

Leaps 在线固相萃取-高效液相色谱法测定水中 16 种多环芳烃

前言

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, 由于其具有致畸、致癌、致突变和生物难降解的特性, 被认定为影响人类健康的主要有机污染物。PAHs 广泛存在于土壤、空气、水体以及各类食品中, 大多数国家对其含量都有所规定和限制。为严格控制日常饮用水中多环芳烃的含量, 我国《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2022) 更严格规定了多环芳烃的限量标准。

目前, 多环芳烃的检测方法应用最广的主要是气相色谱法和液相色谱法。高效液相色谱法由于其选择性好, 灵敏度高的优点, 应用最为普遍, 已成为多环芳烃分析的首选方法。由于多环芳烃在水中的溶解度并不高, 为了测定水中痕量多环芳烃, GB 5750.8-2023《生活饮用水标准检验方法 第 8 部分: 有机物指标》中规定的前处理方法, 利用大体积水样进行萃取浓缩, 前处理步骤繁琐, 容易引入测量误差, 耗时较长且对样本需求量大, 难以满足快速分析的要求。

针对 GB 5750.8-2023 中多环芳烃检测的前处理难题, Chromai 推出了一种在线固相萃取系统 (online-SPE HPLC), 搭配紫外/荧光检测器, 可高效准确测定水中 16 种多环芳烃。

该方案自动化程度高, 溶剂消耗少, 灵敏度高, 稳定性好,

实验部分

1. 仪器系统

Chromai Leaps 在线固相萃取系统

双三元梯度泵 P60, 大体积自动进样器 A30 (标配 5000 μ L 定量环), 柱温箱 C10V1 (标配一个 2 位六通阀), 紫外检测器 D10, 荧光检测器 D50



2. 试剂材料

试剂：甲醇（色谱纯）、乙腈（色谱纯）、水

标准物质：16 种多环芳烃混标（萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、苝、苯并[a]蒽、屈、苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]苝、二苯并[a,h]蒽、苯并[ghi]花、茚并[1,2,3-cd]苝）（200 mg/L 于乙腈，1 mL）

3. 标准溶液配制

标准储备液（10 µg/mL）：16 种多环芳烃混标用甲醇稀释，配制成浓度为 10 µg/mL 的标准储备液。

标准工作溶液配制：用 15% 甲醇水溶液配置浓度分别为 0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、3 ng/mL、4 ng/mL、5 ng/mL 的混合标准溶液。

4. 色谱条件

色谱柱：在线固相萃取柱：C18 4.0*10 mm, 5 µm。

分析柱：PAH 专用柱 4.6*100 mm, 5 µm。

柱温：30 °C，进样量：5 mL。梯度洗脱，时间程序表 1。

检测波长：16 种多环芳烃用紫外和荧光检测器串联检测。因 16 种多环芳烃中苊烯无荧光响应，采用紫外检测器（波长 228 nm）进行测定，其他 15 种化合物采用荧光检测器检测，荧光检测器波长切换时间见表 2。

表 1 梯度洗脱时间程序

在线固相萃取-1D					分离-2D			
时间/min	流速	A%（水）	B%（甲醇）	阀位置	时间/min	流速	A%（水）	B%（乙腈）



	/mL/min					/mL/min		
0.01	1.0	90	10	1-6	0.01	1.5	50	50
5	1.0	0	100		5	1.5	50	50
8	-	-	-	1-2	28	1.5	0	100
35	1.0	0	100		32	1.5	0	100
35.1	1.0	90	10		33	1.5	50	50
40	-	-	-	1-6	35	1.5	50	50
50	1.0	90	10					

表 2 荧光检测器波长切换时间表

时间/min	激发波长/nm	发射波长/nm	化合物
0.01	280	340	蔡、萸、芬
9.9	300	400	菲、蒽
12.5	300	500	荧蒽
13.65	300	400	芘、苯并[a]蒽、屈
19.5	300	430	苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]芘
24.1	300	400	二苯并[a,h]蒽
25.3	300	430	苯并[ghi]花
26	300	500	茚苯并[1,2,3-cd]芘



5. 在线固相萃取流程

初始阀位 1-6 位, 5 mL 样品直接进样至 SPE 柱, 经过在线萃取, 富集和净化后, 阀切至 1-2 位, SPE 柱上的目标分析物被冲入分析流路, 待分析物全部进入分析流路后, 在分析柱进行分离测定。

阀再次切回至 1-6 位, SPE 柱进行净化, 为下一针样本做准备。

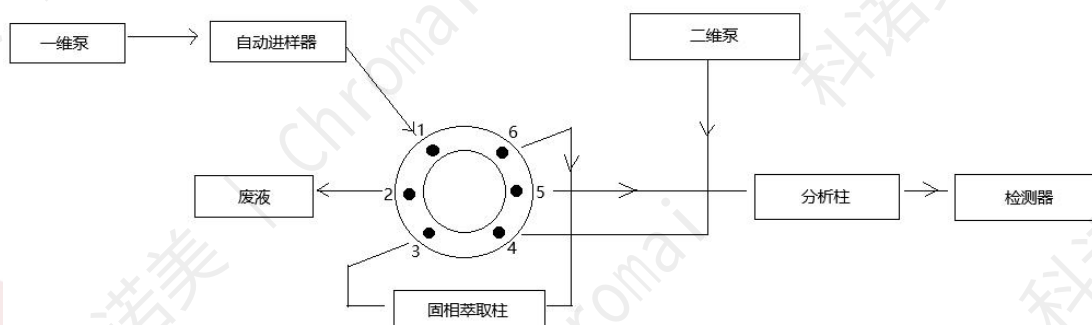


图 1 在线固相萃取流程示意图

实验结果

1. 标准品谱图

本应用中 16 种多环芳烃峰形良好, 分离度高, 保留时间稳定, 紫外及荧光检测器谱图如图 2 所示。

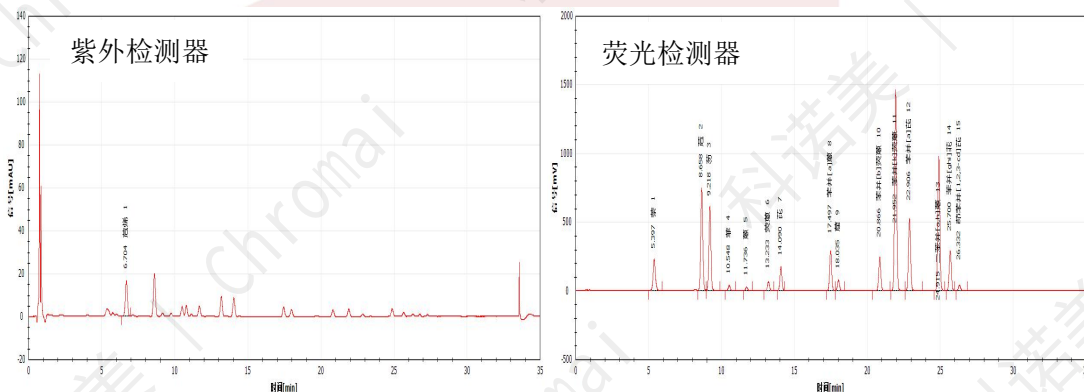


图 2 16 种多环芳烃标准溶液色谱图



2. 线性关系

将标准工作溶液按浓度由低到高依次进样，以不同浓度为横坐标，以每个浓度点下多环芳烃峰面积为纵坐标绘制标准曲线。各多环芳烃在 0.5-5.0 ng/mL 的线性范围内，线性相关性良好，线性相关系数均大于 0.997。

表 3 多环芳烃线性结果表

峰	化合物	线性范围 (ng/mL)	线性方程	相关系数
1	萘	0.5-5.0	$Y=383.95X+12.753$	0.9971
2	萘烯	0.5-5.0	$Y=37.339X+2.1973$	0.9997
3	萘	0.5-5.0	$Y=1586.0X+201.18$	0.9981
4	芴	0.5-5.0	$Y=1205.0X+81.143$	0.9987
5	菲	0.5-5.0	$Y=72.053X-0.5169$	0.9992
6	蒽	0.5-5.0	$Y=45.626X-2.1648$	0.9992
7	荧蒽	0.5-5.0	$Y=123.37X-13.198$	0.9997
8	芘	0.5-5.0	$Y=338.28X-32.967$	0.9998
9	苯并[a]蒽	0.5-5.0	$Y=576.50X-75.268$	0.9998
10	屈	0.5-5.0	$Y=153.98X-22.300$	0.9996
11	苯并[b]荧蒽	0.5-5.0	$Y=497.49X-51.601$	0.9997
12	苯并[k]荧蒽	0.5-5.0	$Y=2941.1X-363.46$	0.9991
13	苯并[a]芘	0.5-5.0	$Y=1085.3X-155.00$	0.9988
14	二苯并[a,h]蒽	0.5-2.0	$Y=456.10X-26.749$	0.9986



15	苯并[ghi]花	0.5-3.0	$Y=278.07X-22.364$	0.9976
16	茛苯并[1,2,3-cd] 花	0.5-5.0	$Y=72.499X-3.8700$	0.9990

3. 检出限、定量限、回收率

本应用 16 种多环芳烃的检测限在 0.2-7.9 ng/L,均低于 GB 5750.8-2023 中规定的方法检出限；

加标浓度 1.0 ng/mL 条件下各化合物的回收率在 90%-120%之间，精密度均小于 2.0%。

表 4 检出限、定量限、回收率结果表

	化合物	检出限 (ng/L)	定量限 (ng/L)	加标浓度 1.0 ng/mL		GB 5750.8-2023 检 出限 (ng/L)
				回收率%	RSD%	
1	萘	0.24	0.79	96.81%-117.66 %	1.97%	20.0
2	苊烯	7.9	26.7	105.91%-109.3 7%	1.33%	8.0
3	苊	0.2	0.66	111.50%-115.4 7%	1.35%	8.0
4	芴	0.3	1.0	103.51%-108.5 2%	1.82%	16.0
5	菲	4.9	16.2	105.56%-106.9 3%	0.78%	20.0



6	蒽	8.2	27.1	102.42%-103.8 2%	0.56%	12.0
7	荧蒽	3.3	10.9	97.18%-99.80%	1.07%	16.0
8	芘	1.2	4.0	98.61%-99.96%	0.57%	12.0
9	苯并[a]蒽	0.74	2.4	96.32%-97.18%	0.37%	5.0
10	蒎	2.8	9.2	97.96%-98.56%	0.28%	8.0
11	苯并[b]荧蒽	0.86	2.8	104.68%-107.3 8%	1.14%	5.0
12	苯并[k]荧蒽	0.14	0.46	97.41%-100.54 %	1.72%	4.0
13	苯并[a]芘	0.41	1.35	107.55%-110.0 1%	1.16%	2.0
14	二苯并[a,h] 蒽	0.9	2.97	107.79%-115.7 8%	1.67%	8.0
15	苯并[ghi]花	1.5	4.95	110.33%-114.0 7%	1.48%	8.0
16	茚并 [1,2,3-cd]芘	5.4	17.8	107.95%-110.8 3%	1.11%	6.0

结论



本方案采用科诺美 Leaps 在线固相萃取-高效液相色谱联用系统，搭配紫外和荧光检测器，测定水中痕量多环芳烃。传统固相萃取的前处理步骤繁琐，试剂耗材消耗量大，容易造成较大误差，本方法利用样品在线浓缩和净化，通过阀切换方式，将富集的化合物在线转移至分析流路进行定量分析。过程简便易操作，灵敏度高，稳定性良好，16 中多环芳烃的线性相关系数均大于 0.997，加标回收率均在 90%-120%之间，各化合物的检出限均低于 GB 5750.8-2023 中的规定，适用于水中痕量多环芳烃快速高效检测。

