

空气质量 苯并[a]芘测定 高效液相色谱法
编制说明
(征求意见稿)

中国船舶重工集团公司第七一八研究所

2008 年3 月

目 录

一、任务来源.....	3
二、编制目的和意义.....	3
三、编制原则和依据.....	4
四、国内外有关标准现状.....	5
五、相关问题说明.....	5
六、与国外标准的对比.....	11

空气质量 苯并[a]芘测定 高效液相色谱法

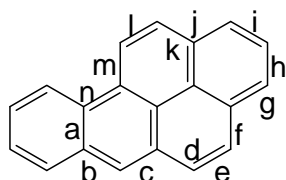
编制说明

一、任务来源

2006年6月国家质检总局(国质检财函[2006]909号)和2007年国家质检总局(国质检财函[2007]971号)下达了《环境空气 苯并[a]芘测定 高效液相色谱法》国家环保标准修订计划,修订《环境空气 苯并[a]芘测定 高效液相色谱法》(GB/T 15439-1995),项目统一编号为1205,任务承担单位为中国船舶重工集团公司第七一八研究所。

二、编制目的和意义

苯并[a]芘是带有5个环的多环芳烃(以下简称PAHs)化合物,分子式为 $C_{20}H_{12}$,分子量为252,结构式为:



苯并[a]芘(以下简称B[a]P)是第一个被发现的环境化学致癌物,而且致癌性很强,由于它对人体的严重危害,引起了世界各国卫生及环境组织的高度重视,所以它被列为环境污染致癌物检测工作中常规检测项目之一。B[a]P作为PAHs的代表,它占致癌性PAHs 1%-20%。B[a]P广泛分布于环境中,可以在我们生活的每一个角落发现,任何有机物加工,废弃,燃烧或使用的地方都有可能产生B[a]P, B[a]P污染物已成为环境污染中极其重要的物质。由于环境标准及对检测方法的要求,我们对环境空气中

B[a]P 的检测尤其重要。

因为B[a]P的测定结果的准确性受到样品采集和样品的处理过程诸多因素的影响，而目前我国现行的标准《环境空气 苯并[a]芘测定 高效液相色谱法》（GB/T 15439-1995）因为样品处理方法有一定的局限性，一些条款表述不清等因素，开展《环境空气 苯并[a]芘测定 高效液相色谱法》（GB/T 15439-1995）的修订工作，将对环境空气污染调查和控制研究提供基础数据，对保护环境、保障人民健康都具有重大意义。

三、编制原则和依据

3.1 基本原则

本标准的修订原则是既参考国际上最新的标准、方法和技术，又考虑国内现有监测机构的监测能力和实际情况，在我国现行标准开展《环境空气 苯并[a]芘测定 高效液相色谱法》（GB/T 15439-1995）标准的基础上进行改进和完善，确保修订后的标准方法更具有科学性、先进性、可行性和可操作性。

3.2 编制依据

经过文献检索和调研工作发现，目前国际标准化组织使用了环境空气中ISO 16362-2005测定粒相多环芳香烃的标准分析方法。本实验室在日常B[a]P的测定工作中，对于标准中的一些条款、样品处理过程以及结果计算等方面也总结了一些实际的操作经验和试验数据。通过调查大量的国际国内现有文献和国际标准化组织已于2005年修订的《环境空气 苯并[a]芘测定 高效液相色谱法》标准分析方法资料的基础上，结合本实验室实践经验，特修订本标准。

3.3 技术路线

本标准样品处理采用了索氏提取的方法。被测样品通过有机溶剂在恒温的条件下反复浓缩提取，被测样品被充分的抽提浓缩出来，提高了分析的灵敏度和精密度。

四、国内外相关标准现状

目前国内外研究测定B[a]P含量的方法很多，我国大气中B[a]P的方法有荧光分光光度法、气相色谱法、液相色谱法。荧光法灵敏度高，但是需要纸层析，分离能力差。气相色谱法使用毛细管进行分离，具有很高的分离度，尤其是使用色谱联用仪可以同时进行定性和定量分析，适合测定复杂样品中PAHs的分析，HPLC法由于使用紫外检测器，具有高的灵敏度和检测限，已成为B[a]P的首选方法。

ISO 16362-2005《环境空气. 高效液相色谱分析法测定粒相多环芳烃》除了采用 HPLC 法，在样品处理方法上还采用了回流、浓缩萃取的方法。这也就为本次国家标准的修改提供了很好的参考。

五、相关问题说明

5.1 概述

本标准采用HPLC法，对环境空气中B[a]P进行检测分析。标准详细介绍了实验装置、试验用试剂和溶液、试验用各种器具、仪器的操作条件等情况，介绍了具体的样品保存、样品的处理步骤、分析测定程序以及结果计算公式，对分析过程中每个可能对测定结果产生影响的因素规定了严格操作步骤，确保环境空气中B[a]P的测定结果的准确可靠。

5.2 关于标准内容的说明

5.2.1 关于样品的采集与保存

现行标准规定采样使用的大流量采样器（流量为 $1.13\text{m}^3/\text{min}$ ）进行采

样，大流量采样泵体积大，比较笨重，使用非常不方便。采样使用大孔径的超细纤维微孔滤膜，分析起来既浪费试剂又造成人力物力的浪费。《环境保护标准汇编》中环境空气按日平均值计算，B[a]P 需要采集 18h。

本标准改为使用 0.45 μm 超细玻璃纤维微孔滤膜，采样流量为 0.1 m^3/min 的采样泵，连续采样 18h。

现行标准要求采样前超细玻璃纤维滤膜需要在 500 $^{\circ}\text{C}$ 马福炉中灼烧半小时。500 $^{\circ}\text{C}$ 温度过高，容易使滤膜脆化、变形，不能准确采样。现改将超细玻璃纤维滤膜不重叠平放在马福炉内，在 350 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧 2 小时，置于干燥器中保存。采样后仍按现行标准的贮存方法进行。

5.2.2 关于检测范围及检出限

现行标准中，使用乙腈/水做流动相，B[a]P 最低检出浓度为 $6.0 \times 10^{-5} \mu\text{g}/\text{m}^3$ ；甲醇/水做流动相，B[a]P 最低检出浓度为 $1.8 \times 10^{-4} \mu\text{g}/\text{m}^3$ 。使用索氏提取浓缩样品的方法，提高了检测限。现改为 B[a]P 最低检出浓度为 $3.0 \times 10^{-5} \mu\text{g}/\text{m}^3$ ；甲醇/水做流动相，B[a]P 最低检出浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \mu\text{g}/\text{m}^3$

5.2.3 关于标准溶液的说明

由于B[a]P的强毒性，本标准要求测定时最好直接购买有证标准溶液。以保证B[a]P标准溶液的准确度和误差范围。对于实验室使用固体苯B[a]P配制的标准溶液，由于溶剂挥发、溶解不完全或操作误差等因素容易增加定值误差。而且危险性大，在没有合适的安全设备及尚未准确掌握实用技术之前，不能进行。

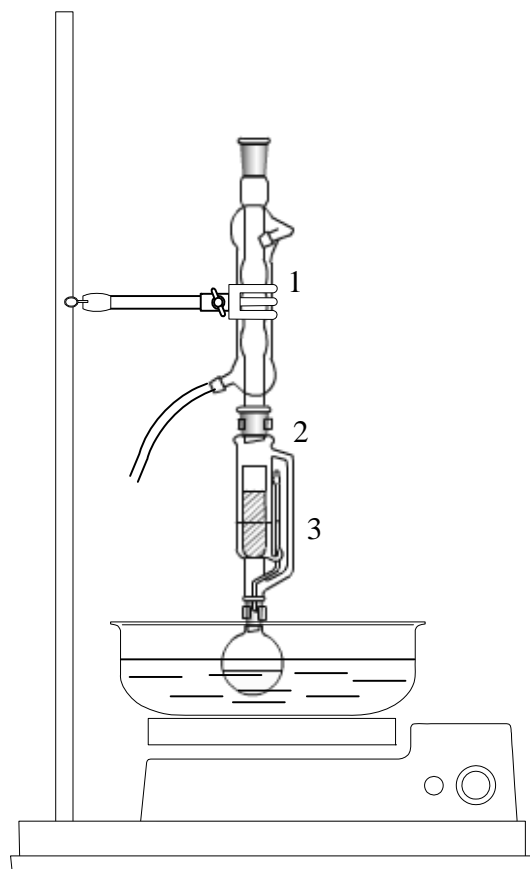
5.2.4 样品处理方法

5.2.4.1 样品处理工艺及步骤

现行标准样品的处理方法是先将滤膜边缘无尘部分剪去，然后将滤膜

等分成 n 份，取 $1/n$ 份滤膜剪碎入 5ml 具塞玻璃离心管中，准确加入 5ml 乙腈，超声提取 10min，离心 10min。

由于采用上述方法提取样品的效率低，影响样品数据的准确度和可靠性。经实验室多次实验，拟采用索氏提取器提取精馏的方法处理样品。



(如图所示)

将采集到固体颗粒物用滤纸包住，置于提取器 3 中，提取器的下端与盛有溶剂的圆底烧瓶相连，上面接回流冷凝管 1。圆底烧瓶置于恒温水浴中，使溶剂沸腾，蒸气通过提取器的支管上升，被冷凝后滴入提取器 3 中，溶剂和固体接触进行萃取，当溶剂面超过虹吸管 2 的最高处时，含有萃取物的溶剂虹吸回烧瓶，因而萃取出了一部分物质。

实验时能够观察到，随着回流的进行，当提取筒中回流下的溶剂的液面稍高于索氏提取器的虹吸管顶端时，提取筒中的溶剂发生虹吸并全部流

回到烧瓶内，然后再次回流，如此重复，使固体物质不断为纯的溶剂所萃取、将萃取出的物质富集在烧瓶中。第一次满流计时，抽提 6~8 小时。再把提取到的样品浓缩至 1ml, 进入 HPLC 中。

5.2.4.2 恒温条件的选择

由于 B[a]P 易溶于环己烷、苯等有机溶剂中，将采集在玻璃纤维滤膜上的飘尘颗粒，用苯在水浴上连续加热提取、浓缩。苯的沸点是 90℃，当达到溶剂的沸点时，溶液就会沸腾。被测样就会不断被洗脱下来。温度太低，溶剂在索氏提取器的提取筒中下不来，起不到回流的作用，提取效率太低。90℃以上都能达到理想的效果，考虑到有机溶剂挥发的太快，所以恒温条件选择 90℃有利于操作。

5.2.4.3 加热时间的选择

索氏提取法一般提取时间较长，约 6~8h，但该方法回收率较高，是 ISO 标准测定方法之一，现在仍然广泛的应用。我国《空气和废气监测分析方法（第四版）》B[a]P 样品的萃取连续回流时间是 8 小时，经试验样品 8 小时提取效率能达到 90% 以上。

5.2.5 关于标准曲线的绘制及分析结果的计算公式

现行标准是使用固体 B[a]P 用乙腈溶解，配制成 B[a]P 标准贮备液，再逐级稀释的方法，配制标准溶液。现改为直接购买标准溶液，将 B[a]P 标准溶液分别以一定的体积，分别进入 HPLC 中，记录每一浓度对应的峰面积，以峰面积与浓度绘制校准曲线，计算回归方程。

现行标准中注入色谱仪样品中 B[a]P 量 (w) 修改为标样进样体积 ($V_{\text{标}}$)、标样中 B[a]P 浓度 ($C_{\text{标}}$) 和样品中 B[a]P 的峰面积 (A_i) 三者的乘积。原公式分母增加标样中 B[a]P 的峰面积 ($A_{\text{标}}$)

本标准使用索氏提取器，采用全滤膜采样，原公式中的 $\frac{1}{n}$ 就可以省略。

本标准现使用的计算公式为：注入定量的待测样品 V_i ，测定其保留时间和峰面积 A_i ，根据提取液的总体积 V_t ，标样的进样量 $V_{\text{标}}$ ，与 B[a]P 标准溶液的保留时间相对应的峰面积 $A_{\text{标}}$ ，求出待测样品的浓度 p 。

$$p = \frac{V_{\text{标}} \cdot C_{\text{标}} \cdot A_i \cdot V_t \times 10^{-3}}{V_t \cdot A_{\text{标}} \cdot V_s} \quad (1)$$

式中： p —— 气样中可吸入颗粒物中 B[a]P 浓度， $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ；

$A_{\text{标}}$ —— 标样中 B[a]P 的峰面积；

A_i —— 样品中 B[a]P 的峰面积；

V_t —— 提取液总体积， μl ；

V_i —— 样品进样体积， μl ；

V_s —— 标准状况下采气体积， m^3 ；

$V_{\text{标}}$ —— 标样进样体积， μl ；

$C_{\text{标}}$ —— 标样中 B[a]P 浓度， $\text{ng}/\mu\text{l}$ ；

原标准公式中提到的 V_s 是标准状况下的采气体积，没有提到如何换算。现行标准增加了这一项，以方便操作者计算。换算成标准状况下（0℃，101.325kPa）的采样体积：

$$V_s = \frac{V_m \times 273}{101.325(273 + t)} \times P_a \quad (2)$$

式中： V_s —— 标准状况下（0℃，101.325KPa）的总体积， m^3 ；

V_m —— 总的采样体积， m^3 ；

t ——大气温度, °C;

P_a ——大气压力, kPa

新标准对标准曲线的绘制及分析结果的计算公式进行了修订,使操作更加方便、科学、合理和准确。

5.2.9 关于精密度和准确度

5.2.9.1 方法的精密度

同一实验室飘尘样品平行测定八次,乙腈/水作流动相,测定值为0.0045~0.0049 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,相对标准偏差为0.90%。结果见附表1-1。

甲醇/水作流动相,飘尘样品测定8次,测定值为0.0059~0.0068 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,相对标准偏差为2.2%。结果见附表1-2。

5.2.9.2 方法的准确度

样品的准确度采取加标回收率的方法测得。实验中选择甲醇/水作流动相,分别取10、20、30、40、50 μL 浓度为10 $\text{ng}/\mu\text{L}$ 标准溶液滴在滤膜上,采用和样品处理方法同样的方法进行处理,同时作空白实验。飘尘样品测定5次,测定值的加标回收率为93~97%之间。结果见附表2-1。

乙腈/水作流动相,分别取10、20、30、40、50 μL 浓度为10 $\text{ng}/\mu\text{L}$ 标准溶液滴在滤膜上,采用和样品处理方法同样的方法进行处理,同时作空白实验。飘尘样品测定5次,测定值的加标回收率为94~98%之间。结果见附表2-2。

六、与国外标准的对比

ISO 16362-2005 环境空气. 高效液相色谱分析法测定粒相多环芳香烃是采用HPLC法,样品的处理方法采用超声波浓缩提取,与国际同类标准所采用的采样及分析方法,所遵循的原则基本一致。我国现行标准是采用

HPLC法,超声波提取并且离心的方法,拟将样品的处理方法改为索氏提取,并且浓缩的方法,可以提高样品的浓缩效率及准确度。根据各国的技术特点,在定量测定时所用仪器设备的不同有所差异。

附表

附表 1-1 甲醇/水作流动相样品的精密度与相对标准偏差

序号	1	2	3	4	5	6	7	8	平均值
峰面积(mm ²)	1124	1130	1135	1096	1102	1087	1079	1143	1112
含量 (µg/m ³)	0.0065	0.0067	0.0067	0.0062	0.0063	0.0061	0.0059	0.0068	0.0064
相对标准偏差(%)	2.2								

附表 1-2 乙腈/水作流动相样品的精密度与相对标准偏差

序号	1	2	3	4	5	6	7	8	平均值
峰面积(mm ²)	4012	3987	4102	3875	3957	4015	4203	4109	4032
含量 (µg/m ³)	0.0046	0.0046	0.0048	0.0045	0.0046	0.0047	0.0049	0.0048	0.0047
相对标准偏差(%)	0.90								

附表 2-1 甲醇/水作流动相样品的准确度与相对标准偏差

序号	1	2	3	4	5
空白滤膜 (ng)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
加标体积 (µL)	10.00	20.00	30.00	40.00	50.00
实际含量 (ng)	100.00	200.00	300.00	400.00	500.00
测得含量 (ng)	96.2	186.23	290.17	386.26	479.28
加标回收率 (%)	96.2	93.1	96.9	96.6	95.9
平均值 (%)	95.7				
相对标准偏差 (%)	1.6				

附表 2-2 乙腈/水作流动相样品的准确度与相对标准偏差

序号	1	2	3	4	5
空白滤膜 (ng)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
加标体积 (µL)	10.00	20.00	30.00	40.00	50.00
实际含量 (ng)	100.00	200.00	300.00	400.00	500.00
测得含量 (ng)	95.20	189.23	290.34	386.21	487.89
加标回收率 (%)	95.2	94.6	96.8	96.6	97.6
平均值 (%)	96.2				
相对标准偏差 (%)	1.3				