—2	0.9998
联苯	8.92	$y=2094.2x-49514$	0.05—2	0.9996
芴	10.12	$y=1371.6x+10495$	0.05—2	0.9994
菲	11.22	$y=2957.3x+17318$	0.05—2	0.9998
蒽	12.04	$y=7028.7x-43159$	0.05—2	0.9999

表 2 荧光检测器所得标准工作曲线
Table 2 The calibration curves of PAHs with FLD

PAHs	保留时间 /min	标准工作曲线	线性范围 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	线性系数
萘	7.44	$y=7760.8x-791.87$	1—100	1.0000
联苯	9.08	$y=29760x+1751.6$	1—100	1.0000
芴	10.32	$y=47875x-27952$	1—100	0.9993
菲	11.45	$y=28038x-4150.9$	1—100	0.9998
蒽	12.29	$y=66167x-31275$	1—100	0.9995

3 富集条件优化

根据 6 种 PAHs 的性质, 选取 6m IENV F18 富集小柱进行富集条件研究, 吸附剂质量为 500mg

3.1 洗脱溶剂的选择

选择甲醇、乙腈、四氢呋喃和二氯甲烷作为洗脱溶剂, 考察不同溶剂对 6 种多环芳烃的洗脱效果. 由图 2 可知, 由于待测多环芳烃的极性较弱, 甲醇和乙腈对其洗脱效果均不理想. 而极性较小的四氢呋喃和二氯甲烷效果较好, 这与多数文献报道一致^[6-8], 考虑到二氯甲烷在紫外区吸收较强, 选用四氢呋喃作为 6 种多环芳烃的洗脱溶剂.

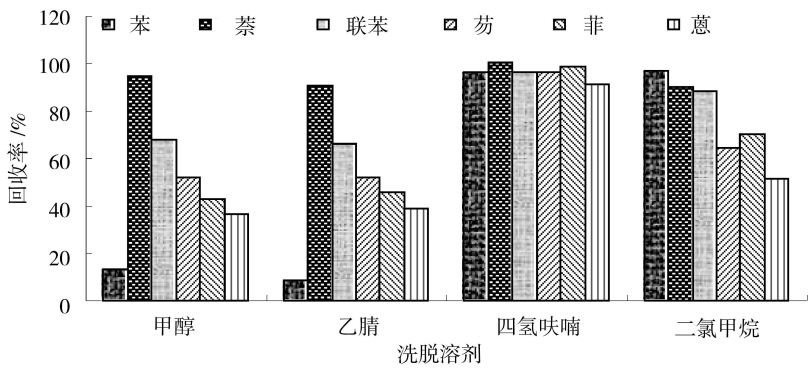


图 2 洗脱溶剂对 PAHs 回收率的影响

Fig 2 Recoveries of PAHs from the spiked water samples with different elution solvents

以每次 1ml 四氢呋喃分五次分别洗脱. 经 HPLC 检测后发现: 第一次洗脱即可回收 75% 以上的 PAHs, 而 98.6% 以上的 PAHs 在第三次洗脱后可尽数回收, 故可知 PAHs 的洗脱仅需 3ml 四氢呋喃.

3.2 样品体积对回收率的影响

在不同体积的水中加入相同质量 (50ng) 的 PAHs, 由图 3 可以看出, 水样体积增加到 1L 时, PAHs 尚未穿透. 这是因为多环芳烃多为非极性化合物, 反相 SPE 柱 ENV F18 对其保留性能很强. 鉴于此, 分析实际环境样品时, 采集 1L 水样进行固相萃取预处理.

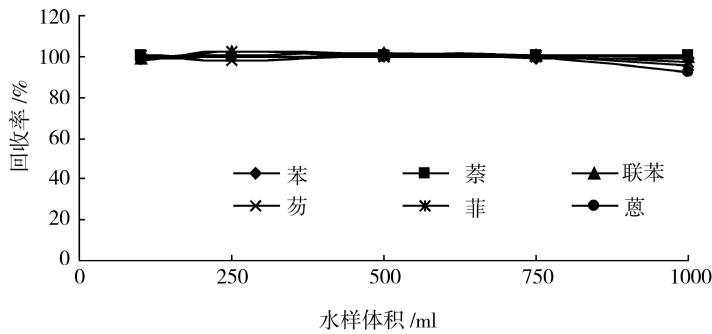


图 3 水样体积对 PAHs 回收率的影响

Fig 3 Recoveries of PAHs from the spiked water samples with different water volumes

3.3 有机改性剂的加入对回收率的影响

文献^[7, 9]显示, 在样品中加入一定量的甲醇或乙醇等有机改性剂, 可改善吸附剂表面与疏水性组分间的憎水作用, 有利于多环芳烃的回收. 然而本实验中加入不同比例 (5%, 10%, 20%) 的甲醇对 PAHs 的回收并无明显影响. 这可能是因为本研究选用的是三环以内的多环芳烃, 憎水性作用并不十分强烈, 因此, 有机改性剂并非是制约回收率的重要因素. 但考虑到甲醇的加入可增加多环芳烃在水中的溶解度, 减少其在玻璃器皿上的吸附, 可在水样中加入 10% 左右的甲醇.

4 最低检测浓度

取 20μl 洗脱液进液相色谱分析, 以三倍信噪比 (S/N = 3) 对应浓度为分析物的最低检测浓度, 6 种最低方法检测浓度分别为: 苯 220ng·l⁻¹, 萘 0.05ng·l⁻¹, 联苯 0.10ng·l⁻¹, 芴 0.07ng·l⁻¹,

菲 0.04ng• L⁻¹，葱 0.03ng• L⁻¹，完全满足痕量分析的要求。

5 精密度和准确度

取 100mL加标 5 ng• L⁻¹和 500ng• L⁻¹的样品，对 PAHs作精密度和准确度试验，结果如表 3 所示。由于本方法摒弃一般固相萃取后的浓缩步骤，避免了 PAHs挥发引进的误差，准确性较好。由表 3 可见，加标低浓度和高浓度样品中，6种多环芳烃回收率达 95.22% 以上，相对标准偏差（RSD）在 0.78%—6.68%间，完全达到 US EPA 规定 RSD< 30% 的要求。

表 3 精密度和准确度（n= 6）
Table 3 Precision and accuracy results of the method (n= 6)

PAHs	加标浓度 5ng• L ⁻¹		加标浓度 500ng• L ⁻¹	
	回收率 %	RSD %	回收率 %	RSD %
苯	—	—	99.94	3.38
萘	99.44	6.68	100.8	0.85
联苯	98.49	2.79	100.1	0.78
芴	95.22	4.00	96.56	3.75
菲	99.84	3.39	98.76	2.00
葱	97.61	3.62	99.07	0.81

6 实际水样分析

对黄浦江水和淀山湖水进行分析，结果见表 4（表中数据为三次测试结果的平均值）。从表 4 可看出，PAHs在地表水中广泛分布，其中尤以三环类菲和葱分布广，含量较高。作为上海市重要取水口的淀山湖和黄浦江，淀山湖区域受 PAHs污染程度要高于黄浦江流域，这可能是因为淀山湖受上游工业和当地养殖业的影响较大所致。作为上海市饮用水源地的黄浦江，也有少量萘、菲、葱等 PAHs 被检出。现行《地表水环境质量标准》（GB3838-2002）和《城市供水水质标准》（CJ/T 206-2005）虽未对 PAHs提出具体要求，但随着人们生活质量要求的提高，水源水质的相对恶化，加强对 PAHs 有机污染的控制势在必行。

表 4 实际水样分析结果（n= 3）
Table 4 Concentration of 6 kinds PAHs in surface water sample (n= 3)

取样点	苯 /μg• L ⁻¹	萘 /ng• L ⁻¹	联苯 / ng• L ⁻¹	芴 /ng• L ⁻¹	菲 /ng• L ⁻¹	葱 /ng• L ⁻¹
淀山湖 1#	ND	ND	3.71±0.25	ND	4.89±0.22	51.18±0.18
淀山湖 2#	0.78±0.23	ND	ND	3.74±0.35	8.01±0.27	2.85±0.32
淀山湖 3#	ND	ND	0.86±0.40	1.38±0.26	ND	3.46±0.14
黄浦江 1#	ND	ND	ND	2.00±0.24	2.84±0.33	2.18±0.20
黄浦江 2#	ND	1.76±0.08	ND	ND	4.06±0.25	13.46±0.21
黄浦江 3#	ND	0.95±0.14	ND	ND	ND	ND

注：ND 为未检出。

综上所述，对多环芳烃类使用 PDA-FLD 串联检测，在 FLD 提高仪器灵敏度的同时，PDA 能对待测物质进行定性分析。该方法对水样中 PAHs 的回收率在 95.22%—100.8%，相对标准偏差为 0.78%—6.68%，检出限达 ng• L⁻¹级。

参 考 文 献

[1] Naoya Kishikawa, Mitsuhiro Wada, Naotaka Kuroda et al., Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Milk Samples by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection [J]. *Journal of Chromatography B*, 2003, **789**: 257—264

[2] 闫小华, 张毕奎, 李焕德等, 紫外检测器-荧光检测器串联的 HPLC 法测定火力发电场环境中的多环芳烃 [J]. *色谱*, 2000 **18** (5) : 432—435

[3] 陶敬奇, 王超英, 李碧芳等, 固相微萃取-高效液相色谱联用分析环境水样中的痕量多环芳烃 [J]. *色谱*, 2003 **21** (6) :

599—602

[4] 朱利中, 沈学优, 刘勇建等, 高效液相色谱法分析水中痕量多环芳烃 [J]. 环境化学, 1999, 18 (5) : 488—492

[5] 李岩, 张晓永, 徐瑞泽等, SPME /HPLC 对水中多环芳烃的定量分析 [J]. 环境化学, 2000, 19 (4) : 382—384

[6] Willy Hesselink, Ruud H. N. A. Schiffer, Peter R. Kootstra. Separation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on a Wide-Pore Polymeric C₁₈ Bonded Phase [J]. *Journal of Chromatography A*, 1995, 697: 165—174

[7] 贾瑞宝, 孙韶华, 刘德珍, 用固相萃取技术富集水中多环芳烃 [J]. 色谱, 1997, 15 (6) : 524—526

[8] Gary M. ichor, John Caron, Shelley Brice et al. Analysis of 23 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Natural Water at the Sub-ng• l⁻¹ Level Using Solid-phase Disk Extraction and Mass Selective Detection [J]. *Journal of Chromatography A*, 1996, 732: 85—99

[9] Hongwen Chen. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water by Solid-Phase Microextraction and Liquid Chromatography [J]. *Analytical Sciences*, 2004, 20: 1383—1388

EXTRACTION OF TRACE PAHs IN WATER BY SOLID-PHASE
EXTRACTION AND DETERMINATION BY HIGH PERFORMANCE
LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH PDA-FLD USED IN SERIES

LI Zhu¹ CHEN Ling¹ GAO Hongwen² YUAN Yuan¹ ZHAO Jianfu^{1, 2}

(1 State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse

2 Key Laboratory of Yangtze Water Environment, Tongji University, Shanghai 200092, China)

ABSTRACT

A method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples using solid-phase extraction and high performance liquid chromatography with photodiode array (PDA) /fluorescence detectors (FLD) used in series was developed. The optimal conditions for solid-phase extraction were 10% methanol added in water samples as solvent conditioner, eluting solvent was tetrahydrofuran, amount of eluting solvent was 3m l. With 1L water samples spiked with PAHs, the average recovery was among 95. 22% to 100. 8%, and relative standard deviation was 0. 78% to 6. 68%, and the detection limits ranged 0. 03ng• l⁻¹ to 220 ng• l⁻¹.

Keywords Polycyclic aromatic hydrocarbons solid phase extraction high performance liquid chromatography