

M12 半自动净化法与手工净化法应用于飞灰中二噁英类检测比较

黄维民, 陈卫海

(苏州市华测检测技术有限公司, 江苏 苏州 215134)

摘要: 研究比较了 M12 半自动净化法与手工净化法应用于二噁英检测的效果。结果显示, 采用高分辨气相色谱 - 高分辨质谱法 (HRGC - HRMS) 检测飞灰样品中的二噁英, 手工净化法的回收率要优于 M12 半自动净化法的回收率, 但 M12 半自动净化法除 2 种单体外, 其余单体回收率均满足对二噁英的分析要求, 且 2 种净化方法所得二噁英的总毒性当量结果相近, 证明手工净化法与 HRGC - HRMS 联用检测飞灰中二噁英的效果较好, 但 M12 半自动净化法也能够满足 HRGC - HRMS 检测二噁英的净化要求。应用酶联免疫法检测飞灰样品中二噁英的总毒性量, 当样品中二噁英浓度较高时, M12 半自动净化法和手工净化法净化测得结果与基准值一致性较好; 当样品中二噁英浓度较低时, 手工净化法检测结果与基准值差别较大, 表明酶联免疫法更适合用 M12 半自动净化法进行净化。

关键词: M12 半自动净化法; 手工净化法; 飞灰; 二噁英

中图分类号: X833

文献标志码: B

文章编号: 1674 - 6732(2016)01 - 0041 - 04

Comparison of Dioxin Analysis in Fly Ash by the M12 Semi-Automatic Cleanup Method and Manual Cleanup Method

HUANG Wei-min, CHEN Wei-hai

(Centre Testing International (Suzhou) Co., Ltd., Suzhou, Jiangsu 215134, China)

Abstract: The effect of using the M12 semi-automatic cleanup method and manual cleanup method for the determination of dioxins was studied and compared. The results showed that the recovery rates obtained using the manual method were better than the M12 semi-automatic cleanup method in high resolution gas chromatography-mass spectrometry (HRGC - HRMS) for the determination of dioxin in fly ash. Except for two types of monomer, the recovery rates of rest monomers obtained using the M12 semi-automatic purification method were all qualified for the analysis requirement of dioxins, and the results of the total toxic equivalent were similar using the two methods. The results indicated that combining the manual cleanup method with HRGC - HRMS was better than that of the M12 semi-automatic purification method, although the latter could also meet the requirement. The total toxicity of dioxins in fly ash samples was analyzed by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The results were in good agreement with the reference values using both of the cleanup methods when the concentrations of dioxins were high in the sample. When the concentrations of dioxins in the sample were low, the results obtained using the manual method were more deviated from the reference values, which indicates that the M12 semi-automatic purification method was more suitable for the ELISA method.

Key words: M12 semi-automatic cleanup method; Manual cleanup method; Fly ash; Dioxin

二噁英 (PCDD/Fs) 具有“致癌、致畸、致突变”三致毒性^[1-3]。常用检测方法有高分辨气相色谱 - 高分辨质谱法 (HRGC - HRMS)^[4] 和酶联免疫法^[5-6]。检测飞灰中的二噁英需要在分析前进行样品的提取和净化。传统手工净化法步骤烦琐, 耗时长。自动净化法相对可以缩短净化时间, 提高工作效率, 具有一定的优势。

现将传统手工净化法和 M12 半自动净化法应用于 HRGC - HRMS 和酶联免疫法分析飞灰中二噁英的效果进行比较, 为 HRGC - HRMS 和酶联免疫法提供检测基础。

收稿日期: 2015 - 03 - 26; 修订日期: 2015 - 08 - 19

作者简介: 黄维民 (1974—), 男, 工程师, 大专, 从事环境检测技术工作。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 7890 气相色谱仪 (Agilent, USA), 配备 Agilent 7693 自动进样器; AutoSpec Premier 高分辨质谱仪 (Waters, UK); ASE350 加速溶剂萃取仪 (Thermo, USA); M12 半自动净化仪 (Cape, USA); 马弗炉 (Thermo, USA)。

复合硅胶柱自下而上依次为 1 g 中性硅胶、4 g 碱性硅胶 (4% 氢氧化钠 30 mL 加入 100 g 硅胶中)、1 g 中性硅胶、8 g 酸性硅胶 (浓硫酸与硅胶 $\omega = 30\%$)、2 g 中性硅胶、1 cm 无水硫酸钠, 用 80 mL 正己烷预淋洗, 100 mL 正己烷洗脱待用; 活性炭柱: 1.5 g 活性炭/硅藻土, 10 mL 甲苯和 10 mL 正己烷依次预淋洗备用; 硅胶柱 (ASC15, Cape, USA); C 柱 (CC2, Cape, USA)。

正己烷、二氯甲烷、甲苯、壬烷等均为农残级; 优级纯无水硫酸钠, 660 °C 于马弗炉烘 6 h 后, 置于干燥器中保存备用; 硅胶 (0.063 ~ 0.100 mm, Merck, Germany) 550 °C 于马弗炉中烘 5 h, 于干燥器中保存备用; Carboxpack C 活性炭 (80/100 mesh, Supelco, USA) 和 Celite545 硅藻土 (Sigma Aldrich, USA), 以 18% (W/W) 比例混合, 于马弗炉中 130 °C 烘 6 h, 置于干燥器中保存备用^[3]。

1.2 提取液制备

称取一定量的飞灰样品, 以 100 mL 1:1 (V/V) 的二氯甲烷和正己烷为溶剂, 采用加速溶剂萃取仪, 150 °C 下进行提取, 得到提取液。

1.3 手工净化方法

提取液浓缩后经复合硅胶柱净化, 洗脱液浓缩至 2 mL 左右, 过活性炭柱, 用 50 mL 正己烷对活性炭柱进行洗脱, 弃掉洗脱液, 再用 80 mL 甲苯洗脱活性炭柱上的二噁英组分, 收集洗脱液待测。

1.4 M12 半自动净化方法

将硅胶柱和 C 柱连接到 M12 半自动净化仪上, 通过空压机加压使样品通过硅胶柱和 C 柱进行净化的一种方法。具体做法: 将 C 柱平口端接至经 10 mL 正己烷预淋洗过的硅胶柱底端, 添加提取液后, 用 30 mL 正己烷洗脱, 弃掉洗脱液。然后, 从硅胶柱上取下 C 柱, 平口端连接至空柱底部, 用 6 mL 1:1 (V/V) 的正己烷和甲苯混合液洗脱, 弃掉洗脱液。再从空柱上取下 C 柱, 将斜口端连接到同一根空柱上, 用 12 mL 甲苯洗脱二噁英组分, 收集洗脱液待测。

1.5 HRGC - HRMS 分析条件

质谱条件: 采用电子轰击源 (EI), 电子能量为 35 eV, 质谱调谐参数为分辨率 > 10 000, 离子源温度 270 °C, 采集方式为电压选择离子扫描模式 (VSIR)。

色谱条件: DB - 5MS 色谱柱 (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 无分流进样, 进样量 1 μL; 载气 (氦气) 流速为 1 mL/min; 程序升温: 初始温度为 150 °C, 保持 3 min, 以 20 °C/min 升至 230 °C, 保持 18 min, 以 5 °C/min 升至 235 °C, 保持 10 min, 以 4 °C/min 升至 330 °C, 保持 3 min。

2 结果讨论

2.1 2 种净化法应用于 HRGC - HRMS 的效果比较

飞灰 1 和飞灰 2, 各设置高低两个取样量 (0.5 和 0.2 g), 萃取后, 分别采用 M12 半自动净化法和手工净化法净化, HRGC - HRMS 测定, 回收率及毒性当量的结果分别见表 1 和表 2。飞灰 1 (0.2 g) 多个二噁英类物质检测结果低于检出限, 可比性差, 结果未显示。

表 1 M12 半自动净化法和手工净化法回收率

%

目标物	M12 半自动净化法			手工净化法		
	飞灰 1 (0.5g)	飞灰 2 (0.2g)	飞灰 2 (0.5g)	飞灰 1 (0.5g)	飞灰 2 (0.2g)	飞灰 2 (0.5g)
2,3,7,8 - TCDF	39.7	6.1	7.0	59.2	53.0	98.7
1,2,3,7,8 - PeCDF	59.3	19.2	22.3	56.9	54.2	99.2
2,3,4,7,8 - PeCDF	68.3	38.0	41.2	60.2	59.5	104.4
1,2,3,4,7,8 - HxCDF	46.9	30.8	33.9	51.0	47.3	79.9
1,2,3,6,7,8 - HxCDF	41.6	28.2	30.4	44.8	42.9	70.0
2,3,4,6,7,8 - HxCDF	42.6	38.5	39.8	56.3	48.9	80.5
1,2,3,7,8,9 - HxCDF	57.2	47.1	48.8	66.1	59.4	94.2
1,2,3,4,6,7,8 - HpCDF	43.2	38.1	41.5	54.7	51.1	87.7

续表

目标物	M12 半自动净化法			手工净化法		
	飞灰 1 (0.5g)	飞灰 2 (0.2g)	飞灰 2 (0.5g)	飞灰 1 (0.5g)	飞灰 2 (0.2g)	飞灰 2 (0.5g)
1,2,3,4,7,8,9 - HpCDF	47.8	46.8	48.2	58.3	54.6	91.8
2,3,7,8 - TCDD	65.8	33.1	36.1	57.9	59.1	101.6
1,2,3,7,8 - PeCDD	50.8	40.7	42.0	55.6	50.8	83.9
1,2,3,4,7,8 - HxCDD	46.4	36.5	38.3	49.9	45.0	72.9
1,2,3,6,7,8 - HxCDD	53.9	50.6	55.6	65.6	59.7	101.9
1,2,3,4,6,7,8 - HpCDD	47.7	47.3	54.3	68.1	63.0	112.2
OCDD	47.9	6.5	7.9	46.8	42.5	80.2

由表 1 可见, M12 半自动净化法和手工净化法对应的回收率分别为 6.1% ~ 68.3% 和 42.5% ~ 112%, 手工净化法的回收效果要优于 M12 半自动

净化法的回收效果。但是采用 M12 半自动法时, 除 2,3,7,8 - TCDF 和 OCDD 外, 其余单体回收率均满足二噁英的分析要求^[4]。

表 2 M12 半自动净化法和手工净化法毒性当量结果

ng/kg

目标物	M12 半自动净化法			手工净化法		
	飞灰 1 (0.5g)	飞灰 2 (0.2g)	飞灰 2 (0.5g)	飞灰 1 (0.5g)	飞灰 2 (0.2g)	飞灰 2 (0.5g)
2,3,7,8 - TCDF	3.9	126.4	132.5	4.6	185.8	115.0
1,2,3,7,8 - PeCDF	0.8	191.2	216.5	1.1	259.5	199.7
2,3,4,7,8 - PeCDF	21.7	1 245.0	1 342.4	26.4	1 881.5	1 362.5
1,2,3,4,7,8 - HxCDF	2.3	1 603.5	1 700.5	4.2	2 120.6	1 641.0
1,2,3,6,7,8 - HxCDF	2.8	679.9	748.0	3.3	931.6	705.6
2,3,4,6,7,8 - HxCDF	4.1	635.5	660.3	6.4	811.1	654.1
1,2,3,7,8,9 - HxCDF	0.1	187.8	213.1	0.6	248.9	194.7
1,2,3,4,6,7,8 - HpCDF	1.1	248.7	271.6	1.4	324.2	258.8
1,2,3,4,7,8,9 - HpCDF	0.1	34.0	35.9	0.1	43.8	34.7
OCDF	0.007 6	1.4	1.6	0.008 6	1.8	1.6
2,3,7,8 - TCDD	0.1	144.0	144.6	5.8	374.5	110.8
1,2,3,7,8 - PeCDD	10.6	1 857.0	1 989.8	12.8	3 594.5	2 154.2
1,2,3,4,7,8 - HxCDD	0.8	267.1	290.0	1.4	385.1	298.4
1,2,3,6,7,8 - HxCDD	2.4	1 033.4	1 070.8	3.2	1 432.9	1 074.4
1,2,3,7,8,9 - HxCDD	2.3	862.6	931.2	3.2	1 067.6	993.5
1,2,3,4,6,7,8 - HpCDD	1.6	769.6	727.0	2.1	1 011.7	741.7
OCDD	0.064	26.0	25.5	0.081	32.9	24.7
总毒性当量	54.6	9 913.1	10 501.3	76.7	14 708.0	10 565.4

由表 2 可见, M12 半自动净化法和手工净化法检测的总毒性当量结果: 飞灰 1 (0.5 g) 分别为 54.6 和 76.7 ng/kg; 飞灰 2 (0.2 g) 分别为 9 913 和 14 708 ng/kg; 飞灰 2 (0.5 g) 分别为 10 501 和 10 565 ng/kg。M12 半自动净化法与手工净化法 2 种方法检测结果的总毒性当量接近。由于二噁英检测结果通常以总毒性当量评价样品中浓度是否超过评价限值, 所以 M12 半自动净化法能够满足二噁英净化的要求。

2.2 2 种净化法应用于酶联免疫法的效果比较

随机选取 6 个飞灰样品, 分别采用手工净化法

和 M12 半自动净化法净化, 二噁英酶联免疫法分析, 并与 HRGC - HRMS (手工净化) 法的分析结果进行比对, 结果见表 3。由于在净化过程中飞灰 5 出现样液损失, 故其结果不参与比较。由表 3 可见, 使用酶联免疫法, 样品二噁英浓度较高时, 手工净化法和 M12 半自动净化结果一致性较好, 如样品飞灰 3 和飞灰 4; 样品二噁英浓度较低时, 手工净化法和 M12 半自动净化结果一致性较差; 与 HRGC - HRMS 分析结果 (假定为比较基准值) 比对, 用酶联免疫法检测飞灰中的二噁英类物质时, 采用 M12 半自动净化法得到的结果与 HRGC - HRMS

分析结果更为接近。

表3 飞灰中二噁英总毒性当量结果 $\mu\text{g}/\text{kg}$

样品名称	HRGC - HRMS (手工净化)	酶联免疫法	
		手工净化	M12 净化
飞灰3	1.11	1.37	1.39
飞灰4	1.09	1.42	1.14
飞灰6	0.30	0.88	0.36
飞灰7	0.35	1.13	0.43
飞灰8	0.40	1.00	0.52

2.3 酶联免疫法和 HRGC - HRMS 的比较

基于对结果准确性的考虑,分析飞灰中二噁英时,酶联免疫法采用 M12 半自动净化法净化,HRGC - HRMS 法采用手工净化法净化,对 2 种方法进行比较(对时间和成本的核算指的是除萃取和净化以外的仪器检测阶段),结果见表 4。同样对 20 个样本进行最后测定,酶联免疫法用时更少,且成本只有 HRGC - HRMS 的 1/3。

表4 酶联免疫法与 HRGC - HRMS 对比

M12 半自动净化 + 酶联免疫法	手工净化 + HRGC - HRMS
只能检测总毒性当量,不能检测单体浓度	既能检测总毒性当量,也能检测每个单体浓度
样品量为 20 个时,检测周期为 1 ~ 2 h	当样品量为 20 个时,样品测试时间为 20 h
溶剂使用量较少	溶剂使用量多

3 结语

应用 HRGC - HRMS 检测飞灰中二噁英时应

用手工净化法检测结果更优,但 M12 半自动净化法能够满足二噁英净化的要求。使用酶联免疫法检测飞灰中二噁英时,M12 半自动净化法相比手工净化法准确性更高,因此酶联免疫法更适合使用 M12 半自动净化方法对样品进行前处理。同时,酶联免疫法的成本比 HRGC - HRMS 的综合成本更加低廉,更值得推广。对 HRGC - HRMS 采用 M12 半自动净化法样品回收率较低的问题,后续研究将会对 M12 半自动净化法的条件进行优化,以期提高 M12 半自动净化法的回收率。

[参考文献]

- [1] 周志广,许鹏军,任玥,等. 自动净化及新型酶联免疫法测定废气中的二噁英[J]. 分析测试学报,2013,32(1): 127 - 132.
- [2] BEHNISH P A, HOSOE K, SAKAI S. Bioanalytical screening methods for dioxins and dioxin-like compounds - a review of bioassay/biomarker technology [J]. Environment International, 2001,27(5): 413 - 439.
- [3] 高永飞,王璞,陈卫海,等. 喜马拉雅山区柔荑草和棘豆样品中 PCBs、PBDEs 和 PCDD/Fs 的分析[J]. 环境化学,2012,31(1): 26 - 31.
- [4] 环境保护部. HJ 77.3 - 2008 固体废物 二噁英类的测定 同位素稀释高分辨气相色谱 - 高分辨质谱法[S]. 北京: 中国环境科学出版社,2009.
- [5] US EPA. EPA Method 4025 - 2002 Screening for polychlorinated dibenzodioxins and polychlorinated dibenzofurans (PCDD/Fs) by immunoassay[S]. 2002.
- [6] 李剑,马梅,王子健. 环境内分泌干扰物的作用机理及其生物检测方法[J]. 环境监控与预警,2010,2(3): 18 - 22.

栏目编辑 胡伟

· 简讯 ·

安哥拉为 2016 年环境日主办国 主题围绕打击非法野生动植物贸易

中国环境报报道 联合国环境规划署和安哥拉政府在巴黎气候大会期间联合宣布安哥拉为 2016 年世界环境日主办国,安哥拉目前正在积极寻求保护国家的生物多样性并恢复大象数量。

每年 6 月 5 日的世界环境日,是全球范围内最大的采取积极环保行动的一天。2016 年世界环境日的主题将围绕打击非法野生动植物贸易,这也是安哥拉面临的重大问题,偷猎行为正在威胁被数十年内战摧毁的大象数量的恢复。

安哥拉环境部长玛丽亚·德·法蒂玛·雅尔丁表示:“安哥拉非常高兴主办世界环境日活动,并关注与我们密切相关的议题。非法野生动植物贸易,特别是象牙和犀牛角贸易,是非洲大陆共同面临的主要问题。通过主办世界环境日的纪念活动和增强意识,我们希望传递出一个明确的消息:非法野生动植物贸易很快将被终结。”

联合国环境规划署执行主任阿奇姆·施泰纳表示:“我们今年已经为打击非法野生动植物贸易采取了重要举措,包括联合国对野生动植物走私的首个决议,呼吁把境内外野生动植物走私视为非常严重的犯罪行为。2016 年世界环境日将高度关注安哥拉为终结野生动植物走私采取的行动。环境署期待与安哥拉政府合作,增强意识并加速行动,保护物种、生态系统和生计。”

近些年来,每年有超过两万头非洲大象被杀害。目前非洲大象的数量约为 42 万 ~ 65 万之间。《美国国家科学院学报》的数据显示,2010 ~ 2012 年间多达 10 万头大象被猎杀。

摘自 www. jshb. gov. cn 2015 - 12 - 21