

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.01573

2,4-二硝基苯肼衍生-高效液相色谱测定 大气细粒子中二羰基类化合物

牟翠翠 冯艳丽* 翟金清 熊斌 邹婷

(上海大学环境与化学工程学院, 环境污染与健康研究所, 上海 200444)

摘要 以 2,4-二硝基苯肼作为衍生化试剂, 采用高效液相色谱法定量检测了大气细粒子(PM_{2.5}) 中二羰基类化合物。以乙二醛和甲基乙二醛为目标化合物, 对二羰基类化合物采样条件(采集时间, 流速等)、样品处理及分析条件进行了优化。研究表明, 利用 3 mL 衍生化溶液(含 0.25 mmol/L HCl 和 30 μL 饱和 DNPH-乙腈溶液) 和 3 mL 乙腈可有效提取滤膜上的二羰基类化合物; 本方法在滤膜采样 12 h 内的采样及洗脱效果较好。利用此方法对上海市宝山区上海大学和崇明东平国家森林公园大气细粒子(PM_{2.5}) 中二羰基化合物进行了检测。

关键词 二羰基类化合物; 大气细粒子; 2,4-二硝基苯肼; 高效液相色谱; 乙二醛; 甲基乙二醛

1 引言

大气中的羰基化合物对大气自由基及光氧化剂的生成具有重要的作用, 它们是大气光化学反应的重要参与者^[1]。大气中羰基化合物主要由烃类光氧化反应产生, 另外也有生物源(如热带森林) 和人为来源(如工厂排放、汽车尾气、家庭取暖等)^[2]。如乙二醛主要来自于人为源烃类和生物源异戊二烯的氧化^[3]。羰基化合物的定量分析对解释烃类氧化机理、光氧化剂形成及二次气溶胶形成等都具有重要意义。异戊二烯是生物源全球排放量最大的非甲烷烃类, 它与羟基的氧化反应会产生一系列的羰基化合物, 包括甲醛、甲基丙烯醛等单羰基化合物和乙二醛、甲基乙二醛等二羰基化合物^[1]。

半挥发性羰基化合物, 尤其是二羰基类化合物备受关注。半挥发性的二羰基化合物可以在气相和颗粒相中同时存在, 并通过多种途径生成有机气溶胶: (1) 一些半挥发性羰基化合物以气体形式从植物排放出来后凝结、吸附、或溶解到已有的颗粒物上^[4-7]; (2) 通过气粒转化(Gas-particle conversion) 产生新的气溶胶^[8-9]; (3) 生物源挥发性有机物(BVOCs) 反应生成的羰基化合物在酸催化条件下发生异相反应, 转变为蒸气压更低的缩醛、半缩醛和聚合物^[4]。

目前, 对羰基化合物的研究主要集中于单羰基化合物, 如甲醛、乙醛和丙酮等^[10-14]。对于大气中二羰基化合物的研究还未引起足够重视。此类半挥发性有机物极性较强, 采样和分析较困难, 给相关研究带来了难度。2,4-二硝基苯肼-高效液相色谱(DNPH-HPLC) 方法作为 EPA(美国环境保护署) 标准方法, 得到了广泛的应用。不仅用于分析大气中的羰基化合物, 而且还用于水(雨水, 污水等)^[15]。Wang 等^[16] 在南京采集 PM_{2.5} 和 PM₁₀ 样品, 用 GC 和 GC/MS 检测一系列二羧酸和两种醛(甲基乙二醛和 2-含氧丙二醛)。尽管乙二醛与甲基乙二醛一样在大气中广泛存在, 但是目前研究工作涉及到大气细粒子中的二羰基类化合物还较少, 其主要原因是目前广泛采用的 Kawamura and Ikushima 方法^[17] 在旋转蒸发过程中会引起乙二醛挥发, 使其含量低于检出限。本研究利用 DNPH-HPLC 法, 建立了大气细粒子(PM_{2.5}, 粒径 2.5 μm) 中二羰基化合物的检测方法, 优化了采样时间、洗脱方式、放置及保存时间等因素, 并利用该方法对实际大气中 PM_{2.5} 上的二羰基类化合物进行了检测。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Lab2000 真空手套箱(北京 Etelux 公司); LT-05C 超声波清洗器(深圳龙标公司); Waters2695 高效

2010-01-19 收稿; 2010-06-13 接受

本文系国家自然科学基金(Nos. 40773047, 40973071), 上海市青年科技启明星计划(No. 09QA1402100) 和上海市重点学科(No. S30109) 资助项目

* E-mail: fengyanli@shu.edu.cn

液相色谱(美国 Waters 公司); Waters Sunfire-C₁₈ 反向色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5.0 μm); PM2.5 小流量采样器(AP-253 美国 Buck 公司); TSP 大流量采样器(TH-1000 武汉天虹公司); 玻璃滤膜 GF/A、石英滤膜 QM-A(Whatman 公司); 聚四氟乙烯膜(Pall 公司)。

乙腈(德国 Merck 公司); 四氢呋喃、DNPH 晶体(美国 Fluka 公司), 以上试剂均为色谱纯。HCl(分析纯)、氮气(纯度 99.999%)。水为双纯水(经美国 Millipore 公司的 Mili-Q 膜过滤)。

2.2 样品的采集及处理

采用 PM2.5 小流量采样器在上海市两个采样点(上海大学宝山校区(工业区)和崇明东平国家森林公园)采集 PM2.5 样品, 石英滤膜直径 47 mm, 采样流速 4 L/min。

采样之后, 滤膜于 -4 °C 保存, 样品分析前的预处理过程在充满高纯 N₂ 的手套箱内进行: 将滤膜放入烧杯中, 加适量衍生液(30 μL DNPH 饱和溶液, 21 μL HCl, 用乙腈定容至 3 mL), 放置 30 min, 超声 15 min^[16], 然后将提取液用有机过滤头过滤转移至小瓶中, 再用乙腈冲洗滤膜, 冰水浴超声 15 min, 将两次洗脱液混合后用 N₂ 吹干, 然后用乙腈反复冲洗并定容至 200 μL, 高效液相色谱-紫外检测(HPLC-UV), 具体分析方法见文献[19]。

3 结果与讨论

3.1 酸度对衍生效果的影响

羰基化合物通常在酸性介质中与 DNPH 反应生成腙类衍生物, 衍生效率主要依赖于介质酸度^[18]。用标样配制好 2 mg/L 的乙二醛和甲基乙二醛混合溶液, 取 6 个样品瓶, 每个样品瓶加入 1 mL 混合液, 然后依次加入适量 HCl, 使混合液中 HCl 浓度分别为 0.01, 0.1, 0.15, 0.25, 0.5 和 1.0 mmol/L, 放置 30 min 后, 用 HPLC 进行检测。不同酸度条件下的响应值(峰面积)如图 1 所示。由图 1 可见, 随着加入 HCl 量的增加, 衍生物的生成量也增大, 但当 HCl 浓度大于 0.25 mmol/L 后, 衍生效率明显降低。由于甲基乙二醛与 DNPH 衍生反应的平衡常数较小^[18], 因而图 1 中显示其衍生效果较差, 但与乙二醛有相同的变化趋势。因此这两种二羰基类化合物衍生化时, HCl 最佳浓度为 0.25 mmol/L。

3.2 衍生剂的量对衍生效果的影响

衍生剂的用量对衍生效果影响明显。DNPH 用量低衍生不充分; DNPH 用量过大会导致衍生化试剂或者衍生物沉淀析出。由于乙二醛比甲基乙二醛衍生效果灵敏, 因此选取乙二醛进行 DNPH 用量的影响实验, 将乙二醛与 DNPH 的摩尔比按 1:20, 1:50, 1:100, 1:150, 1:180 和 1:200 混合, 并据 3.1 节加入适量 HCl 进行充分衍生化, 进行 HPLC 分析。为使衍生更充分且不受时间影响, 衍生液于室温暗处保存 12 ~ 24 h^[15]。实验结果如图 2 所示, 当乙二醛与 DNPH 摩尔比为 1:150 时, 衍生效果最好。

3.3 标准曲线、方法检出限及加标回收率

分别配制 0.02, 0.08, 0.1, 0.3 和 1.0 mg/L 的乙二醛、甲基乙二醛标准溶液, 按上述实验结果加入适量 DNPH 溶液及 HCl, 室温下避光保存 12 h, 确保衍生反应充分进行。然后用 HPLC/UV 进行检测并绘制标准曲线, 乙二醛和甲基乙二醛的标线分别为 $y = 111786x + 8419.2$ 和 $y = 199688x - 1335.1$, 线性相关系数分别为 0.996 和 0.998。取其最低浓度(0.02 mg/L)连续进样 7 次, 得出乙二醛和甲基乙二醛的检出限分别为 2.52 和 19.3 μg/L。乙二醛和甲基乙二醛标准溶液色谱峰及采样滤膜上能检测到的羰基化合物色谱图如图 3 所示, 空白滤膜及纯化的 DNPH 溶液中均未能检测到羰基化合物色谱峰。在加标空白样品中, 9 种羰基化合物的回收率范围为 78% ~ 87%。

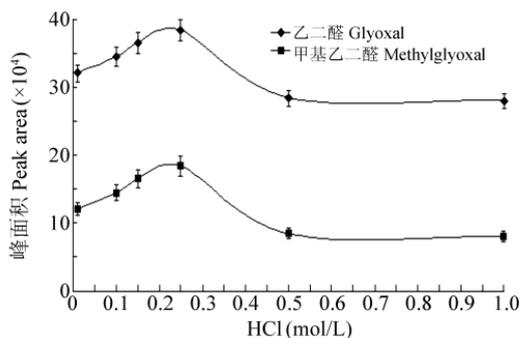


图 1 乙二醛、甲基乙二醛-DNPH 衍生物(2 mg/L 混合标液)的峰面积随 HCl 加入量变化图

Fig. 1 Peak area of glyoxal and methylglyoxal-2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) derivatization (2 mg/L mixed standard) versus HCl

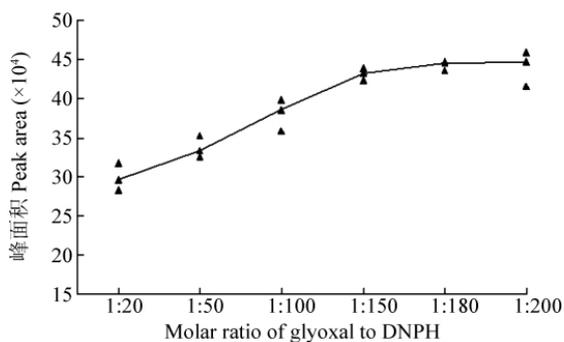


图 2 乙二醛-DNPH 衍生物峰面积随所加 DNPH 变化图

Fig. 2 Peak area of glyoxal-DNPH derivatization versus DNPH

3.4 洗脱效率及采样时间

为确定洗脱液对乙二醛和甲基乙二醛的分步洗脱效果及效率,对 PM_{2.5} 滤膜样品抽提之后用 1 mL 乙腈重复洗脱,计算每次洗脱液中乙二醛和甲基乙二醛总量。首先加入 3 mL 衍生液,经超声提取收集第 1 遍洗脱液,再加入 1 mL 乙腈冲洗,收集第 2 遍洗脱液,再依次加入 1 mL 乙腈,分别收集第 3, 4, 5 遍洗脱液。实验结果显示,第 1~5 遍洗脱液中乙二醛和甲基乙二醛分别占总量 77.6%, 15.4%, 4.76%, 2.24% 及低于检出限。因此 3 mL 衍生液超声提取后,再分别用 1 mL 乙腈洗脱 3 次,即可对滤膜进行充分提取并能够保证洗脱效率。

由于本方法溶剂用量少,采样时间可能会影响洗脱效率,因此对同一张滤膜重复两次上述操作(用两份 3 mL 衍生液和 3 mL 乙腈提取)并检测第 1 次、第 2 次提取液中衍生物浓度。洗脱效率定义为第 1 次洗脱的羰基化合物量与两次洗脱总量之比。分别对采样时间段为 4, 8, 12(白天), 12(晚上), 24, 45 和 60 h 的滤膜进行洗脱,实验结果如图 4 所示。由图 4 可见,采样时间小于 12 h 的滤膜洗脱效率为 95%~100%,而且随着采样时间延长,洗脱效率逐渐降低,采样时间为 60 h 时,洗脱效率为 85%。因此,采样时间在 12 h 内滤膜洗脱效果最好。

3.5 滤膜种类及处理方式

滤膜按材质分为无机滤膜(如石英滤膜、玻璃滤膜)和有机滤膜(如聚四氟乙烯膜(PTFE))。3 台 PM_{2.5} 小流量采样器分别用上述 3 种滤膜同时采集大气样品。采样时间 4 h,采样流速 4 L/min,以比较不同滤膜的检测效果,结果列于表 1。由表 1 可见,玻璃滤膜采集到的二羰基类化合物浓度高于石英膜和聚四氟乙烯膜,说明对于短时间大气采样分析,玻璃滤膜采集效果更好,聚四氟乙烯次之,石英滤膜上检测到的浓度最低。另外二羰基类化合物在大气中的浓度较低,而玻璃滤膜也适于微量污染的化学分析。滤膜在洗脱过程中有剪碎和片状两种不同处理方式,将滤膜平均剪成 2 份,平铺在烧杯底或将滤膜剪碎放入,乙腈作为洗脱溶剂,平行洗脱 3 次取平均值,比较玻璃滤膜两种不同处理方式的洗脱效果,结果见表 1,片状玻璃滤膜洗脱效果较好。

为了验证常温下玻璃滤膜样品是否会吸附一些气相的乙二醛和甲基乙二醛,实验中用采集的 TSP 样品裁出 6 张相同大小的滤膜,其中 3 张滤膜放在室温下(25 °C)密封保存,另外 3 张放在冰箱保存(-4 °C)放置 12 h 后,分别超声洗脱和分析。结果发现,在室温下保存的滤膜样品中乙二醛和甲基乙二醛的量与冰箱内的差别不大。结果表明,滤膜上采集到的二羰基类化合物基本为颗粒相。

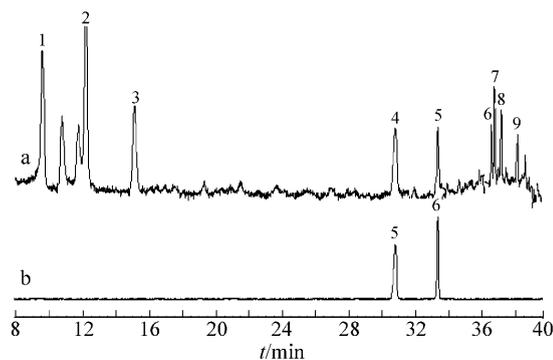


图 3 乙二醛和甲基乙二醛的混合标样(a)及 PM_{2.5} 样品(b)中检测到的羰基化合物色谱图

Fig. 3 Chromatogram of mixed standard solution(a) and fine particles in ambient PM_{2.5} samples(b)

1. 甲醛(Foraldehyde); 2. 乙醛(Acetaldehyde); 3. 丙酮(Acetone); 4. 乙二醛(Glyoxal); 5. 甲基乙二醛(Methylglyoxal); 6. 庚醛(Heptanal); 7. 辛醛(Octanal); 8. 壬醛(Nonanal); 9. 癸醛(Decanal)。

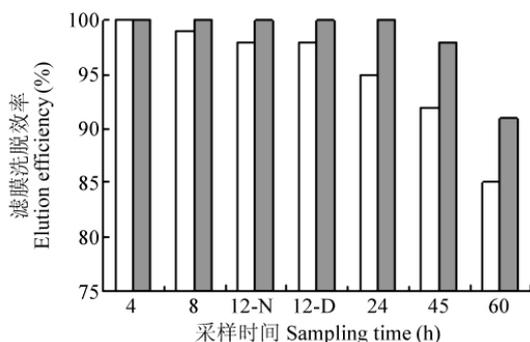


图 4 滤膜在不同采样时间内的洗脱效率

Fig. 4 Elution rates of filters with different sampling time

表 1 3 种滤膜采集二羰基类化合物及处理方式比较

Table 1 Comparison of dicarbonyl compounds collection with three kinds of filters and treatment approaches

羰基化合物 Dicarbonyl compounds	检测量 Detection amount (μg)				
	玻璃膜 Glass filter	石英膜 Quartz filter	聚四氟乙烯膜 PTFE filter	片状玻璃膜 Sheet glass filter	剪碎玻璃膜 Shredded glass filter
乙二醛 Glyoxal	0.768	0.246	0.706	0.364	0.357
甲基乙二醛 Methylglyoxal	0.494	0.204	0.432	0.246	0.197

3.6 样品浓缩影响

虽然按上述方法可对大气颗粒相样品中的二羰基类化合物进行洗脱提取,但是提取物中腓类衍生物的量一般很低,以致很难直接进行定量检测。因此,要对样品进行浓缩。本实验中在手套箱内将 PM_{2.5} 滤膜样品抽提、洗脱后的溶液氮吹定容到 200 μL ,这个过程可能会导致一部分目标化合物损失。对于单羰基类化合物的氮吹损失(这里选择甲醛、乙醛、丙酮、己醛、庚醛、壬醛和癸醛),可以用美国 EPA(Method To-11) 标准方法采集大气样品,用溶剂洗脱后分成 2 份,一份直接进 HPLC 进行检测,另一份进行氮吹浓缩,然后分别进 HPLC 检测,比较氮吹过程引起的目标化合物的损失。对于二羰基化合物,各取 2 份 1 mL 浓度分别为 0.08, 1.0 和 3.0 mg/L 的乙二醛和甲基乙二醛标准混合溶液,其中一份氮吹定容到 200 μL 后进 HPLC 分析,另外一份直接分析,对比氮吹前后的乙二醛和甲基乙二醛的浓度。结果如图 5 所示,其损失率均低于 10%。实验证明,氮吹浓缩的过程基本能够体现出大气中羰基化合物的真实含量,并能够检测到低于标准方法检出限的物质。

3.7 实际采样分析

利用本方法于 2009 年 12 月 18 ~ 22 日分别在上海市宝山区上海大学和崇明岛东平国家森林公园同时采集 PM_{2.5} 样品,采样流速 4 L/min,每 4 h 采集一个样品。采样时间段为 7:00 ~ 11:00, 11:00 ~ 15:00, 15:00 ~ 19:00, 19:00 ~ 7:00,共采集 30 个大气样品,16 个空白样品。样品色谱图见图 6,两个采样点均可以检测到乙二醛和甲基乙二醛。崇明东平国家森林公园乙二醛和甲基乙二醛平均浓度分别为 792 和 143 ng/m^3 ,而宝山上海大学分别为 475 和 121 ng/m^3 。崇明东平森林公园大气中二羰基类化合物平均浓度高于宝山,说明植物源对二羰基类化合物有一定的影响,Matsunaga 等^[5,6]也在森林大气气溶胶中发现有大量半挥发性羰基化合物的存在(包括二羰基类化合物)。

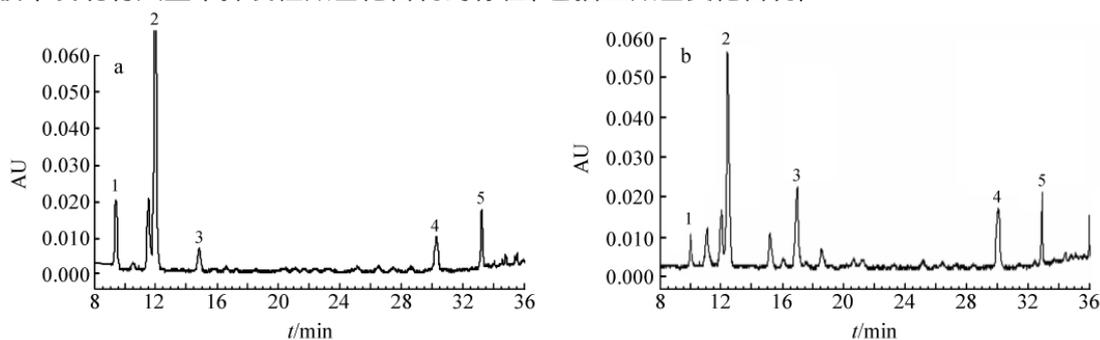


图 6 上海不同采样点大气中二羰基类化合物色谱图

Fig. 6 Chromatogram of dicarbonyl compounds in atmosphere at different sampling sites in Shanghai

a. 宝山上海大学采样点样品(Baoshan samples) b. 崇明东平国家森林公园采样点样品(Chongming samples)。1. 甲醛 (Formaldehyde); 2. 乙醛 (Acetaldehyde); 3. 丙酮 (Acetone); 4. 乙二醛 (Glyoxal); 5. 甲基乙二醛 (Methylglyoxal)。

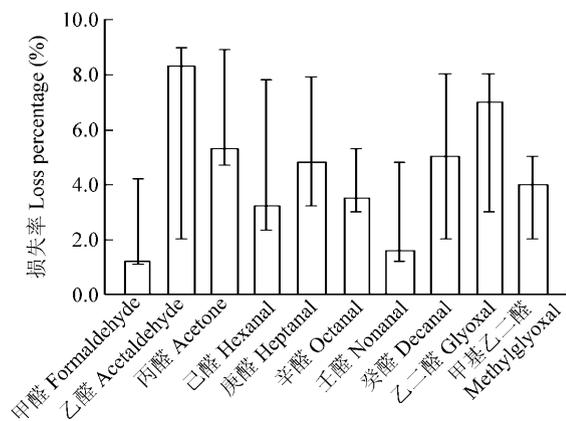


图 5 氮吹处理对样品浓缩影响

Fig. 5 Effects of nitrogen evaporator on sample concentration

References

- 1 Seinfeld J H. National Research Council. *Rethinking the Ozone Problem in Urban and Regional Air Pollution*, National Academy Press: Washington, D C. 1991
- 2 Atkinson R. *Atmos. Environ.*, 1990, 24A: 1 ~ 41
- 3 Hastings W P, Koehler C A, Bailey E L, De Haan D O. *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39(22): 8728 ~ 8735
- 4 Jang M, Kamens R M. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, 35(24): 4758 ~ 4766
- 5 Matsunaga S, Mochida M, Kawamura K. *Geophys. Res.*, 2004, 109, D04302, doi: 10.1029/2003JD004100
- 6 Matsunaga S, Mochida M, Kawamura K. *Atmospheric Environment*, 2003, 37(15): 2045 ~ 2050
- 7 Jang M S, Carroll B, Chandramouli B, Kamens R M. *Environ. Sci. Technol.*, 2003, 37(17): 3828 ~ 3837
- 8 Kavouras I G, Mihalopoulos N, Stephanou E G. *Nature*, 1998, 395(6703): 683 ~ 686
- 9 Kavouras I G, Mihalopoulos N, Stephanou E G. *Environ. Sci. Technol.*, 1999, 33(7): 1028 ~ 1037
- 10 Weng M L, Zhu L Z, Yang K, Chen S G. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164(2-3): 700 ~ 706
- 11 XU Zhu(徐竹), PANG Xiao-Bing(庞小兵), MU Yu-Jing(牟玉静). *Acta Scientiae Circumstantiae(环境科学学报)*, 2006, 26(12): 1948 ~ 1954
- 12 Pal R, Kim K H, Hong Y J, Jeon E C. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 153(3): 1122 ~ 1135
- 13 FENG Yan-Li(冯艳丽), CHEN Ying-Jun(陈颖军), WEN Sheng(文晟), SHENG Guo-Ying(盛国英), FU Jia-Mo(傅家谟). *Environmental Science and Technology(环境科学与技术)*, 2007, 30(2): 51 ~ 55
- 14 Lu H X, Wen S, Feng Y L, Wang X M, Bi X H, Sheng G Y, Fu J M. *Science of the Total Environment*, 2006, 368(2-3): 574 ~ 584
- 15 Wang H L, Zhang X, Chen Z M. *Environment Chemistry*, 2009, 6(5): 389 ~ 397
- 16 Wang G H, Niu S L, Liu C E, Wang L S. *Atmospheric Environment*, 2002, 36(12): 1941 ~ 1950
- 17 Kawamura K, Ikushima K. *Environ. Sci. Technol.*, 1993, 27(10): 2227 ~ 2235
- 18 Zhou X L, Huang G, Civerolo K. *Environ. Sci. Technol.*, 2009, 43(8): 2753 ~ 2759
- 19 Huang J, Feng Y L, Li J. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 2008, 61: 1 ~ 20

Determination of Dicarbonyl Compounds in Ambient Fine Particles by High Performance Liquid Chromatography after 2,4-Dinitrophenylhydrazine Derivatization

MU Cui-Cui, FENG Yan-Li*, ZHAI Jin-Qing, XIONG Bin, ZHOU Ting

(Institute of Environmental Pollution and Health, School of Environmental and Chemical Engineering,
Shanghai University, Shanghai 200444)

Abstract A method for detecting dicarbonyl compounds in atmospheric PM_{2.5} by high performance liquid chromatography after derivatization with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) was established. Take glyoxal and methylglyoxal as example, the sample collection (time, flow rate, etc.), the preparation and analysis of dicarbonyl compounds were evaluated. The results showed that with 3 mL derivatization agent (including 0.25 mmol/L HCl and 30 μ L saturated DNPH-acetonitrile solution) and 3 mL acetonitrile, the dicarbonyl compounds in filter samples could be effectively eluted. The elution efficiency of the PM_{2.5} filters is higher when the sampling time is less than 12 h. The method was applied to measure the dicarbonyl compounds in fine particles in the ambient air of Shanghai University, Baoshan and Dongping National Forest Park, Chongming, Shanghai.

Keywords Dicarbonyl compounds; Atmospheric fine particles; 2,4-Dinitrophenylhydrazine; High performance liquid chromatography; Glyoxal; Methylglyoxal