



近海海洋生物体中多环芳烃的 GC-MS 分析

降升平¹, 马若欣², 刘文岭³, 王学魁³

(1. 天津科技大学现代分析技术研究中心, 天津 300457; 2. 天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津 300457;
3. 天津科技大学海洋科学与工程学院, 天津 300457)

摘要: 建立了气相色谱-质谱-定性离子扫描法测定近海海洋生物体中 10 种多环芳烃的方法. 探讨了扫描方式对方法检出限的影响, 以及定性离子强度比的匹配度对定性结果的影响. 10 种多环芳烃测定方法的检出限为 0.10~0.61 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 方法线性关系良好, 加标回收率为 63.1%~98.1%, 相对标准偏差为 3.9%~15.2%. 此方法适用于海洋生物体中多环芳烃的分析.

关键词: 海洋生物; 多环芳烃; GC-MS

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2010)04-0025-04

Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Marine Organisms from Coastal Waters by Chromatography-Mass Spectrometry

JIANG Sheng-ping¹, MA Ruo-xin², LIU Wen-ling³, WANG Xue-kui³

(1. Research Center of Modern Analysis Technology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;
2. Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, Tianjin 300457, China;
3. College of Marine Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: An analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from coastal waters by chromatography-mass spectrometry was developed. The effects of scan type on method detection limit were studied. Meanwhile, the correlation between the scale of intensity of qualitative ions and the qualitative result was evaluated. The detection limits for ten PAHs were 0.10~0.61 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the linear relations was good, the most of recoveries for PAHs ranged from 63.1% to 98.1%, the relative standard deviations (RSDs) ranged from 3.9% to 15.2%. Finally, the developed analytical method has been successfully applied to the determination of PAHs in organism samples.

Keywords: marine organisms; polycyclic aromatic hydrocarbons; GC-MS

多环芳烃 (PAHs) 是指含有两个或两个以上苯环, 以线状、角状或簇状排列的稠环型化合物, 是世界公认的持久性难降解半挥发性有机化合物, 有致癌、致畸、致突变等危害^[1]. 这些污染物容易被水体中的悬浮颗粒物吸附, 并且进入沉积物中, 进而通过生物体的积累^[2], 对近岸海域生态系统及人群造成极大危害. 目前沉积物或土壤中多环芳烃的提取及检测方法主要有超声波-层析柱净化-气相色谱质谱法^[3]、索式提取-层析柱净化-高效液相色谱-荧光-紫外串联法^[4], 而生物体中多环芳烃的检测报道较少. 本文样

品前处理方法采用索式提取-硅胶氧化铝柱净化法, 然后分别用气相色谱-氢火焰离子化法 (GC-FID) 和气相色谱-选择离子质谱法 (GC-MS-SIS) 检测, 结果显示 GC-FID 法中检测的是样品中全部有机物在氢火焰中燃烧产生的微电流, 所以在样品基质较为复杂的情况下抗干扰能力弱, 特别是硫化物严重干扰基线, 增大噪音, 在目标物保留时间左右干扰峰较多, 很难实现目标物和干扰组分的完全分离, 造成测定结果偏高, 出现假阳性结果. 而质谱能够实现特征离子的选择性扫描, 具有极高的选择性, 通过对目标物特征

收稿日期: 2010-03-05; 修回日期: 2010-04-29

基金项目: 天津市908专项近岸海域海洋化学调查资助项目 (908-TJ-09)

作者简介: 降升平 (1977—), 男, 山西灵石人, 工程师, jiangshengping@tust.edu.cn.

离子的选择扫描可以去除大量干扰信号,同时根据特征离子的强度比值和峰面积,对目标物实施可靠的定性、定量分析.因此,本文采用 GC-MS-SIS 法测定生物体中多环芳烃的含量,抗干扰能力强、定性定量结果可靠.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

GC-2010 型气相色谱仪,日本岛津,FID 检测器;Varian 4000MS 型气相色谱-质谱联用仪,美国瓦里安公司;旋转蒸发仪,上海雅荣生化设备仪器有限公司;索氏提取器;具塞玻璃层析柱.

正己烷、丙酮、二氯甲烷,色谱纯;无水 Na_2SO_4 ,分析纯,400 °C 下烘干 4 h;中性氧化铝,层析纯,100 ~ 200 目,400 °C 下烘干 4 h,加 4% 的水去活化;硅胶,层析纯,60 ~ 100 目,140 °C 下烘干 4 h;高纯铜粉,99.8%.

多环芳烃标准物质:萘、菲、蒽、荧蒽、屈、苯并(a)芘,国家标准物质中心;芴、芘、苯并(a)蒽、苯并(e)芘,美国 AccuStandard 公司.上述标准物质均用正己烷稀释成 0.1、0.5、1.0、2.0、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液.氘代多环芳烃:二氢萘- d_{10} 、菲- d_{10} 、屈- d_{12} 、芘- d_{12} ,美国 AccuStandard 公司,作为回收率指示物.

1.2 试样的制备、提取和净化

将海洋生物体样品(红狼虾虎鱼、口虾蛄、鲈鱼、日本鲟、长蛸、广大扁玉螺、红螺、毛蚶、矛尾复虾虎鱼、牡蛎、四角蛤蜊)用海水洗涤,除去杂物和壳,取其组织,匀浆处理,风干后收集备用;然后称取 20 g 与 20 g 无水 Na_2SO_4 混匀,用正己烷处理过的滤纸筒包好放入索氏提取器中加 100 mL 正己烷-丙酮(体积比 1:1)浸泡 12 h,在 75 ~ 80 °C 水浴中回流提取 16 h,冷却至室温,用 250 mL 质量分数 2% 的 Na_2SO_4 溶液洗涤,收集有机相到旋转蒸发器浓缩瓶中,浓缩至 5 mL,浓缩液通过活化的氧化铝/硅胶/无水硫酸钠(5 g 氧化铝、5 g 硅胶、1 g 无水硫酸钠)层析柱后,加入 5 mL 正己烷淋洗,再加入 80 mL 体积比 1:4 的二氯甲烷-正己烷溶液,收集淋洗液,浓缩定容至 1 mL,加 1 g 高纯铜粉,超声振荡 5 min,作为样品净化液进行 GC-MS 分析.

1.3 色谱条件

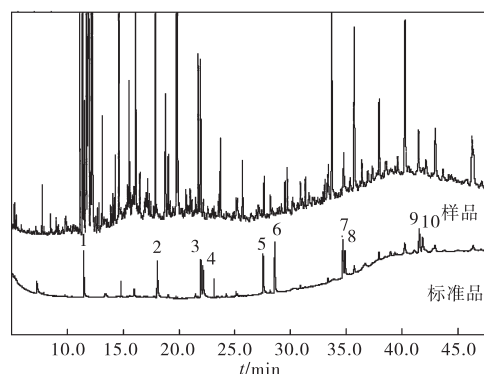
VF-5 ht 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.10 μm);进样口温度 290 °C;初始柱温 150 °C,以 4 °C/min 升到 270 °C,然后保持 16 min;分流比 5:1;以高纯氦气为

载气,流量 1 mL/min;进样量 1 μL ;离子源为 EI 源,离子阱温度 220 °C,传输线温度 280 °C;溶剂延迟时间 3 min.

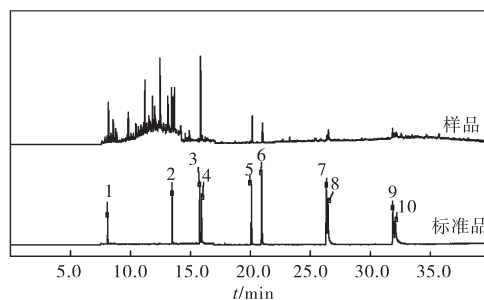
2 结果与讨论

2.1 目标物的分离检测

将 10 种多环芳烃及其异构体配制成各组分质量浓度为 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 的多环芳烃混合标准溶液,将混合标准溶液与处理好的样品溶液分别进行色谱分离和质谱检测,检测结果如图 1 所示.



(a) GC-FID 法的色谱图



(b) GC-MS-SIS 法的总离子流图

1. 萘; 2. 芴; 3. 菲; 4. 蒽; 5. 荧蒽; 6. 芘; 7. 屈; 8. 苯并(a)蒽; 9. 苯并(e)芘; 10. 苯并(a)芘

图 1 PAHs 与样品的色谱图和总离子流图

Fig.1 Chromatogram and total ion chromatogram of PAHs and sample

从图 1 可以看出,样品的色谱图背景值高,杂峰多,在目标物保留时间附近有许多干扰峰出现,甚至掩盖了目标物的信号,原因是 FID 检测器为通用型检测器,样品中背景基质与目标物不能完全分离,且产生的信号强于目标物,严重影响分析结果;而 GC-MS-SIS 法可以通过选择离子扫描的方式去掉背景基质产生的影响,得到的谱图分离度高,峰形规整,干扰峰较少,能得到准确、可靠的分析结果.

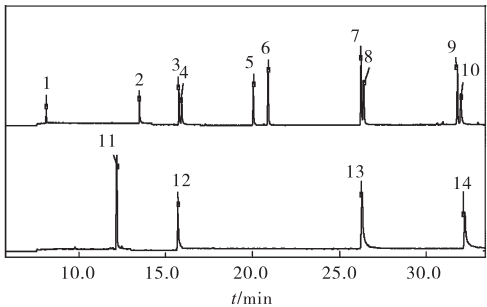
2.2 目标物定性离子的选择及质谱的识别

利用单一标准物质对 10 种目标物及其异构体进

行 GC-MS-SIS 分析,得到总离子流图(见图 2),每种目标物中离子相对强度比值和特征定性离子的质荷比数值见表 1. 特征定性离子的选择原则是:(1)在基质干扰较小的情况下首选基峰离子和强度较大的离子;(2)在考虑低质量区的情况下尽量选取质荷比较大的离子;(3)选取分子离子峰. 从表 1 可以看出,多苯环化合物的分子结构稳定. 离子源发射的电子不易破坏其分子的骨架,只能使分子失去一个电子形成分子离子. 所以该类化合物的基峰离子均为分子离子.

在定性离子数较少的情况下,被测物定性离子与该标准物定性离子间丰度比的匹配度显得尤其重要. 欧盟规定了在应用 EI-GC-MS 法对试样中痕量残留物定性时相对离子强度的最大公允参考范围^[5],见表 2. 表 1 中的离子强度比是和基峰离子相比得到的,基峰离子的强度为 100%. 在分析样品时,不仅要

在标准物的保留时间出峰,而且质谱图中的每个定性离子之间的强度比也要符合表 2 给出的公允范围才能确认是该目标物.



1.奈; 2.芴; 3.菲; 4.蒽; 5.荧蒽; 6.芘; 7.屈; 8.苯并(a)蒽;
9.苯并(e)芘; 10.苯并(a)芘; 11.二氢苊-d₁₀; 12.菲-d₁₀;
13.屈-d₁₀; 14.芘-d₁₀

图 2 14 种多环芳烃组分的 GC-MS-SIS 总离子流图
Fig.2 Total ion chromatogram of 14 PAHs

表 1 14 种多环芳烃的保留时间、定性离子及相对离子强度比

Tab.1 Retention time, qualitative ions and relative ion intensities of 14 PAHs

PAHs	保留时间/min	定性离子质荷比	扫描时间/min	相对离子强度比
萘	8.116	51、63、75、102、128*	7.5~9.0	2 : 7 : 6 : 13 : 100
芴	13.496	63、83、115、139、166*	9.0~14.2	4 : 6 : 5 : 7 : 100
菲	15.784	63、76、89、152、178*	14.2~17.0	4 : 9 : 6 : 17 : 100
蒽	15.932	63、76、89、152、178*	14.2~17.0	4 : 8 : 6 : 13 : 100
荧蒽	20.086	88、101、174、202*	17.0~22.0	5 : 9 : 2 : 100
芘	20.929	88、101、174、202*	17.0~22.0	4 : 10 : 2 : 100
屈	26.302	101、114、200、228*	22.0~28.0	5 : 8 : 2 : 100
苯并(a)蒽	26.447	101、114、200、228*	22.0~28.0	6 : 7 : 3 : 100
苯并(e)芘	31.858	113、126、226、252*	28.0~35.0	7 : 9 : 3 : 100
苯并(a)芘	32.045	113、126、226、252*	28.0~35.0	9 : 11 : 3 : 100
二氢苊-d ₁₀	12.155	66、80、162*	9.0~14.2	9 : 17 : 100
菲-d ₁₀	15.678	80、94、158、188*	14.2~17.0	10 : 7 : 7 : 100
屈-d ₁₀	26.313	106、120、240*	22.0~28.0	6 : 7 : 100
芘-d ₁₀	32.265	118、132、264*	28.0~35.0	10 : 16 : 100

注:带*号的离子是基峰离子;相对离子强度比是和基峰相比得到的,按质荷比大小顺序排列.

表 2 应用质谱技术相对离子强度最大公允范围

Tab.2 Maximum permitted tolerances for relative ion intensities using a range of mass spectrometric techniques

相对离子强度 $I_r/\%$	公允 $\%$
>50~100	±10
>20~50	±15
>10~20	±20
0~10	±50

2.3 检出限、相关系数、回收率及精密度

分别取 1.00 μL 的 0.01、0.02、0.05、0.08 μg/mL 的混合标准溶液进行 GC-MS-SIS 分析,得到线性方程、相关系数. 0.01 μg/mL 的标样连续测定 3 次,进

样量 1 μL,取其标准偏差 s ,仪器检出限为 $3sm/A^{[6]}$, m 为每种 PAHs 实际进入仪器的质量, A 为每种 PAHs 的平均峰面积. 平行分析 3 个基质加标样品,即在样品前处理时不加生物体样品,在 20 g 无水 Na_2SO_4 中混入 1 mL 0.05 μg/mL 的 10 种 PAHs 标样和相同浓度的 4 种回收率指示物,得到回收率、相对标准偏差(RSD),方法检出限为 $3sc/A$, c 为已知加标浓度, A 为每种 PAHs 的平均峰面积. 结果见表 3. 为了保证测定结果的可靠性,在每个样品的处理过程中都加入二氢苊-d₁₀、菲-d₁₀、屈-d₁₀、芘-d₁₀ 4 种标准物质作为指示物,结果表明:4 种指示物二氢苊-d₁₀、菲-d₁₀、屈-d₁₀、芘-d₁₀ 的回收率分别为 108%、82.6%、63.9%、77.2%,RSD 分别为 9.3%、6.5%、11.8%、11.4%.

2.4 海洋生物样品分析

用上文所建立的方法对 11 种海洋生物样品中多环芳烃的含量进行检测,结果见表 4. 4 种指示物的

回收率在 59% ~ 112%之间,表明样品中的多环芳烃目标物在整个实验过程中回收良好,适用于实际样品的检测.

表 3 方法的相关系数、检出限、回收率及精密度

Tab.3 Correlation coefficient, detection limits, recoveries and precision of the method

目标物	仪器检出限/pg	方法检出限/(ng·g ⁻¹)	相关系数 <i>r</i>	0.01μg·mL ⁻¹ (<i>n</i> = 3)	
				回收率/%	RSD/%
萘	8.21	0.61	0.999 4	88.4	6.8
芴	7.22	0.51	0.999 9	63.1	5.6
菲	5.88	0.41	0.997 6	82.4	7.8
蒽	8.43	0.60	0.998 2	73.3	11.7
荧蒽	2.34	0.17	0.999 3	84.4	3.9
芘	2.61	0.19	0.997 9	76.7	8.7
屈	1.48	0.10	0.997 9	98.0	15.2
苯并(a)蒽	3.03	0.21	0.997 7	98.1	6.2
苯并(e)芘	2.84	0.20	0.998 5	65.3	8.8
苯并(a)芘	6.44	0.46	0.996 9	76.9	14.2

表 4 样品分析结果

Tab.4 Results from analysis of samples

(ng·g⁻¹)

目标物	红狼虾虎鱼	口虾蛄	鲈鱼	日本鲷	长蛸	广大扁玉螺	红螺	毛蚶	矛尾复虾虎鱼	牡蛎	四角蛤蜊
萘	40.03	22.94	69.23	12.06	31.49	32.09	65.80	49.09	74.68	50.86	42.33
芴	42.29	27.23	28.85	28.83	14.41	24.90	30.48	31.98	49.75	39.62	48.04
菲	37.09	3.98	9.65	26.44	14.85	12.93	30.69	—	65.36	1.39	42.15
蒽	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
荧蒽	19.39	17.86	20.23	16.89	25.68	—	43.73	—	5.91	205.95	27.22
芘	6.54	6.34	6.81	4.97	11.53	—	20.80	—	—	86.62	14.17
屈	—	1.93	0.61	0.41	—	—	2.18	—	0.29	5.75	—
苯并(a)蒽	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
苯并(e)芘	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
苯并(a)芘	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ΣPAHs	145.33	80.28	135.38	89.60	97.96	69.92	193.68	81.06	195.99	390.18	173.90

注: —代表未检出.

3 结 论

本研究采用索式提取-硅胶氧化铝柱净化,GC-MS-SIS 检测的方法定量分析了近海海洋生物体内 10 种 PAHs,回收率在 63.1% ~ 98.1%之间,RSD 为 3.9% ~ 15.2%,方法检出限小于 0.61 ng/g,该方法适用于海洋生物体中 PAHs 的分析.

参考文献:

[1] 陈皓,刘颖,刘海玲,等. 超高效液相色谱法检测土壤中的多环芳烃[J]. 色谱,2008,26(6):769-771.
[2] 薛荔栋,郎印海,刘爱霞,等. 黄海近岸日照段表层沉积

物中多环芳烃的来源解析研究[J]. 海洋学报,2008,30(6):164-170.
[3] 黎晓霞,蔡河山,张珞平. 厦门西海域表层沉积物中多环芳烃含量分布及生态风险评价[J]. 热带海洋学报,2008,27(5):43-46.
[4] 饶竹,李松,何森,等. 高效液相色谱-荧光-紫外串联测定土壤中 16 种多环芳烃[J]. 分析化学,2007,35(7):954-958.
[5] The European Communities. 2002/657/EC [S]. Europe: Official Journal of the European Communities,2002.
[6] 田强兵. 分析化学中检出限和测定下限的探讨[J]. 化学分析计量,2007,16(3):72-73.