

全自动固相萃取（AT280）-液相色谱法 （HPLC-FLD）测定自来水中痕量苯并芘的含量

郑洪国

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

关键词：固相萃取；AT280；液相色谱；C18 SPE柱；Acclaim C18；自来水；苯并芘

Key words: SPE; AT280; HPLC-FLD; C18 SPE column; Acclaim C18; Tap water; benzo[a]pyrene

引言

苯并芘是苯与芘稠合而成的一类多环芳烃，多源自燃料燃烧排放，食品熏烤、油炸，汽车尾气等途径，是一种高活性间接致癌物，极易诱发肺癌和心脑血管疾病。为此，世界各环境保护机构、组织均对水质中苯并芘的含量进行了严格限定，其中英国HPA限值为0.01 µg/L，美国EPA限值为0.2 µg/L，W.H.O限值为0.7 µg/L。同样地，我国环保部门通过GB3838-2002^[1]地表水环境质量标准强制环境水样中苯并芘的限值为 2.8×10^{-6} mg/L，并推荐以正己烷进行液液萃取富集水样中的苯并芘，再将萃取液经弗罗里硅土和无水硫酸钠脱水干燥、净化，浓缩定容后，以HPLC-FLD测定其含量^[2]；通过GB 5749-2006^[3]生活饮用水卫生标准强制饮用水中苯并芘不得高于 1.0×10^{-5} mg/L，仍推荐以环己烷进行液液萃取富集水样中的苯并芘，再将萃取液经氧化铝铝和无水硫酸钠净化、脱水干燥，浓缩定容后，以HPLC-FLD测定其含量^[4]。方法均以液液萃取的方式实现苯并芘与水基质的分离，不具备选择性，且操作繁琐。

固相萃取技术以特殊选择性的固定相实现了目标分析物的选择性吸附和洗脱。相较于液液萃取技术，其操作简便，选择性好，节省有机溶剂，环境污染小，对实验操作人员的身体危害小，正逐步成为水质分析检测的主要前处理手段。CJ/T 147-2001^[5]较早地从标准方法角度提出了水质中多环芳烃的固相萃取富集技术。环保部新标准HJ 478-2009取代GB13198-91，增加了固相萃取富集苯并芘的方法，进一步证实了固相萃取的优势。本文选用AT280全自动固相萃取仪，免人工干预，自动完成SPE柱活化、样品上样、目标物洗脱和收集等步骤，释放了大量实验室劳力。收集液再经溶剂转换、浓缩定容后，以液相色谱仪（HPLC-FLD）完成了自来水水质中痕量苯并芘的含量测定。

测试条件

仪器：UltiMate 3000液相色谱仪，AT280全自动固相萃取仪；

色谱柱：Acclaim C18, 5 µm, 150 × 4.6 mm
(P/N: 059148)；

柱温：30 °C；

流动相：甲醇：水=90：10；

流速：2.00 mL/min；

进样量：20 µL；

检测方式：荧光检测器FLD， $\lambda_{Ex}=290$ nm， $\lambda_{Em}=410$ nm；

固相萃取柱：Cleanert C18, 200 mg/6 mL；

固相萃取步骤

样品准备

准确量取500 mL自来水样置于1 L样品瓶中，加入100 mL异丙醇，摇匀，待测。

固相萃取程序：

Process 6 samples using the following method steps:

1. Condition cartridge with 5.0 mL methanol(MeOH) into solvent waste;
2. Condition cartridge with 5.0 mL ethyl acetate(EtOAc) into solvent waste;
3. Condition cartridge with 5.0 mL dichloromethane(DCM) into solvent waste;
4. Condition cartridge with 5.0 mL ethyl acetate(EtOAc) into solvent waste;
5. Condition cartridge with 5.0 mL MeOH into solvent waste;
6. Condition cartridge with 5.0 mL 20% Isopropanol(IPA) into solvent waste;
7. Load 650.0 mL of sample onto cartridge;
8. Rinse cartridge with 5.0 mL of 20% IPA into aqueous waste;
9. Dry cartridge with gas for 10.0 minutes;
10. Collect 2.0 mL Fraction into sample tube using EtOAc;
11. Collect 4.0 mL Fraction into sample tube using DCM;

- 12. Collect 4.0mL Fraction into sample tube using DCM;
- 13. Collect 4.0mL Fraction into sample tube using DCM;
- 14. Collect 4.0mL Fraction into sample tube using DCM;
- 15. End

固相萃取程序速度：

Cond flow: 15.0mL/min
Load flow: 10.0mL/min
Rinse flow: 10.0mL/min
Elute flow: 3.0mL/min
Cond air flow: 15.0mL/min
Rinse air flow: 10.0mL/min
Elute air flow: 3.0mL/min

脱水干燥、溶剂转换、浓缩定容：

将收集液置于氮吹仪中，于50℃恒温条件下进行氮气吹干浓缩，以乙酸乙酯进行溶剂转换并定容至1 mL，精确量取20μL注入液相色谱仪进行分离测定。

结果和讨论

固相萃取条件的选择

苯并芘是稠环芳烃类化合物的典型代表，具有较强的脂溶性和可吸附性，在固相萃取填料上具有较强的保留效果，因而不宜选用聚合物基质为填料的SPE柱。本文对比研究了不同规格的C18型固相萃取柱的萃取效果，实验证明200mg/6mL规格的C18 SPE柱所需洗脱剂体积最少，回收结果最好。

苯并芘较强的可吸附性，使其在样品瓶及仪器上样管路中存在一定程度的残留，从而降低了样品的回收率。因此，待样品完全转移至SPE柱后，均需要以有机溶剂对样品瓶进行充分润洗，操作较为繁琐。本文参照CJ/T 147-2001城市供水多环芳烃的测定标准方法，在每500mL样品中加入100mL异丙醇，增加了样品溶液中苯并芘的溶解度，减少了苯并芘在样品瓶和仪器上样管路中的吸附，免去了复杂的润洗程序，操作简单。

综上所述，最终选定实验方案为：以全自动固相萃取仪AT280结合液相色谱仪HPLC-FLD完成大体积水样中痕量苯并芘的富集检测工作。实验选用Cleanert C18（200mg/6mL）为固相萃取柱，在10mL/min速度下完成上样工作，再以乙酸乙酯、二氯甲烷依次对目标物进行洗脱，收集液经氮吹、溶剂转换、浓缩、定容等步骤后，直接注入液相色谱仪进行分离测定，实际样品分离谱图见图1，样品加标分离谱图见图2。

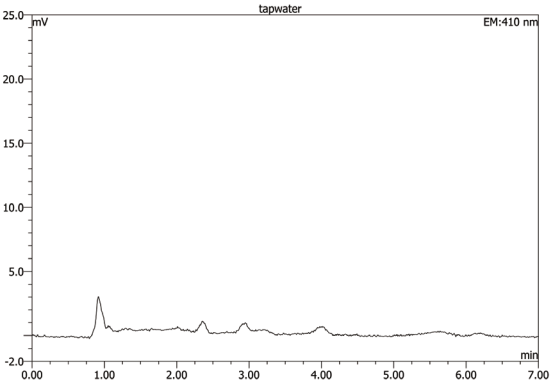


图1 某自来水样品分离检测谱图（未检出苯并芘）

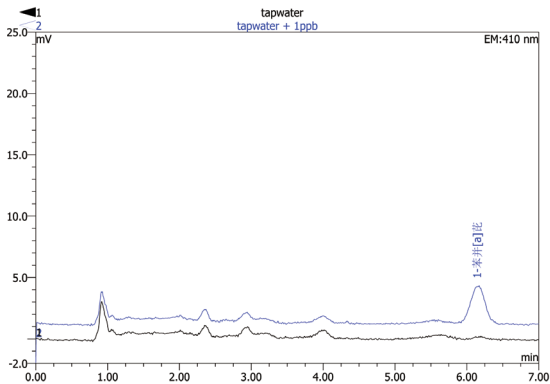


图2 自来水样品及加标分离检测谱图
(1.自来水样品；2.加标样品，苯并芘加入量为0.002μg/L)

实际样品检测结果及加标回收率

在选定方法条件下，完成了数批水样中痕量苯并芘的富集、测定工作，水样中均未检出苯并芘。对水样进行标准加入实验，回收率均良好，说明方法准确可靠。部分结果见表1。

表1 实际样品及加标回收*

检测/ μg/L		加入/ μg/L	回收/ %
BaP	---	1.0	98
		2.0	88
		5.0	83
		10.0	90

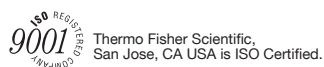
* 为方便计算，所有检测结果以最终定容体积，1 mL，进行换算。

结论

在本方法所选定条件下，可实现自来水中低至0.002 µg/L苯并芘的准确定量，完全满足GB 5749-2006和GB 3838-2002的限定要求。全自动化的固相萃取操作，减少了有机溶剂的使用，减轻了环境污染压力，同时缩减了大量人工干预步骤，提高了实验效率。

参考文献

- [1]. GB 3838-2002. 地表水环境质量标准[S]。
- [2]. GB 13198-91. 水质六种特定多环芳烃的测定高效液相色谱法[S]。
- [3]. GB 5749-2006. 生活饮用水卫生标准[S]。
- [4]. GB/T 5750.8-2006生活饮用水标准检验方法有机物指标[S]。
- [5]. CJ/T 147-2001城市供水多环芳烃的测定液相色谱法[S]。



thermoscientific.com

© 2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.

上海
上海浦东新金桥路27号6号楼
邮编：201206
电话：021-68654588
传真：021-64457830

北京
北京东城区安定门东大街28号
雍和大厦西楼F座7层702-715室
邮编：100007
电话：010-84193588
传真：010-88370548

免费服务热线：
800 810 5118
400 650 5118

ThermoFisher
S C I E N T I F I C