

高效液相色谱法测定贵州铜仁地区优质矿泉水中 16 种多环芳烃

姜 丞, 贾双琳, 龙纪群, 邓昭祥

(贵州省地质矿产中心实验室, 贵州 贵阳 550018)

[摘 要] 本文使用高效液相色谱仪对贵州铜仁地区优质矿泉水中 16 种多环芳烃进行分析测试, 研究了测定优质矿泉水中多环芳烃的方法, 并进行了方法验证和实际样品测试, 对仪器柱温箱温度和萃取溶剂种类等条件进行优化, 选出最适条件。建立的检测方法线性关系良好 (R^2 均大于 0.999 0), 检出限为 0.002 6 ~ 0.009 8 $\mu\text{g/L}$, 16 种多环芳烃的回收率为 73.87% ~ 116.16%, 替代物十氟联苯的回收率为 70.17% ~ 85.61%, 方法精密度 (RSD) 为 0.85% ~ 16.77%。方法前处理过程简单, 有利于实际样品快速分析, 在贵州铜仁地区优质矿泉水资源调查项目中发挥重要作用。

[关键词] 高效液相色谱法; 多环芳烃; 优质矿泉水; 温度

[中图分类号] P314.1; O657.7⁺2; X523 [文献标识码] A [文章编号] 1000-5943(2019)-04-382-06

多环芳烃 (PAHs), 指含有两个或以上苯环或杂环的碳氢化合物, 是煤、石油等有机高分子化合物在不完全燃烧时产生的, 因其具备较高毒性、致突变性和致癌性、通过人体吸入或食物链作用, 在生物体内累积, 使 PAHs 可能对环境 and 人的健康产生严重影响。在 16 种 PAHs 中, 苯并 (α) 芘经常被用作环境污染水平和致癌风险的代表物 (Mei-I Leong 等, 2010)。PAHs 分布广泛, 国内外已有水体中存在多环芳烃的报道 (Wang JX et al, 2009) (Hazim A. Walli, 2015)。美国环境保护署 (USEPA) 制定的环境水质标准中规定, 饮用水中 PAHs 推荐的最大污染物水平为 0.2 $\mu\text{g/L}$ (Pasquale Avino et al, 2017)。我国《生活饮用水卫生标准》GB5749-2006 (中华人民共和国卫生部, 2006) 中规定苯并 (a) 芘的含量不得超过 0.01 $\mu\text{g/L}$, PAHs 总量不得超过 0.002 mg/L 。

水是人类生存不可缺少的资源, 研究水体中尤其是地下水、地表水中 PAHs 的分析测试技术意义重大。水体中 PAHs 的含量一般极低, 因此对水中 PAHs 的分析测试技术报道的并不多。测定水中的多环芳烃, 多采用气相色谱法 (GC) (郑

海涛等, 2004)、气相色谱质谱法 (GC-MS) (李二妹, 2017) (刘保献等, 2015) (徐蓉桢等, 2018)、高效液相色谱法 (HPLC) (纪春苗等, 2017) 和超高效液相色谱法 (李贵洪等, 2017)。其中高效液相色谱法更适用于大分子、热稳性差的化合物的分析, 是效率高、分离效果好、精密度和准确度高、且较为经济的测定水中痕量 PAHs 的方法, 可实现在室温下工作且分离效果优于气相色谱法。

在检测水样中的 PAHs 进行前处理方法中, 目前常用的是液液萃取法 (张新庆等, 2009) 和固相萃取法 (Lima A D C et al, 2015) (梁焱等, 2011) (王金成等, 2018), 液液萃取法所需仪器设备较固相萃取法更为简单经济, 成本费用相对较低。使用液液萃取法常用萃取溶剂为正己烷或二氯甲烷, 本文将对两种萃取溶剂的使用效果进行探究。

为配合贵州铜仁地区优质矿泉水资源状况调查项目的顺利进行, 本文利用实验室现有的高效液相色谱仪开展了贵州优质矿泉水中多环芳烃测试方法的研究, 在《水质多环芳烃的测定液液萃取和固相萃取高效液相色谱法》HJ478-2009 (中华人民共和国环境保护部, 2009) 的基础上进行改

[收稿日期] 2019-08-09 [修回日期] 2019-10-26

[基金项目] 贵州省地质矿产勘查开发局地质科研项目, 典型优质饮用天然矿泉水调查评价 (黔地矿科合 (2015) 08 号)。

[作者简介] 姜丞 (1993—), 女, 硕士研究生, 主要从事仪器分析。E-mail: 395801548@qq.com

进,找出适合方法分离色谱峰,同时缩短仪器测试时间,所建立的方法检出限低、精密度高,且便于进行较大批量生产,为建立铜仁市优质水资源数据库提供检测依据。

1 实验部分

1.1 实验仪器和主要试剂

LC2030 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);紫外检测器,荧光检测器。

色谱柱: C₁₈ 反向分析柱 Athena PAHs HPLC Column, 25 cm×4.6 mm×5 μm。

浓缩装置: 旋转蒸发器(瑞士布琦 R-300), 氮吹仪(众信佳义 ZX-DC)。

16 种 PAHs 混合标准溶液(PAH-Mix16), 200 mg/L。

替代物: 十氟联苯标准溶液(美国 O2Si 公司), 2 000 mg/L。

乙腈: 农药残留分析纯, 上海安谱科技股份有限公司。

正己烷: 农药残留分析纯, 上海安谱科技股份有限公司。

二氯甲烷: 农药残留分析纯, 上海安谱科技股份有限公司。

氯化钠(优级纯): 重庆江川化工有限公司, 450℃ 烘烤 1.5 小时, 冷却后储于磨口瓶中密封保存。

无水硫酸钠(优级纯): 上海国药化学试剂有限公司, 450℃ 烘烤 1.5 小时, 冷却后储于磨口瓶中密封保存。

1.2 样品保存

样品采集后应避光 4℃ 以下冷藏, 7 天内完成萃取, 萃取后的样品应避光 4℃ 以下冷藏, 并在 40 天内分析完毕。

1.3 样品前处理

摇匀水样, 量取 500 mL 水样, 置于 1 000 mL 的分液漏斗中, 加入 15 g 氯化钠、30 mL 正己烷/二氯甲烷, 振摇 5 min, 静置分层, 收集有机相, 放入 250 mL 接收瓶, 重复萃取两次, 合并有机相, 加入无水硫酸钠至有流动的无水硫酸钠存在。静置

分层, 脱水干燥。

用旋转蒸发器浓缩, 浓缩至约 1 mL, 用 8 mL 正己烷分四次洗涤, 洗涤液转至 10 mL 刻度管, 氮吹至约 1 mL, 加入 3 mL 乙腈, 氮吹至约 0.5 mL, 转移至 2 mL 进样瓶, 精确定容至 1 mL, 待进行上机测定。

1.4 仪器工作条件

流动相 A: 超纯水, 流动相 C: 乙腈。柱温箱温度: 35℃。流速: 1.0 mL/min。紫外检测器波长: 220 nm。进样量: 10 μL。

梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure

序号	时间(min)	流动相 A (%)	流动相 C (%)
1	0	40	60
2	12	40	60
3	30	0	100
4	34	0	100
5	38	40	60

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

通常测定多环芳烃可使用紫外检测器和荧光检测器(曹放等, 2010), 由于蒽不具有荧光效应, 无法产生荧光, 故本实验中使用紫外检测器对 16 种 PAHs 进行定性检测。

影响 16 种 PAHs 和替代物(十氟联苯)分离效果的因素有很多种, 包括流动相比例及洗脱程序设置(李荣等, 2010)(刘伶俐等, 2016)和柱温箱温度(罗显平, 2015)等, 在实验中我们对流动相比例进行多次实验, 设置为表 1 所示洗脱程序。

本文探究了同一洗脱程序下不同柱温箱温度对多组份化合物的分离效果。在本次实验中, 对比 16 种 PAHs、十氟联苯混标的出峰时间(图 1a)和十氟联苯单标的出峰时间(图 1b)可以发现: 25℃ 时, 十氟联苯第五个出峰, 先于蒽出峰(十氟联苯出峰时间 17.094 min), 30℃ 条件下, 十氟联苯与蒽出峰时间重叠(出峰时间 16.551 min), 35℃~45℃ 条件下, 十氟联苯后于蒽出峰(十氟联苯出峰时间分别为 15.715 min, 15.044 min, 14.085 min), 为第六个峰。在实验分析中, 应注意不同柱温箱温度条件下

目标物质的出峰顺序,做好定性工作。

由于温度越高分子运动速度越快,柱温箱温度越高则目标物质随流动相在色谱柱中流动速度越快,使得目标物质出峰越早,出峰结束越快,图1a说明此现象。本次实验中我们发现,在柱温箱温度45℃条件下,芴和芴烯出峰完全重叠,十氟联苯和芴葱出峰重叠,40℃时,芴和芴烯完全重叠,30℃时,葱与十氟联苯出峰完全重叠。25℃和

35℃时峰分离状况良好,但是在38分钟洗脱程序内,柱温箱25℃时出峰不完整,茚并[1,2,3-c,d]芘并未出峰,且在多次重复实验中发现易受环境温度影响,柱温箱温度不易维持稳定。而柱温箱在35℃时,34分钟内16种PAHs目标化合物和替代物均已出峰。综上,考虑到仪器稳定性、目标物质出峰分离效果和缩短测试时间提高生产效率等因素,后续实验中柱温箱温度设定为35℃。

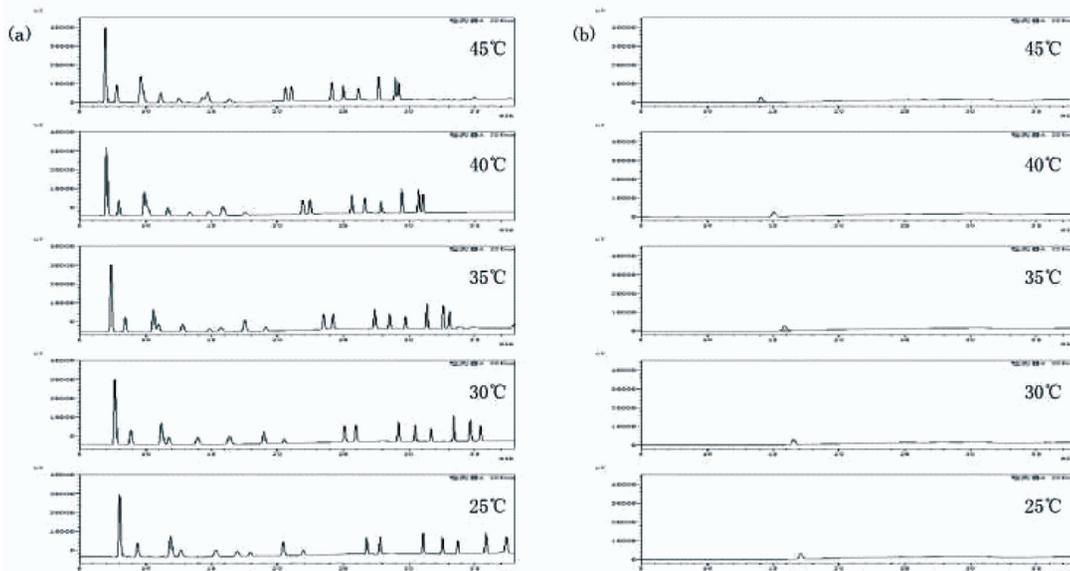


图1 (a)不同柱温箱温度下16种PAHs及十氟联苯色谱图;(b)不同柱温箱温度下十氟联苯色谱图

Fig. 1 (a) Chromatogram of 16 kinds of PAHs and decafluorobiphenyl at different temperatures;
(b) Chromatogram of decafluorobiphenyl at different temperatures

2.2 色谱图

图2为紫外检测16种PAHs的液相色谱图。

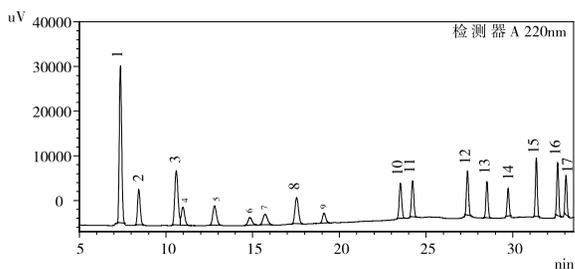


图2 16种PAHs液相色谱图

Fig. 2 Chromatogram of 16 PAHs

注:出峰顺序及时间:1—萘(7.372 min);2—芴(8.434 min);3—芴(10.593 min);4—芴烯/二氢芴(10.977min);5—菲(12.802 min);6—葱(14.846 min);7—十氟联苯(15.715 min)(替代物);8—芴葱(17.537 min);9—芘(19.117 min);10—蒽(23.522 min);11—茚并(a)葱(24.227 min);12—茚并(b)芴葱(27.391 min);13—茚并(k)芴葱(28.514 min);14—茚并(a)芘(29.734 min);15—二茚并(a,h)葱(31.362 min);16—茚并(g,h,i)芘(32.594 min);17—茚并[1,2,3-c,d]芘(33.070 min)

2.3 绘制标准曲线

将PAHs混合标准溶液配制成相应标准中间液,再分别配制10 μg/L,25 μg/L,50 μg/L,100 μg/L,250 μg/L,500 μg/L,1 000 μg/L 7个浓度的标准溶液系列,根据含量范围选取7个点绘制标准曲线,从表2中可以看到,PAHs的线性关系较好,线性相关系数(R²)均大于0.999 0。

2.4 萃取溶剂的选择

对浓度0.4 μg/L的空白加标样品分别使用正己烷和二氯甲烷进行液液萃取,各6次,测得平均加标回收率如图3。萃取过程使用正己烷时,16种PAHs的回收率在75.1%~94.0%之间,替代物十氟联苯回收率为69.7%。萃取过程使用二氯甲烷时,16种PAHs的回收率在77.8%~108.8%之间,替代物十氟联苯回收率为60.3%。两种萃取溶剂萃取得到的PAHs及十氟联苯回收率均满足

表 2 线性方程和相关系数

Table 2 The linear equation and correlation coefficients of the standard curve

化合物	线性方程	相关系数 R ²
萘	Y = 334.016X - 233.656	1.000 0
苊	Y = 83.0447X - 196.978	0.999 9
芴	Y = 158.650X - 317.764	1.000 0
芘烯/二氢芘	Y = 54.039 8X - 120.180	1.000 0
菲	Y = 63.828 8X - 155.254	1.000 0
蒽	Y = 27.4751X - 61.850 2	0.999 9
十氟联苯(替代物)	Y = 42.160 2X - 176.869	0.999 9
荧蒽	Y = 81.937 7X - 115.282	1.000 0
芘	Y = 27.360 1X - 55.638 3	1.000 0
蒎	Y = 77.065 1X + 42.853 4	0.999 9
苯并[a]蒽	Y = 74.748 1X - 15.911 3	1.000 0
苯并[b]荧蒽	Y = 82.290 1X - 23.845 8	0.999 9
苯并[k]荧蒽	Y = 66.617 6X - 98.985 1	1.000 0
苯并[a]芘	Y = 47.200 1X + 809.513	0.999 0
二苯并[a,h]蒽	Y = 95.228 3X - 337.212	1.000 0
苯并[g,h,i]芘	Y = 90.987 3X + 143.399	0.999 4
茚并[1,2,3-cd]芘	Y = 64.148 1X - 377.545	0.999 9

HJ478-2009 的要求,且使用二氯甲烷进行萃取的回收率更高,但使用二氯甲烷进行萃取得到的替代物十氟联苯回收率不满足本次贵州铜仁地区优质矿泉水资源调查项目要求,且由于二氯甲烷较正己烷毒性更大,本次调查项目中样品量大,出于对实验人员的保护和满足项目调查要求的目的,后续均使用正己烷进行萃取。

白加标样进行检测,得到检出限、相对标准偏差(RSD)、平均回收率如表 3,检出限为 0.002 6 ~ 0.009 8 μg/L, RSD 为 0.85%~ 16.77%,16 种多环芳烃的回收率为 73.87%~ 116.16%,替代物十氟联苯的回收率为 70.17%~ 85.61%,均满足分析要求。

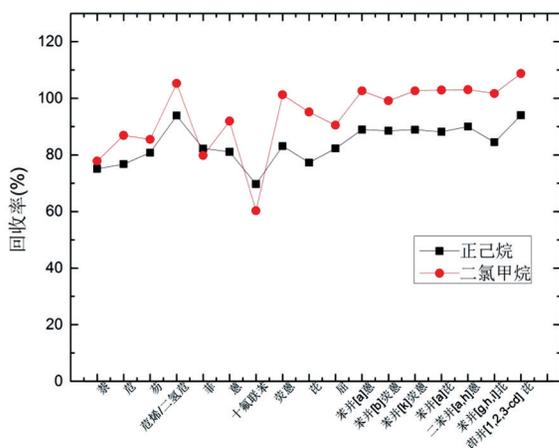


图 3 不同溶剂进行萃取对 PAHs 回收率的影响

Fig. 3 Recoveries of PAHs under different solvents

2.5 检出限、精密度、准确度和加标回收率

使用正己烷对水样进行萃取,对 0.04 μg/L、0.40 μg/L、1.80 μg/L 低中高三个浓度各 6 个空

3 实际水样分析

使用所建方法对贵州铜仁地区优质矿泉水共 24 个水源点水质样品进行分析测定。所检测的样品中均未发现多环芳烃化合物,表明贵州铜仁石阡、思南等地的优质矿泉水、理疗矿泉水等 24 个水源点的水未被多环芳烃污染。

4 结语

本文建立了液液萃取-高效液相色谱仪紫外检测器测定矿泉水中 16 种多环芳烃的分析方法。通过对比研究,发现柱温箱 35℃ 可以有效分离各个目标组分,且可缩短仪器分析测试时间,提高效率。前处理环节中,对于 16 种多环芳烃使用二氯甲烷进行萃取,其加标回收率更高,但综合替代物回收率及对实验人员健康安全、环境友好等因素的考虑,最终选择使用正己烷对水样进行萃取。本

表3 精密度、准确度和加标回收率
Table 3 Precision, detection and recovery rate

化合物	加标 0.04 μg/L 十氟联苯(0.4 μg/L)		加标 0.4 μg/L 十氟联苯(0.4 μg/L)		加标 1.8 μg/L 十氟联苯(0.4 μg/L)		MDL(μg/L)
	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	
萘	4.04	113.86	8.31	74.85	1.98	88.91	0.0063
蒽	5.48	103.41	4.59	75.13	3.88	95.50	0.0036
芴	4.24	101.13	2.31	73.87	6.10	92.50	0.0053
芘烯/二氢芘	8.47	103.54	1.16	79.30	6.95	91.88	0.0062
菲	9.42	99.99	7.34	88.07	0.85	95.47	0.0098
蒽	13.28	99.86	3.19	76.53	1.47	94.77	0.0036
十氟联苯(替代物)	4.06	85.61	3.54	70.17	6.26	76.26	-
荧蒽	6.45	92.10	5.08	84.97	1.53	93.85	0.0047
芘	13.30	106.80	4.78	79.14	1.81	96.65	0.0054
蒎	6.28	92.85	4.55	84.57	0.98	93.69	0.0035
苯并[a]蒽	6.88	97.83	2.83	91.95	1.10	97.04	0.0069
苯并[b]荧蒽	16.77	106.79	3.19	94.01	2.49	98.57	0.0028
苯并[k]荧蒽	7.45	99.42	2.80	94.98	1.02	94.70	0.0037
苯并[a]芘	12.50	100.90	3.54	92.58	2.02	98.89	0.0036
二苯并[a,h]蒽	6.39	102.48	3.07	89.96	1.36	96.46	0.0029
苯并[g,h,i]芘	3.86	116.16	5.30	85.75	3.15	93.43	0.0028
茚并[1,2,3-cd]芘	3.91	115.21	2.71	92.13	4.14	101.30	0.0026

方法灵敏度、准确度和精密度高,方法简单经济,环境友好,满足了铜仁地区优质矿泉水资源评价工作的要求,为下一步贵州省水资源调查项目中多环芳烃的检测提供技术支持。

[参考文献]

曹放,马军,李云木子. 2010. 荧光-紫外检测器高效液相色谱法检测地下水中 16 种多环芳烃[J]. 岩矿测试, 29(5): 539-542.

纪春苗,余群. 2017. 全自动固相萃取-高效液相色谱法测定水源水中的 16 种多环芳烃[J]. 分析仪器, 6: 70-75.

李贵洪,郭峰,饶竹等. 2017. 超高效液相色谱法同时分析地下水中的 16 种多环芳烃及 4 种衍生物[J]. 环境化学, 36(06): 1295-1303.

李二妹. 2017. 气相色谱-质谱法检测水质中多环芳烃[J]. 广州化学, 42(05): 22-26.

李莱,马继平,朱世文,等. 2010. 竹炭固相萃取-高效液相色谱法测定河水中多环芳烃[J]. 分析试验室, 29(06): 89-92.

刘保献,史鑫源,王小菊,等. 2015. 气相色谱质谱法测定水质中 16 种多环芳烃[J]. 分析试验室, 34(07): 827-831.

刘伶俐,洪波,杨霄,等. 2016. 水产品中 16 种多环芳烃的前处理方法[J]. 分析试验室, 35(04): 482-486.

梁焱,王碧云. 2011. 固相萃取-高效液相色谱法测定水中多环芳烃 PAHs[J]. 江西农业学报, 23(8): 153-155.

罗显平. 2015. 高效液相色谱法对水中 16 种多环芳烃分析的研究

[J]. 四川环境, 34(02): 46-51.

王金成,樊芸,卢宪波,等. 2018. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定自来水中氯代多环芳烃和多环芳烃[J]. 环境化学, 37(09): 1987-1993.

徐蓉楨,刘菲,荆继红,等. 2018. 典型浅层孔隙水和岩溶水中多环芳烃分布特征[J]. 岩矿测试, 37(4): 411-418.

郑海涛,刘菲,刘永刚. 2004. 固相萃取-气相色谱法测定水中多环芳烃[J]. 岩矿测试, 23(2): 148-152.

张新庆,杨佰娟,黎先春,等. 2009. 南黄海中部海水中多环芳烃的分布特征[J]. 岩矿测试, 28(4): 325-328.

中华人民共和国环境保护部. 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法[S] HJ 478-2009. 北京: 中国环境科学出版社.

中华人民共和国卫生部. 2006. 生活饮用水卫生标准[S] GB5749-2006. 北京: 中国标准出版社.

Hazim A. Walli. 2015. Determination of PAHs in Surface Water of Al-Dalmaj Marsh, Al-Diwaniya Province, Iraq[J]. Journal of Environment and Earth Science, 5(12): 67-72.

Lima A D C, Heleno F F, Robson José de Cássia Franco Afonso, et al. 2015. Determination of PAHs in Surface Waters from the Doce and Piracicaba Rivers in Brazil[J]. Journal of Water Resource and Protection, 7(5): 422-429.

Mei-I Leong, Chu-Chi Chang, Ming-Ren Fuh, et al. 2010. Low toxic dispersive liquid-liquid microextraction using halosolvents for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples[J]. Chromatography A, 1217(34): 5455-5461.

Pasquale Avino, Ivan Notarodato, Luisa Perugini, et al. 2017. New protocol based on high-volume sampling followed by DLLME-GC-IT/MS for determining PAHs at ultra-trace levels in surface water samples[J]. *Microchemical Journal*, 133:251-257.

Wang JX, Bi YH, Gerd Pfister, et al. 2009. Determination of PAH, PCB, and OCP in water from the Three Gorges Reservoir accumulated by semipermeable membrane devices (SPMD) [J]. *Chemosphere*, 75(8):1119-1127.

Determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in High Quality Mineral Water by High Performance Liquid Chromatography in Tongren Area of Guizhou

JIANG Cheng, JIA shuang-lin, LONG Ji-qun, DENG Zhao-xiang

(*Guizhou Central Laboratory of Geology and Mineral Resources, Guiyang 550018, Guizhou, China*)

[**Abstract**] High performance liquid chromatography (HPLC) instrument is used to analyze and test 16 kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), which in the high quality mineral water in Tongren area of Guizhou. The method for the determination of 16 PAHs in the high quality mineral water is studied. The method validation and actual sample test are carried out. The conditions such as instrument column oven temperature and extraction solvent type are selected and optimized to find out the optimum conditions. The established detection method has a good linear relationship, the curve correlation coefficient (R^2) was higher than 0.999 0, The detection limits were 0.002 6 ~ 0.009 8 $\mu\text{g/L}$, the recoveries of 16 (PAHs) were 73.87% ~ 116.16% and surrogate decafluorobiphenyl were 70.17% ~ 85.61%, precision (RSD) were 0.85% ~ 16.77%. Pretreatment is simple, so it is easy to analyze the actual sample quickly. This measurement method plays an important role in the investigation project of high quality mineral water resources in Tongren area of Guizhou.

[**Key Words**] High performance liquid chromatography; Polycyclic aromatic hydrocarbons; High quality mineral water; Temperature