

广东省分析测试协会团体标准
《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高
效液相色谱法》
编制说明

《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法》编制组

2023年10月

目录

1 项目背景	1
1.1 本标准制定的目的与意义	1
1.2 本标准与国内外标准关系的说明	2
2 标准起草工作简况	2
2.1 任务来源	2
2.2 起草单位、起草人	3
2.3 主要工作过程	4
3 标准编制原则和确定标准主要内容的论据	4
3.1 标准的编制原则	4
3.2 确定标准主要内容的论据	5
4 方法研究报告	5
4.1 方法研究的目标	5
4.2 方法原理	5
4.3 试剂和材料	5
4.4 仪器和设备	7
4.5 样品	7
4.5.1 试样的制备	7
4.6 分析步骤	7
4.6.1 提取	7
4.6.2 液相色谱参考条件	8
4.6.3 标准曲线的制作	9
4.6.4 试样溶液的测定	10
4.6.5 空白试验	10
4.7 结果计算和表述	10
4.8 方法的灵敏度、准确度和精密度	11
4.8.1 灵敏度	11
4.8.2 准确度和精密度	12

5	方法验证	13
5.1	方法验证方案	13
5.1.1	方法验证单位	13
5.1.2	测试要求	14
5.1.3	试样的制备及分析	14
5.2	方法验证过程	14
5.3	方法验证结果	15
5.3.1	线性范围和相关系数	15
5.3.2	检出限和测定下限	16
5.3.3	准确度和精密度	17
5.3.4	实际样品测定结果	19
6	与现行法律、法规、政策及相关标准协调性	20
7	重大意见分歧的处理依据和结果	20
8	预期的社会效益及贯彻实施标准的要求、措施等建议	20
8.1	预期的社会效益	20
8.2	贯彻实施标准的要求和措施建议	20
9	附件材料（方法验证报告）	20
10	其他应当说明的事项	21

1 项目背景

1.1 本标准制定的目的与意义

多环芳烃（PAHs）是一类分子里面包含两个及两个以上苯环碳氢化合物的总称，具有“致癌、致畸、致突变”的“三致”作用。美国国家环境保护局 129 种“优先控制污染物”中，PAHs 就有 16 种，目前国内外对多环芳烃的研究也是围绕这 16 种 PAHs 展开，多见于水质、环境、食品检测等方面，关于血清、尿液等生物样品中的检测相对较少。PAHs 性质相对稳定，不易降解。环境中的 PAHs 可以通过多种暴露途径进入人体内，引发各种疾病，危害人体健康。受各种因素如个体差异、生活习惯、饮食等的影响，外暴露监测数据往往不能准确评价人体的真实暴露水平，内暴露监测更能反应真实的接触水平。亦可用于职业暴露人群健康监测，因此，建立人体是生物样本中 PAHs 检测方法，开展 PAHs 内暴露水平监测，对于人群健康风险评估具有重要意义，可为环境管理部门制定相关防治政策和措施提供科学依据，本方法的 15 种多环芳烃化学信息见表 1。

表1 15种多环芳烃中英文名称、分子式、CAS号

序号	名称	英文名称	分子式	CAS 号
1	萘	Naphthalene	C ₁₀ H ₈	91-20-3
2	茈	Acenaphthene	C ₁₂ H ₁₀	83-32-9
3	芴	Fluorene	C ₁₃ H ₁₀	86-73-7
4	菲	Phenanthrene	C ₁₄ H ₁₀	85-01-8
5	蒽	Anthracene	C ₁₄ H ₁₀	120-12-7
6	荧蒽	Fluoranthene	C ₁₆ H ₁₀	206-44-0
7	芘	Pyrene	C ₁₆ H ₁₀	129-00-0
8	屈	Chrysene	C ₁₈ H ₁₂	218-01-9
9	苯并[a]蒽	Benz[a]anthracene	C ₁₈ H ₁₂	56-55-3
10	苯并[b]荧蒽	Benzo[b]fluoranthene	C ₂₀ H ₁₂	205-99-2
11	苯并[k]荧蒽	Benzo[k]fluoranthene	C ₂₀ H ₁₂	207-08-9

12	苯并[a]芘	Benzo[a]pyrene	C ₂₀ H ₁₂	50-32-8
13	二苯并[a, h]蒽	Dibenz[a,h]anthracene	C ₂₂ H ₁₄	53-70-3
14	苯并[g,h,i]芘	Benzo[g,h,i]perylene	C ₂₂ H ₁₂	191-24-2
15	茚并[1,2,3-cd]芘	Indeno[1,2,3-cd]pyrene	C ₂₂ H ₁₂	193-39-5

目前，血清样品中 PAHs 前处理方法主要有液液萃取、固液萃取、固相萃取及基于热原理的顶空、和顶空-固相微萃取等方法。其中，液液萃取和固相萃取应用最为普遍，但均存在样品需求量大、操作复杂等技术难点。PAHs 测定方法有气相色谱法、液相色谱法、气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法等方法。其中，液相色谱法和气相色谱质谱法是分析多环芳烃最普遍的方法，液相色谱法相较于气相色谱质谱法灵敏度更高。现阶段各种环境介质中 PAHs 的分析方法已逐渐趋成熟，但血清等生物样本中多环芳烃含量极低，样本基质非常复杂，简单、高效的样品前处理方法有待进一步研究。操作简单、净化力强的样品前处理方法结合高灵敏度、高选择性的荧光检测，是实现人体生物样本中 PAHs 高通量分析的必然选择。将为大规模监测职业暴露人群体内 PAHs 的暴露种类、负荷水平及变化趋势，评估其内暴露健康风险提供强有力技术支撑。

1.2 本标准与国内外标准关系的说明

经查询 ISO、IEC、DIN、AFNOR、AENOR、GOSTR、ANSI、BSI、SAC 等多个国内外标准组织、机构，有关多环芳烃的标准主要集中在环境（土壤、水、空气、颗粒物、淤泥、室内空气等）、食品（水产品、脂肪、油脂等）、纺织品、电子产品、橡胶及其制品、皮革、涂料、食品接触材料、排放监测等，暂无血清等生物样本中多环芳烃检测的相关标准。

2 标准起草工作简况

2.1 任务来源

根据《广东省分析测试协会关于下达 2022 年第一批团体标准立项的公告》（粤测协字〔2022〕16 号），广东省分析测试协会下达了编制“职业暴露人群血清

中多环芳烃的测定 高效液相色谱法”的项目计划，项目计划编号为：GAIA/JH20220102，任务书起止时间为：2022 年 11 月至 2023 年 11 月。广州市疾病预防控制中心承担该标准的制订工作。

2.2 起草单位、起草人

(1) 起草单位和参与单位

本方法起草单位有：广州市疾病预防控制中心。

本方法参与单位有：广东省人民医院，广州市白云区疾病预防控制中心，南方医科大学。

(2) 起草人及主要工作

主要起草人有谭磊、邓芬芳、周思、彭荣飞、廖佳、朱海燕、安然、潘加亮、李国威、朱惠扬，起草人员负责方法制定工作的组织、协调，相关资料的查阅、收集，标准文本及编制说明的起草、撰写，组织召开多次研讨会，通过电子邮件、传真等方式，征集、整理和归纳相关的意见和建议。

表 2 主要工作成员所负责的工作情况

起草人	工作职责
谭磊	负责标准的编写，实验方案确定
邓芬芳	负责实验，开展回收率、精密度等方法学研究
周思	负责样品前处理条件、色谱条件的优化
彭荣飞	标准编写材料的收集及组织协调
廖佳、朱海燕	样品的采购和方法验证
安然、潘加亮	负责标准的工作指导，标准规范化把关，提供理论支撑等
李国威、朱惠扬	收集统计验证数据

2.3 主要工作过程

1、标准编制项目于 2022 年 11 月获得立项，2022 年 12 月开始征集遴选参编单位，2023 年 1 月成立标准起草工作组，确定了项目组各成员的工作任务与安排。项目小组进行资料收集、整理。在深入讨论基础上，确定了方法技术方案。

2、2023 年 2-3 月，采购标准物质、试剂、耗材和实验样品。

3、2023 年 4-7 月，开展方法学研究包括样品前处理条件、色谱条件等仪器条件优化。完成方法的线性范围、回收率、精密度、检出限、定量限等技术指标试验。

4、2023 年 8-9 月开展方法实验室间协同验证试验，由南方医科大学卫生检测中心、安捷伦科技（中国）有限公司广州分公司、广州市白云区疾病预防控制中心 3 家单位对该方法进行验证。

5、2023 年 10 月，根据验证结果和建议，对本标准方法进行完善，并完成《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法》(征求意见稿)及编制说明。

6、2023 年 XX 月，广泛征集高校、科研院所、企业单位等相关领域的专家意见，对专家意见进行汇总，根据专家意见对征求意见稿进行修改，完成《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法》(送审稿)及相应的编制说明，并于 2023 年 XX 月 XX 日向广东省分析测试协会提交送审申请。

3 标准编制原则和确定标准主要内容的论据

3.1 标准的编制原则

本标准主要按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写规则》、GB/T 16631-2008 《高效液相色谱法通则》、GB/T 8170 《数值修约规则与极限数值的表示和判定》进行编写。本标准的制定主要遵循以下原则：

- 1) 方法的检出限和测定范围满足环境污染物内暴露的监测要求；
- 2) 建立的标准分析方法准确度高、精密度好，能满足各项方法特性指标的要求；

- 3) 建立的标准分析方法具有科学性、先进性和可操作性，易于推广使用；
- 4) 标准内容符合国家法律、法规的有关要求，未与已有标准冲突。

3.2 确定标准主要内容的论据

按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写规则》、GB/T 16631-2008 《高效液相色谱法通则》、GB/T 8170 《数值修约规则与极限数值的表示和判定》的有关要求，确定了本标准的主要内容应包括以下十个部分：范围、规范性引用文件、原理、试剂与材料、仪器和设备、试样的制备与保存、分析步骤、结果计算和表示、方法的灵敏度、准确度和精密度。

4 方法研究报告

4.1 方法研究的目标

建立适用于血清样品中 15 种多环芳烃浓度检测的高效液相色谱法，确定方法的检出限、定量下限、准确度、精密度等参数，并进行方法验证，确定方法的可行性和适用性。

4.2 方法原理

血清样品经乙腈萃取冷冻沉淀蛋白，高速离心后取上清液，用高效液相色谱串联荧光检测器进行测定，外标法定量。

4.3 试剂和材料

- a) 水：GB/T 6682 所规定的一级水。
- b) 乙腈 (CH₃CN)：质谱纯。
- c) 标准品

16种多环芳烃混合标准溶液（美国AccuStandard公司，批号215111054），浓度分别为萘49.44 μg/mL，苊 25.00 μg/mL，芴 39.55 μg/mL，菲 30.26 μg/mL，蒽 24.98 μg/mL，荧蒽 40.30 μg/mL，芘 39.72 μg/mL，蒾 20.00 μg/mL，苯并[a]

蒽 10.10 μg/mL, 苯并[b]蒽 25.22 μg/mL, 苯并[k]蒽 10.06 μg/mL, 苯并[a]芘 20.00 μg/mL, 二苯并[a, h]蒽 39.90 μg/mL, 苯并[g, h, i]芘 24.70 μg/mL, 茚并[1, 2, 3-cd]芘 24.88 μg/mL。

警告——多环芳烃是已知致癌、致畸、致突变的物质，并且致癌性随着苯环数的增加而增加。进行标准溶液配制等操作时应特别注意安全防护，应在通风柜中操作，尽量减少暴露。

d) 标准溶液制备

多环芳烃标准中间液I: 吸取16种多环芳烃混合标准溶液1.0 mL于10 mL容量瓶中，用乙腈定容至刻度，混匀，将溶液转移至棕色玻璃瓶中，-18 °C下避光保存，保存期1个月。

多环芳烃标准中间液II: 吸取多环芳烃标准中间液I 0.2 mL于10 mL容量瓶中，用乙腈定容至刻度，混匀，将溶液转移至棕色玻璃瓶中，-18 °C下避光保存，保存期7天。

多环芳烃标准系列工作液: 分别吸取多环芳烃标准中间液II 0.10 mL、0.25 mL、0.50 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.5 mL，用乙腈定容至10 mL，得到标准系列工作液，浓度见表3，临用现配。

表 3 15 种 PAHs 的标准系列溶液浓度 (ng/mL)

PAHs	系列 1	系列 2	系列 3	系列 4	系列 5	系列 6
萘	1.00	2.50	5.00	10.00	15.00	25.00
苊	0.50	1.25	2.50	5.00	7.50	12.50
芴	0.80	2.00	4.00	8.00	12.00	20.00
菲	0.60	1.50	3.00	6.00	9.00	15.00
蒽	0.50	1.25	2.50	5.00	7.50	12.50
荧蒽	0.80	2.00	4.00	8.00	12.00	20.00
芘	0.80	2.00	4.00	8.00	12.00	20.00
屈	0.40	1.00	2.00	4.00	6.00	10.00
苯并[a]蒽	0.20	0.50	1.00	2.00	3.00	5.00
苯并[b]蒽	0.50	1.25	2.50	5.00	7.50	12.50
苯并[k]蒽	0.20	0.50	1.00	2.00	3.00	5.00

苯并[a]芘	0.40	1.00	2.00	4.00	6.00	10.00
二苯并[a, h]蒽	0.80	2.00	4.00	8.00	12.00	20.00
苯并[g, h, i]芘	0.50	1.25	2.50	5.00	7.50	12.50
茚并[1, 2, 3-cd]芘	0.50	1.25	2.50	5.00	7.50	12.50

4.4 仪器和设备

- a) 高效液相色谱仪：配荧光检测器。
- b) 涡旋混合器。
- c) 低温离心机：转速不低于10 000 r/min。
- d) 移液器：量程10 μ L~100 μ L和100 μ L~1000 μ L。

4.5 样品

4.5.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试血清，混合均匀。

- a) 取混匀后的供试样品，作为供试试样；
- b) 取混匀后的空白样品，作为空白试样；

在处理样本时，应严格遵从对潜在生物传染性样本处理的相关规定，使用时遵循生物安全规则，并根据规定对废物进行处理。

4.5.2 样本用量

一般用量为0.1 mL~1.0 mL，为保证取样的准确性和操作可行性，最小取样量不宜低于0.1 mL。

4.5.3 试料的保存

-70 $^{\circ}$ C以下保存，不可反复冻融。

4.6 分析步骤

4.6.1 提取

血清样品室温解冻后，用移液枪准确移取试样100 μ L置于1.5 mL离心管中，

加入300 μL 乙腈，涡旋2 min， $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻2 h沉淀蛋白，10 000 r/min低温离心5 min，取上清液，供高效液相色谱测定。

4.6.2 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：PAH C_{18} 色谱柱（250 mm \times 4.6 mm，5 μm ），或相当者。
- b) 检测器：荧光检测器。
- c) 流动相：乙腈和水，梯度洗脱条件见表4。

表4 液相色谱梯度洗脱条件

时间 (min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	40.0	60.0
25.00	0.0	100.0
38.00	0.0	100.0
40.00	40.0	60.0
50.00	40.0	60.0

- d) 流速：1.2 mL/min。
- e) 柱温：27 $^{\circ}\text{C}$ 。
- f) 进样量：20 μL 。
- g) 检测波长：激发和发射波长见表5。

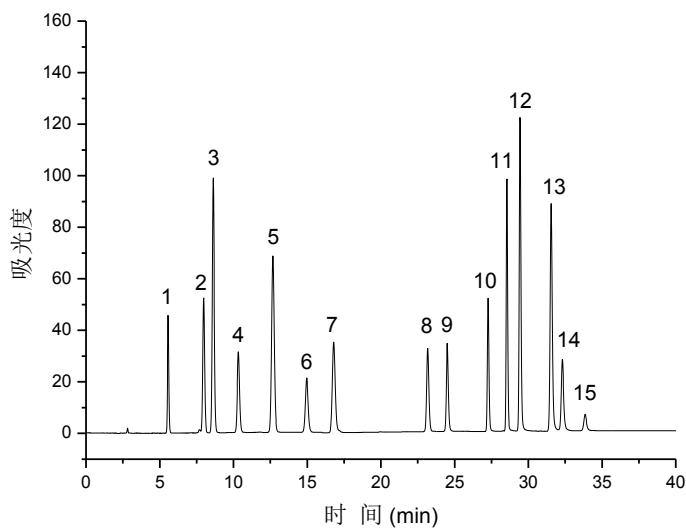
表5 多环芳烃的激发波长、发射波长及切换色谱时间检测参数

时间 (min)	激发波长 (nm)	发射波长 (nm)
0.0	280	324
9.5	254	350
12.0	254	400
14.0	280	450
16.0	305	378
19.0	275	385
23.8	275	363
26.0	290	430

29.0	290	410
33.0	290	500

4.6.3 标准曲线的制作

准确移取15种PAHs混合标准溶液，用乙腈逐级稀释，配制标准系列溶液。将标准系列工作液分别注入液相色谱仪中，测得相应的峰面积，以标准工作液的质量浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。标准溶液的液相色谱图见图1。



注：1：萘；2：苊；3：芴；4：菲；5：蒽；6：荧蒽；7：芘；8：苯并[a]蒽；9：屈；10：苯并[b]荧蒽；11：苯并[k]荧蒽；12：苯并[a]芘；13：二苯并[a,h]蒽；14：苯并[g, h, i]花；15：茚并[1, 2, 3-cd]芘。

图 1 15 种 PAHs 混合标准溶液的色谱图

表 6 15 种多环芳烃 HPLC-荧光检测器法的保留时间、线性范围、回归方程

序号	PAHs	保留时间 (min)	线性范围 (ng/mL)	回归方程	相关系数 (<i>r</i>)
1	萘	5.57	1.000~25.00	$y=116\ 544.1x+10\ 255.6$	0.999 99
2	苊	7.98	0.500~12.50	$y=371\ 830.6x-3\ 448.3$	0.999 98
3	芴	8.63	0.800~20.00	$y=472\ 794.2x-7\ 700.1$	0.999 98
4	菲	10.34	0.600~15.00	$y=228\ 830.0x+14\ 511.4$	0.999 94

5	葱	12.67	0.500~12.50	y=684 921.5x-13 720.6	0.999 99
6	荧葱	14.97	0.800~20.00	y=141 023.8x-2 507.1	0.999 98
7	芘	16.80	0.800~20.00	y=243 832.0x-7 760.2	0.999 97
8	屈	24.50	0.400~10.00	y=328 454.0x-7 162.3	0.999 99
9	苯并[a]葱	23.17	0.200~5.00	y=669 130.7x-8 001.3	0.999 99
10	苯并[b]荧葱	27.28	0.500~12.50	y=305 864.4x-12 898.0	0.999 98
11	苯并[k]荧葱	28.54	0.200~5.00	y=1 328 926x-21 627.2	0.999 98
12	苯并[a]芘	27.44	0.400~10.00	y=965 636.8x-40 131.9	0.999 98
13	二苯并[a, h]葱	31.85	0.800~20.00	y=441 976.6x-33 652.4	0.999 99
14	苯并[g, h, i]芘	32.31	0.500~12.50	y=265 561.0x-23 688.9	0.999 95
15	茚并[1, 2, 3-cd]芘	33.85	0.500~12.50	y=67 106.5x-11 322.8	0.999 94

4.6.4 试样溶液的测定

将试样待测液注入液相色谱仪中，以保留时间定性，测得相应的峰面积，根据标准曲线得到试样待测液中多环芳烃的质量浓度。如果试样待测液中被测物质的响应值超出仪器检测的线性范围，可适当稀释后测定。

4.6.5 空白试验

除不加试样外，均按照上述测定步骤进行。

4.7 结果计算和表述

试样中多环芳烃的含量 X_i 按式（1）计算。

$$X_i = \frac{C_i \times V}{V_i} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X_i — 试样中多环芳烃 i 的浓度，单位为单位为纳克每毫升（ng/mL）；

C_i — 标准曲线求得试样中多环芳烃 i 的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V — 试样溶液定容体积，单位为微升（ μL ）；

V_i — 试样溶液取样体积，单位为微升（ μL ）；

注：计算结果需扣除空白值。测定结果用两次平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

4.8 方法的灵敏度、准确度和精密度

4.8.1 灵敏度

以 3 倍基线噪声（ $S/N=3$ ）时各化合物的浓度为仪器检出限，以 10 倍基线噪声（ $S/N=10$ ）时各化合物的浓度为仪器定量下限。检出限与定量下限结果见表 7。

表 7 多环芳烃的检出限、定量下限

序号	化合物	检出限 (ng/mL)	测定下限 (ng/mL)
1	萘	0.30	1.00
2	蒽	0.20	0.50
3	芴	0.30	1.00
4	菲	0.20	0.50
5	蒽	0.20	0.50
6	荧蒽	0.30	1.00
7	芘	0.30	1.00
8	苯并[a]蒽	0.20	0.50
9	屈	0.20	0.50
10	苯并[b]荧蒽	0.20	0.50
11	苯并[k]荧蒽	0.20	0.50
12	苯并[a]芘	0.20	0.50
13	二苯并[a, h]蒽	0.30	1.00
14	苯并[g,h,i]芘	0.20	0.50
15	茚并[1,2,3-cd]芘	0.20	0.50

本方法芘、菲、蒽、苯并[a]蒽、屈、苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]芘、苯并[g,h,i]芘、茚并[1,2,3-cd]芘检出限为0.20 ng/mL，定量限为0.50 ng/mL。萘、芴、荧蒽、芘、二苯并[a,h]蒽检出限为0.30 ng/mL，定量限为1.00 ng/mL。

4.8.2 准确度和精密度

向空白血清样品中分别加入低、高两个浓度水平的PAHs混合标准溶液进行加标回收实验，平行6次，分别测定并计算平均值、标准偏差、平均回收率和相对标准偏差，结果见表8-9。

表8 低浓度空白基质加标实验 (n=6)

序号	化合物	加标值 (ng/mL)	测定值 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	平均回收 率 (%)	RSD (%)
1	萘	30.0	23.5 ± 0.56	78.3	2.4
2	芴	15.0	11.8 ± 0.40	78.7	3.4
3	芴	24.0	19.1 ± 0.97	79.6	5.1
4	菲	18.0	14.1 ± 0.76	78.3	5.4
5	蒽	15.0	13.7 ± 0.84	91.3	6.1
6	荧蒽	24.0	18.9 ± 0.85	78.8	4.5
7	芘	24.0	18.5 ± 1.0	77.1	5.4
8	屈	12.0	9.18 ± 0.51	76.5	5.6
9	苯并[a]蒽	6.0	4.59 ± 0.32	76.5	7.0
10	苯并[b]荧蒽	15.0	11.3 ± 0.51	75.3	4.5
11	苯并[k]荧蒽	6.0	4.47 ± 0.34	74.5	7.6
12	苯并[a]芘	12.0	8.97 ± 0.44	74.8	4.9
13	二苯并[a, h]蒽	24.0	17.6 ± 0.49	73.3	2.8
14	苯并[g, h, i]芘	15.0	11.4 ± 0.40	76.0	3.5
15	茚并[1, 2, 3-cd]芘	15.0	10.9 ± 0.50	72.7	4.6

表9 高浓度空白基质加标实验 (n=6)

序号	化合物	加标值 (ng/mL)	测定值 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	平均回收 率 (%)	RSD (%)
1	萘	60.0	46.9±0.71	78.2	1.5
2	蒽	30.0	23.8±0.67	79.3	2.8
3	芴	48.0	42.1±1.9	87.8	4.5
4	菲	36.0	28.2±0.68	78.3	2.4
5	葱	30.0	23.6±1.1	78.7	4.8
6	荧葱	48.0	39.8±1.6	82.9	4.0
7	苊	48.0	37.5±1.3	78.1	3.5
8	屈	24.0	18.5±0.65	77.1	3.5
9	苯并[a]葱	12.0	9.33±0.63	77.8	6.8
10	苯并[b]荧葱	30.0	22.9±0.78	76.3	3.4
11	苯并[k]荧葱	12.0	9.12±0.59	76.0	6.5
12	苯并[a]苊	24.0	18.2±0.69	75.8	3.8
13	二苯并[a, h]葱	48.0	35.7±0.82	74.4	2.3
14	苯并[g, h, i]花	30.0	21.4±0.55	71.3	2.6
15	茚并[1, 2, 3-cd]苊	30.0	21.7±0.82	72.3	3.8

表8至表9可以看出，不同浓度的空白加标样品，回收率在71.3%~91.3%，说明方法的准确度良好；相对标准偏差在1.5%~7.6%，说明方法的精密度良好。

5 方法验证

5.1 方法验证方案

5.1.1 方法验证单位

标准起草工作小组组织3个单位，包括南方医科大学、安捷伦科技（中国）有限公司、广州市白云区疾病预防控制中心对本标准方法进行了验证。各验证单

位都具有开展验证实验的实验室条件，因此要求所有成员都对本标准进行了方法验证及实际样品测试。

5.1.2 测试要求

(1) 标准曲线：由各单位根据实际实验条件及器皿规格自行配置标准曲线，要求相关系数 r 大于 0.999，且所有样品浓度落在线性范围内。

(2) 检出限和测定下限：以信噪比 $(S/N) \geq 3$ 时的浓度作为检出限，以 $(S/N) \geq 10$ 时的浓度作为定量下限。

(3) 方法精密度：向空白血清样品中分别加入低、中、高三个浓度水平的多环芳烃混合标准溶液，每浓度制备 6 个平行样品，通过测定结果计算回收率和相对标准偏差 (RSD)。

(4) 方法准确度：各验证实验室对三个样品分别做加标测定，加标浓度分别为 1.50, 3.00, 6.00 ng/mL，分别计算不同浓度样品的加标回收率。

(5) 实际样品测试：每个样品平行测试两次，得到两次测试结果及平均结果。

5.1.3 试样的制备及分析

血清样品室温解冻后，用移液枪准确移取试样 100 μ L 置于 1.5 mL 离心管中，加入 300 μ L 乙腈，涡旋 2 min，-20 $^{\circ}$ C 冷冻 2 h 沉淀蛋白，10 000 r/min 低温离心 5 min，取上清液，供高效液相色谱测定。

5.2 方法验证过程

筛选了有资历的验证单位，并提供方法草案、验证方案、标准溶液和验证报告格式。验证单位按照验证方案准备实验用品，在规定时间内完成验证实验并反馈验证结果报告。在方法验证前，参加验证的操作人员应熟悉和掌握方法原理、操作步骤及流程。方法验证过程中所用的试剂和材料、仪器和设备及分析步骤应符合方法相关要求。

5.3 方法验证结果

5.3.1 线性范围和相关系数

配制系列标准工作溶液，以目标化合物的浓度为横坐标，以色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，结果见表 10。

表 10 多环芳烃的线性范围、相关系数

序号	物质	实验室 1		实验室 2		实验室 3	
		线性范围 (ng/mL)	相关系 数(<i>r</i>)	线性范围 (ng/mL)	相关 系数 (<i>r</i>)	线性范围 (ng/mL)	相关 系数 (<i>r</i>)
1	萘	0.200-5.00	0.99942	0.200-5.00	0.9992	0.200-5.00	0.9998
2	蒽	0.200-5.00	0.99977	0.200-5.00	0.9995	0.200-5.00	0.9998
3	芴	0.200-5.00	0.99969	0.200-5.00	0.9999	0.200-5.00	0.9997
4	菲	0.200-5.00	0.99992	0.200-5.00	0.9990	0.200-5.00	0.9999
5	蒽	0.200-5.00	0.99996	0.200-5.00	0.9999	0.200-5.00	0.9998
6	荧蒽	0.200-5.00	0.99997	0.200-5.00	0.9998	0.200-5.00	0.9998
7	芘	0.200-5.00	0.99981	0.200-5.00	0.9999	0.200-5.00	0.9999
8	苯并[a] 蒽	0.200-5.00	0.99995	0.200-5.00	0.9999	0.200-5.00	0.9999
9	屈	0.200-5.00	0.99997	0.200-5.00	0.9999	0.200-5.00	0.9998
10	苯并[b]荧 蒽	0.200-5.00	0.99996	0.200-5.00	0.9999	0.200-5.00	0.9998
11	苯并[k]荧 蒽	0.200-5.00	0.99994	0.200-5.00	0.9999	0.200-5.00	0.9998
12	苯并[a] 芘	0.200-5.00	0.99997	0.200-5.00	0.9994	0.200-5.00	0.9998
13	二苯并 [a, h]蒽	0.200-5.00	0.99995	0.200-5.00	0.9998	0.200-5.00	0.9997
14	苯并	0.200-5.00	0.99995	0.200-5.00	0.9993	0.200-5.00	0.9997

	[g,h,i]茈 萘并						
15	[1,2,3-cd] 茈	0.200-5.00	0.99982	0.200-5.00	0.9993	0.200-5.00	0.9997

5.3.2 检出限和测定下限

以 3 倍基线噪声 (S/N=3) 时各化合物的浓度为仪器检出限, 以 10 倍基线噪声 (S/N=10) 时各化合物的浓度为仪器定量下限。检出限与定量下限结果见表 11。

表 11 多环芳烃的检出限、定量下限

序号	物质	实验室 1		实验室 2		实验室 3	
		检出限 (ng/mL)	测定下 限 (ng/mL)	检出限 (ng/mL)	测定下 限 (ng/mL)	检出限 (ng/mL)	测定下 限 (ng/mL)
1	萘	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
2	蒽	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
3	芴	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
4	菲	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
5	蒽	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
6	荧蒽	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
7	茈	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
8	苯并[a]蒽	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
9	屈	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
10	苯并[b]荧 蒽	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
11	苯并[k]荧 蒽	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
12	苯并[a]茈	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
13	二苯并[a,	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600

	h]葱						
14	苯并[g,h,i] 花 茛并	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600
15	[1,2,3-cd] 芘	0.300	0.600	0.300	0.600	0.300	0.600

5.3.3 准确度和精密度

在空白血清样品中分别加入低、中、高三个浓度水平的多环芳烃混合标准溶液,每浓度制备 6 个平行样品,通过测定结果计算回收率和相对标准偏差(RSD),考察方法的准确度和精密度,结果列于表 12。

表 12 血清样品中多环芳烃的平均加标回收率及相对标准偏差(n=6)

序号	物质	添加浓度 (ng/mL)	实验室 1		实验室 2		实验室 3	
			平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	萘	1.50	104.3	9.3	96.2	4.2	100.8	8.6
		3.00	104.7	6.6	107.7	7.8	112.9	5.0
		6.00	102.3	6.1	106.5	5.0	112.3	5.1
2	芘	1.50	100.6	8.0	91.7	7.7	93.9	2.0
		3.00	99.7	3.7	100.9	6.3	93.7	3.6
		6.00	93.1	4.5	103.1	2.4	94.8	2.4
3	芴	1.50	110.5	9.0	98.5	2.8	103.6	3.3
		3.00	108.8	3.3	101.5	7.0	101.1	5.4
		6.00	98.5	6.5	104.0	5.9	90.5	7.1
4	菲	1.50	77.7	3.9	101.7	9.3	100.1	7.5
		3.00	94.4	7.0	101.7	9.7	91.4	9.0
		6.00	89.1	5.0	102.3	3.4	91.3	7.3
5	葱	1.50	101.7	7.4	105.2	2.6	88.0	1.8
		3.00	102.1	7.3	103.7	5.2	90.0	4.0

		6.00	97.4	4.4	103.7	5.4	90.6	3.4
		1.50	102.9	3.4	97.3	0.9	96.3	5.6
6	荧蒽	3.00	101.2	6.5	99.1	7.0	94.4	4.0
		6.00	96.9	4.2	97.9	4.7	93.0	2.0
		1.50	85.6	9.0	107.2	2.7	86.0	2.4
7	芘	3.00	92.6	8.7	101.5	5.9	89.8	3.2
		6.00	91.2	3.8	95.7	5.2	93.3	8.1
	苯并[a]	1.50	93.3	7.3	97.9	2.5	86.8	1.7
8	蒽	3.00	97.5	5.8	100.5	4.2	89.4	4.3
		6.00	93.4	5.3	95.9	6.3	90.6	4.0
		1.50	93.8	7.6	99.3	2.4	85.2	1.6
9	屈	3.00	97.4	7.0	96.0	4.8	89.5	4.1
		6.00	94.0	5.2	94.5	6.0	91.2	6.9
	苯并[b]	1.50	93.5	7.4	97.5	3.7	85.0	1.9
10	荧蒽	3.00	95.7	8.1	95.4	4.5	87.9	5.2
		6.00	92.8	5.2	93.9	5.7	90.4	5.9
		1.50	94.5	6.9	97.8	1.9	83.2	1.6
11	苯并[k]	3.00	97.2	5.9	95.7	4.7	86.9	4.4
	荧蒽	6.00	92.6	5.2	94.6	5.3	89.8	5.1
		1.50	89.4	7.1	117.2	1.2	82.5	1.4
12	苯并[a]	3.00	94.4	7.1	115.9	1.2	86.4	4.5
	芘	6.00	91.0	5.1	117.6	1.8	91.6	9.5
		1.50	88.6	6.9	99.7	2.4	80.4	2.0
13	二苯并	3.00	93.2	8.0	93.6	4.6	85.3	4.5
	[a, h]蒽	6.00	89.9	4.9	91.3	5.9	86.2	2.1
		1.50	79.9	4.1	105.7	6.8	85.0	3.5
14	苯并	3.00	87.6	4.4	98.1	4.2	85.5	4.0
	[g,h,i]花	6.00	83.9	3.7	95.9	6.5	89.6	8.5
15	茚并	1.50	93.7	8.6	95.1	6.6	81.7	6.8

[1,2,3-cd	3.00	95.5	6.6	92.2	5.6	83.5	1.5
]芘	6.00	88.8	6.0	92.5	7.8	85.7	4.3

5.3.4 实际样品测定结果

表 13 血清样品测定结果

序号	物质	实验室 1		实验室 2		实验室 3	
		平均值 (ng/m L)	相对偏 差 (%)	平均值 (ng/m L)	相对偏 差 (%)	平均值 (ng/m L)	相对偏差 (%)
1	萘	1.23	8.3	2.08	3.6	1.20	3.8
2	芘	--	--	--	--	--	--
3	芴	--	--	--	--	--	--
4	菲	1.38	8.1	2.79	3.4	1.18	10.9
5	蒽	--	--	--	--	--	--
6	荧蒽	--	--	--	--	--	--
7	芘	--	--	--	--	--	--
8	苯并[a]蒽	--	--	--	--	--	--
9	屈	--	--	--	--	--	--
10	苯并[b]荧 蒽	--	--	--	--	--	--
11	苯并[k]荧 蒽	--	--	--	--	--	--
12	苯并[a]芘	--	--	--	--	--	--
13	二苯并[a, h]蒽	--	--	--	--	--	--
14	苯并[g,h,i] 花	--	--	--	--	--	--
15	茚并 [1,2,3-cd] 芘	--	--	--	--	--	--

注：--为小于方法检出限。

6 与现行法律、法规、政策及相关标准协调性

本标准与现行相关法律、法规、政策及相关标准协调一致。符合现行相关法律、法规和政策及相关标准的规定。

7 重大意见分歧的处理依据和结果

本标准的编写过程中无重大分歧意见。

8 预期的社会效益及贯彻实施标准的要求、措施等建议

8.1 预期的社会效益

本标准实施可以为不同层次的实验室提供适宜的方法,为血清中多环芳烃的测定提供支持。本方法的实施将为大规模监测职业暴露人群体内 PAHs 的暴露种类、负荷水平及变化趋势,评估其内暴露健康风险提供强有力技术支撑。本方法的实施为 PAHs 的污染防治提供基础数据以及 PAHs 人群健康风险评估提供参考依据。本方法颁布具有重要的社会意义。

8.2 贯彻实施标准的要求和措施建议

本标准发布后,建议起草单位和广东省分析测试协会联合向相关检测机构开展标准的培训和宣贯。

9 附件材料（方法验证报告）

附件 1：方法验证报告-南方医科大学

附件 2：方法验证报告-安捷伦科技（中国）有限公司

附件 3：方法验证报告-广州市白云区疾病预防控制中心

10 其他应当说明的事项

无

职业暴露人群血清中多环芳烃的测定

高效液相色谱法

方法验证报告

项目名称 职业暴露人群血清中多环芳烃的测定
高效液相色谱法

委托单位 广州市疾病预防控制中心

委托时间 2023年8月21日

验证单位 南方医科大学卫生检测中心

验证时间 2023年8月25日 - 2023年9月5日



一. 验证内容

对广州市疾病预防控制中心提供的《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。样品基质：血清。

二. 高效液相色谱法验证结果

1. 仪器条件

1.1 仪器及型号：超高效液相色谱仪 Waters ACQUITY Arc。

1.2 色谱柱：PAH C18 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm，Waters）

1.3 色谱条件：

a) 流动相：水-乙腈溶液；

b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	40.0	60.0
25.00	0.0	100.0
38.00	0.0	100.0
40.00	40.0	60.0
50.00	40.0	60.0

c) 流速：1.20 mL/min；

d) 柱温：27°C；

e) 进样量：20 μL。

1.4 荧光检测器条件：检测器的激发波长和发射波长设置如表 2 所示。

表 2 荧光检测通道设定

时间(min)	激发波长(nm)	发射波长(nm)
0.00	280	324
9.50	254	350
12.00	254	400
14.00	280	450
16.00	305	378
19.00	275	385
23.80	275	363
26.00	290	430
29.00	290	410
33.00	290	500

2. 方法学评价

2.1 线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限如表 3 所示。

表 3 多环芳烃的线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

序号	化合物	回归方程	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 (r)	方法检 出限 ($\mu\text{g/L}$)	方法定 量限 ($\mu\text{g/L}$)
1	萘	$Y = 7.57e+04 X - 3.32e+03$	0.200-5.00	0.99942	0.300	0.600
2	蒽	$Y = 2.57e+05 X - 7.11e+03$	0.200-5.00	0.99977	0.300	0.600
3	芴	$Y = 2.99e+05 X - 1.06e+04$	0.200-5.00	0.99969	0.300	0.600
4	菲	$Y = 1.35e+05 X - 1.70e+03$	0.200-5.00	0.99992	0.300	0.600
5	葱	$Y = 3.85e+05 X - 4.85e+03$	0.200-5.00	0.99996	0.300	0.600
6	荧葱	$Y = 9.52e+04 X - 2.11e+03$	0.200-5.00	0.99997	0.300	0.600
7	芘	$Y = 1.88e+05 X + 1.02e+04$	0.200-5.00	0.99981	0.300	0.600
8	苯并[a]葱	$Y = 4.04e+05 X + 6.45e+03$	0.200-5.00	0.99995	0.300	0.600
9	屈	$Y = 1.81e+05 X + 2.94e+03$	0.200-5.00	0.99997	0.300	0.600
10	苯并[b]荧葱	$Y = 1.96e+05 X + 1.82e+03$	0.200-5.00	0.99996	0.300	0.600
11	苯并[k]荧葱	$Y = 9.44e+05 X + 5.53e+02$	0.200-5.00	0.99994	0.300	0.600
12	苯并[a]芘	$Y = 6.63e+05 X + 1.43e+04$	0.200-5.00	0.99997	0.300	0.600
13	二苯并[a, h]葱	$Y = 3.13e+05 X + 3.85e+03$	0.200-5.00	0.99995	0.300	0.600
14	苯并[g,h,i]花 茛并	$Y = 1.94e+05 X + 3.30e+03$	0.200-5.00	0.99995	0.300	0.600
15	[1,2,3-cd]芘	$Y = 4.57e+04 X - 3.00e+03$	0.200-5.00	0.99982	0.300	0.600

2.2 方法准确度和精密度如表 4 所示。

表 4 血清样品中多环芳烃的加标回收率及相对标准偏差(n=6)

化合物	添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率%(n=6)						平均回收 率 (%)	RSD (%)
		1	2	3	4	5	6		
萘	1.50	92.6	91.8	109.0	109.6	107.4	115.2	104.3	9.3
	3.00	92.5	101.7	111.6	110.2	106.4	105.9	104.7	6.6
	6.00	109.8	96.2	94.8	100.5	104.8	108.1	102.3	6.1
蒽	1.50	95.2	88.0	111.4	102.4	101.8	104.8	100.6	8.0
	3.00	102.0	100.4	103.4	92.8	100.6	99.0	99.7	3.7
	6.00	93.8	88.4	87.4	95.4	97.3	96.4	93.1	4.5
芴	1.50	114	108.6	91.8	112.0	116.8	119.6	110.5	9.0
	3.00	109.3	110.4	112.1	101.7	109.5	109.6	108.8	3.3
	6.00	98.0	90.5	91.1	102.5	103.7	105.0	98.5	6.5
菲	1.50	75.9	75.3	80.5	74.5	78.3	81.9	77.7	3.9
	3.00	85.7	98.1	93.1	104.7	89.7	95.2	94.4	7.0
	6.00	90.0	84.5	83.8	93.6	88.2	94.5	89.1	5.0
葱	1.50	96.2	89.2	107.0	103.4	106.6	108.0	101.7	7.4
	3.00	106	103.9	106.6	87.1	104.2	104.9	102.1	7.3
	6.00	99.0	92.4	91.8	99.6	99.5	102.0	97.4	4.4
荧葱	1.50	99.0	101.4	108.8	101.0	102.0	105.4	102.9	3.4
	3.00	104.4	102.8	104.1	87.9	104.2	104.0	101.2	6.5

	6.00	99.0	91.7	92.1	97.7	99.2	101.6	96.9	4.2
	1.50	79.6	74.6	91.0	83.0	91.0	94.4	85.6	9.0
芘	3.00	95.4	95.5	98.9	76.5	93.9	95.4	92.6	8.7
	6.00	94.7	87.7	87.1	89.8	94.0	93.9	91.2	3.8
	1.50	87.0	82.8	100.0	95.6	95.6	98.6	93.3	7.3
苯并[a]蒽	3.00	101.7	97.7	101.8	86.5	98.1	99.1	97.5	5.8
	6.00	94.9	87.4	86.8	96.1	98.1	97.0	93.4	5.3
	1.50	87.8	82.6	101.4	96.4	95.8	98.6	93.8	7.6
屈	3.00	102.3	97.7	101.8	83.8	98.9	99.6	97.4	7.0
	6.00	94.9	89.1	86.9	97.5	98.7	97.2	94.0	5.2
	1.50	86.6	83.2	100.2	95.4	96.6	98.8	93.5	7.4
苯并[b]荧蒽	3.00	99.4	96.9	101.2	80.2	97.8	98.8	95.7	8.1
	6.00	94.8	87.5	86.1	95.2	97.0	96.6	92.8	5.2
	1.50	87.8	85.2	101.4	95.6	97.4	99.4	94.5	6.9
苯并[k]荧蒽	3.00	101.1	98.4	101.0	85.8	98.1	98.5	97.2	5.9
	6.00	94.2	86.8	86.4	94.3	97.2	96.6	92.6	5.2
	1.50	82.6	80.8	96.6	90.6	91.4	94.4	89.4	7.1
苯并[a]芘	3.00	98.6	96.4	98.4	81.0	95.5	96.3	94.4	7.1
	6.00	92.8	85.5	84.9	93.2	95.4	94.6	91.0	5.1
	1.50	83.6	79.6	96.8	89.4	90.6	91.6	88.6	6.9
二苯并[a, h]蒽	3.00	98.1	95.6	97.8	78.2	94.5	95.2	93.2	8.0
	6.00	91.7	84.2	84.4	91.7	94.0	93.4	89.9	4.9
	1.50	78.2	74.6	84.0	80.2	80.2	82.0	79.9	4.1
苯并[g,h,i]芘	3.00	91.5	89.8	90.4	81.0	85.9	86.7	87.6	4.4
	6.00	85.2	80.0	80.4	84.4	86.8	87.0	83.9	3.7
	1.50	89.4	81.4	99.2	95.6	104.6	92.2	93.7	8.6
茚并[1,2,3-cd]芘	3.00	100.9	98.8	96.9	84.2	92.4	99.6	95.5	6.6
	6.00	89.8	83.4	81.0	92.1	93.0	93.6	88.8	6.0

3. 样品测定结果

表 5 血清样品测定结果

序号	化合物	测定1 ($\mu\text{g/L}$)	测定2 ($\mu\text{g/L}$)	平均值 ($\mu\text{g/L}$)	相对偏差%
1	蔡	1.18	1.28	1.23	8.3
2	芘	<LOD	<LOD	--	--
3	芘	<LOQ	<LOQ	--	--
4	菲	1.43	1.32	1.38	8.1
5	蒽	<LOD	<LOD	--	--
6	荧蒽	<LOD	<LOD	--	--
7	芘	<LOD	<LOD	--	--
8	苯并[a]蒽	<LOD	<LOD	--	--
9	屈	<LOD	<LOD	--	--
10	苯并[b]荧蒽	<LOD	<LOD	--	--
11	苯并[k]荧蒽	<LOD	<LOD	--	--
12	苯并[a]芘	<LOD	<LOD	--	--

13	二苯并[a, h]蒽	<LOD	<LOD	--	--
14	苯并[g,h,i]花	<LOD	<LOD	--	--
15	茚并[1,2,3-cd]芘	<LOD	<LOD	--	--

注: <LOD 为小于方法检出限, <LOQ 为小于方法定量限。

三. 结论

经过对方法《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法》进行验证实验, 对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。

结果表明: 该方法中多环芳烃的精密度在 3.3%-9.3%之间, 回收率在 74.5%-119.6%之间。

方法能满足职业暴露人群血清中多环芳烃的测定要求, 典型图谱附后。

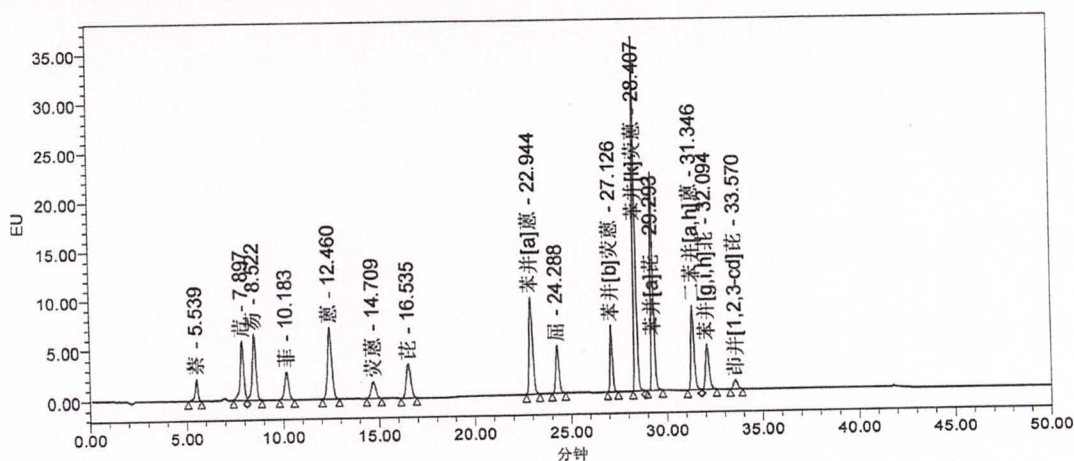


图 1 多环芳烃标准溶液色谱图

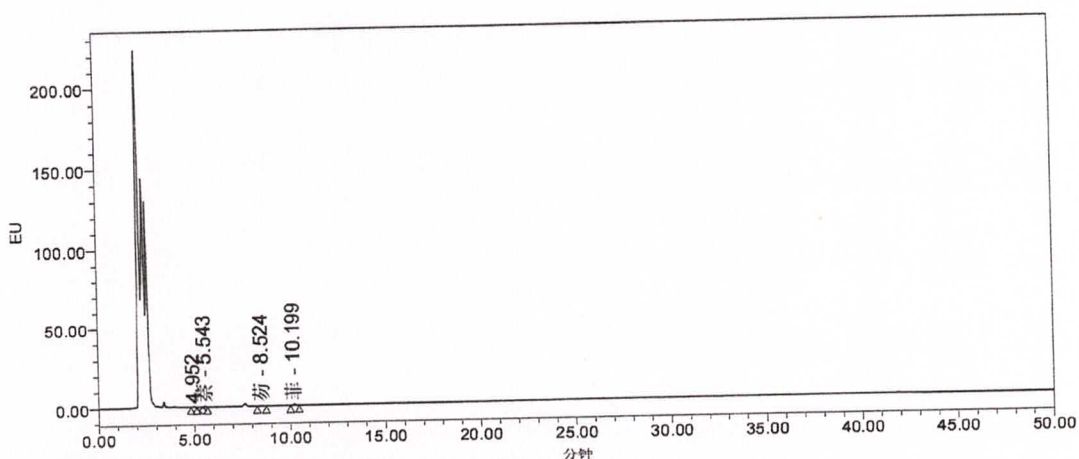


图 2 血清样品色谱图

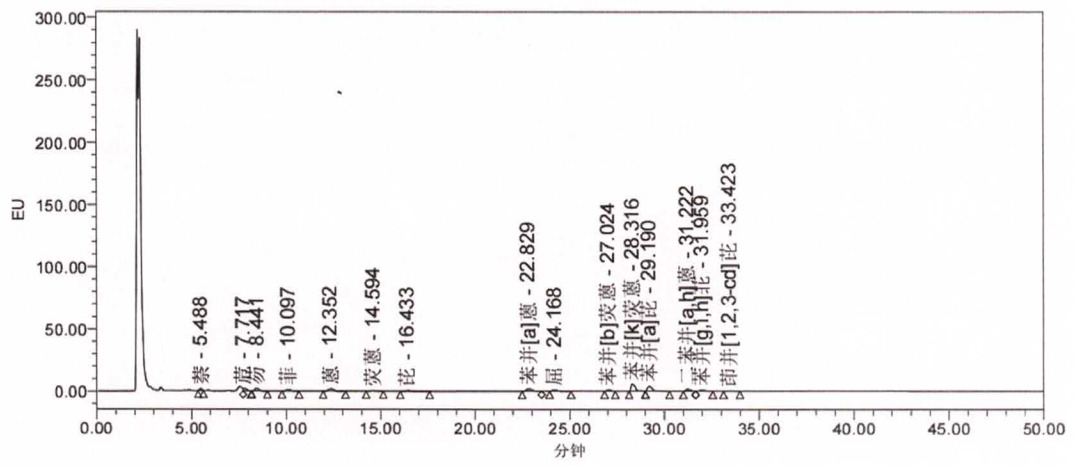


图3 加标血清样品色谱图



附件

职业暴露人群血清中多环芳烃的测定
高效液相色谱法
方法验证报告

项目名称 职业暴露人群血清中多环芳烃的测定
高效液相色谱法

委托单位 广州市疾病预防控制中心

委托时间 2023年8月25日

验证单位 安捷伦科技(中国)有限公司广州分公司

验证时间 2023年9月1日 - 2023年9月12日



一. 验证内容

对广州市疾病预防控制中心提供的《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。样品基质：血清。

二. 高效液相色谱法验证结果

1. 仪器条件

1.1 仪器及型号：Agilent 1260 Infinity II 超高效液相色谱仪-荧光检测器（G7121A）。

1.2 色谱柱：Waters ®PAH C18 色谱柱，250 mm×4.6 mm，5 μm

1.3 色谱条件：

a) 流动相：水-乙腈溶液；

b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	40.0	60.0
25.00	0.0	100.0
38.00	0.0	100.0
40.00	40.0	60.0
50.00	40.0	60.0

c) 流速：1.20 mL/min；

d) 柱温：30°C；

e) 进样量：20 μL。

1.4 荧光检测器条件：检测器的激发波长和发射波长设置如表 2 所示。

表 2 荧光检测通道设定

时间(min)	激发波长(nm)	发射波长(nm)
0.00	280	324
8.40	254	350
9.50	254	400
10.85	280	450
12.00	305	378
15.00	275	385
17.50	275	363
20.00	290	430
22.40	290	430
29.40	250	500

2. 方法学评价

2.1 线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限如表 3 所示。

表3 多环芳烃的线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

序号	化合物	回归方程	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 (r)	方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)	方法定量限 ($\mu\text{g/L}$)
1	萘	$y = 1.2950x + 0.0079$	0.200-5.00	0.9992	0.300	0.600
2	苊	$y = 2.4808x - 0.0904$	0.200-5.00	0.9995	0.300	0.600
3	芴	$y = 8.5105x + 0.3035$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
4	菲	$y = 5.0494x + 0.7648$	0.200-5.00	0.9990	0.300	0.600
5	蒽	$y = 19.9003x - 0.4973$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
6	荧蒽	$y = 1.7870x - 0.0036$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
7	芘	$y = 2.6016x + 0.0087$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
8	苯并[a]蒽	$y = 5.6469x - 0.1327$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
9	屈	$y = 5.5774x - 0.1146$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
10	苯并[b]荧蒽	$y = 3.0428x - 0.0750$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
11	苯并[k]荧蒽	$y = 12.9672x - 0.1831$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
12	苯并[a]芘	$y = 7.7298x - 0.4807$	0.200-5.00	0.9994	0.300	0.600
13	二苯并[a, h]蒽	$y = 5.2692x - 0.2490$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
14	苯并[g, h, i]芘	$y = 5.3364x - 0.2981$	0.200-5.00	0.9993	0.300	0.600
15	茚并[1,2,3-cd]芘	$y = 1.0896x - 0.0835$	0.200-5.00	0.9993	0.300	0.600

2.2 方法准确度和精密度如表 4 所示。

表4 血清样品中多环芳烃的加标回收率及相对标准偏差(n=6)

化合物	添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率%(n=6)						平均回收率 (%)	RSD (%)
		1	2	3	4	5	6		
萘	1.50	94.3	99.3	102.3	96.3	91.5	93.3	96.2	4.2
	3.00	108.3	113.6	118.9	99.3	96.9	109.3	107.7	7.8
	6.00	101.5	108.1	106.1	113.5	110.6	99.4	106.5	5.0
苊	1.50	83.4	82.2	93.8	97.4	98.2	95.0	91.7	7.7
	3.00	101.3	99.9	110.6	96.1	92.6	104.6	100.9	6.3
	6.00	102.5	108.0	102.0	101.4	103.0	101.9	103.1	2.4
芴	1.50	98.8	93.2	101.4	98.6	99.6	99.2	98.5	2.8
	3.00	103.2	109.7	106.8	97.1	89.8	102.2	101.5	7.0
	6.00	97.1	103.7	100.6	107.1	114.4	100.9	104.0	5.9
菲	1.50	104.4	89.6	112.0	98.8	93.4	112.2	101.7	9.3
	3.00	107.4	118.4	96.8	94.7	91.7	101.1	101.7	9.7
	6.00	99.0	107.1	98.8	105.7	100.8	102.7	102.3	3.4
蒽	1.50	109.5	102.1	103.1	104.3	105.1	106.9	105.2	2.6
	3.00	104.9	104.2	108.8	98.3	96.4	109.6	103.7	5.2
	6.00	100.1	106.5	101.0	100.9	114.0	99.9	103.7	5.4
荧蒽	1.50	96.1	96.5	97.1	98.5	97.7	97.9	97.3	0.9
	3.00	102.9	100.4	104.6	92.8	88.6	105.6	99.1	7.0

	6.00	95.9	99.4	96.5	96.5	106.4	93.1	97.9	4.7
	1.50	112.8	107.6	107.0	104.6	106.0	105.4	107.2	2.7
芘	3.00	102.7	103.4	107.7	95.6	92.9	106.5	101.5	5.9
	6.00	92.7	98.0	93.4	93.4	104.9	91.9	95.7	5.2
	1.50	102.4	96.0	95.6	97.6	97.8	98.0	97.9	2.5
苯并[a]蒽	3.00	99.5	101.0	104.3	92.8	101.2	103.9	100.5	4.2
	6.00	93.0	101.1	93.1	92.0	105.8	90.8	95.9	6.3
	1.50	103.6	98.8	96.2	99.2	98.6	99.4	99.3	2.4
屈	3.00	96.5	95.6	101.2	91.6	90.0	100.9	96.0	4.8
	6.00	91.1	97.7	91.9	91.5	104.7	90.1	94.5	6.0
	1.50	104.4	94.6	95.0	97.4	96.0	97.6	97.5	3.7
苯并[b]荧蒽	3.00	95.3	94.7	100.6	91.9	90.0	100.1	95.4	4.5
	6.00	90.0	96.9	92.3	90.7	103.5	90.3	93.9	5.7
	1.50	101.2	96.4	96.0	97.8	97.8	97.6	97.8	1.9
苯并[k]荧蒽	3.00	96.0	95.5	100.5	91.6	89.8	100.8	95.7	4.7
	6.00	91.6	98.8	92.7	91.7	102.9	90.3	94.6	5.3
	1.50	118.6	119.0	115.2	117.2	116.0	117.0	117.2	1.2
苯并[a]芘	3.00	115.8	114.7	115.0	118.5	114.9	116.2	115.9	1.2
	6.00	118.3	118.0	118.2	113.5	118.4	119.5	117.6	1.8
	1.50	104.2	98.0	98.0	98.4	100.0	99.8	99.7	2.4
二苯并[a, h]蒽	3.00	94.1	93.4	98.4	89.2	88.3	98.4	93.6	4.6
	6.00	89.4	94.5	89.4	87.3	100.8	86.7	91.3	5.9
	1.50	114.6	106.8	105.6	92.6	107.4	107.4	105.7	6.8
苯并[g,h,i]芘	3.00	100.4	99.8	98.4	93.4	93.0	103.4	98.1	4.2
	6.00	93.9	101.9	93.0	90.5	105.4	90.8	95.9	6.5
	1.50	100.0	96.0	98.2	83.0	94.2	99.0	95.1	6.6
茚并[1,2,3-cd]芘	3.00	92.8	92.1	98.6	88.1	84.8	96.8	92.2	5.6
	6.00	89.1	96.7	89.9	86.2	105.3	88.1	92.5	7.8

3. 样品测定结果

表 5 血清样品测定结果

序号	化合物	测定1 ($\mu\text{g/L}$)	测定2 ($\mu\text{g/L}$)	平均值 ($\mu\text{g/L}$)	相对偏差%
1	萘	2.05	2.12	2.08	3.6
2	苊	<LOD	<LOD	--	--
3	芴	<LOD	<LOD	--	--
4	菲	2.74	2.84	2.79	3.4
5	蒽	<LOD	<LOD	--	--
6	荧蒽	<LOD	<LOD	--	--
7	芘	<LOD	<LOD	--	--
8	苯并[a]蒽	<LOD	<LOD	--	--
9	屈	<LOD	<LOD	--	--
10	苯并[b]荧蒽	<LOD	<LOD	--	--
11	苯并[k]荧蒽	<LOD	<LOD	--	--
12	苯并[a]芘	<LOD	<LOD	--	--

13	二苯并[a, h]蒽	<LOD	<LOD	--	--
14	苯并[g,h,i]芘	<LOD	<LOD	--	--
15	茚并[1,2,3-cd]芘	<LOD	<LOD	--	--

注：<LOD 为小于方法检出限。

三. 结论

经过对方法《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法》进行验证实验，对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。

结果表明：该方法中多环芳烃的精密度在 0.9%-9.7%之间，回收率在 82.2%-119.5%之间。方法能满足职业暴露人群血清中多环芳烃的测定要求，典型图谱附后。

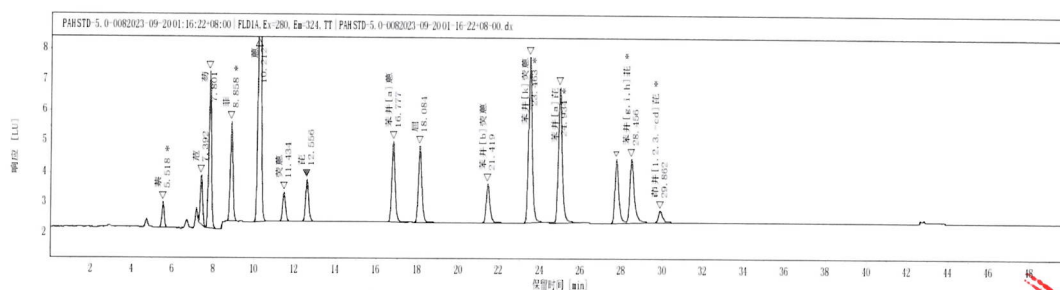


图 1 多环芳烃标准溶液色谱图

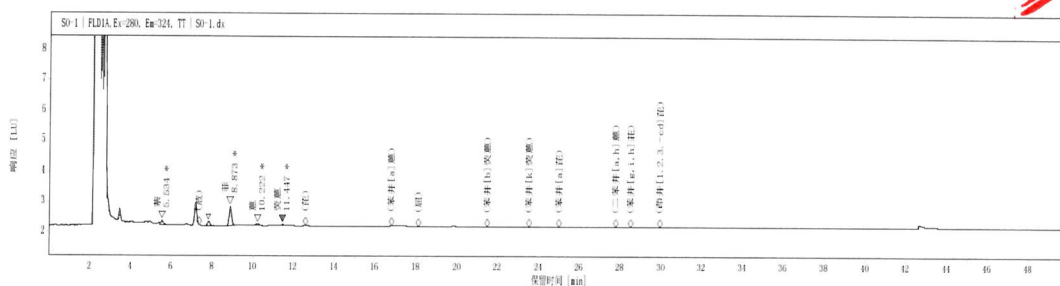


图 2 血清样品色谱图

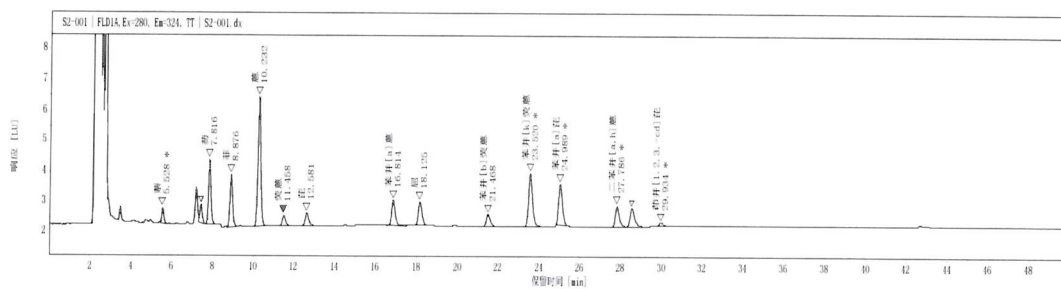


图 3 加标血清样品色谱图

附件

职业暴露人群血清中多环芳烃的测定
高效液相色谱法
方法验证报告


项目名称 职业暴露人群血清中多环芳烃的测定
高效液相色谱法

委托单位 广州市疾病预防控制中心

委托时间 2023年8月25日

验证单位 广州市白云区疾病预防控制中心

验证时间 2023年9月1日 - 2023年9月12日



一. 验证内容

对广州市疾病预防控制中心提供的《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。样品基质：血清。

二. 高效液相色谱法验证结果

1. 仪器条件

1.1 仪器及型号：Waters ACQUITY Arc 超高效液相色谱仪-荧光检测器。

1.2 色谱柱：Waters PAH C18 色谱柱，250 mm×4.6 mm，5 μm

1.3 色谱条件：

a) 流动相：水-乙腈溶液；

b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	40.0	60.0
25.00	0.0	100.0
38.00	0.0	100.0
40.00	40.0	60.0
50.00	40.0	60.0

c) 流速：1.20 mL/min ；

d) 柱温：27°C；

e) 进样量：20 μL。

1.4 荧光检测器条件：检测器的激发波长和发射波长设置如表 2 所示。

表 2 荧光检测通道设定

时间(min)	激发波长(nm)	发射波长(nm)
0.00	280	324
9.50	254	350
12.00	254	400
14.00	280	450
16.00	305	378
19.00	275	385
23.80	275	363
26.00	290	430
29.00	290	410
33.00	290	500

2. 方法学评价

2.1 线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限如表 3 所示。

表3 多环芳烃的线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

序号	化合物	回归方程	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 (r)	方法检 出限 ($\mu\text{g/L}$)	方法定 量限 ($\mu\text{g/L}$)
1	萘	$Y = 7.10e+04 X + 1.04e+03$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
2	蒽	$Y = 2.38e+05 X + 7.65e+03$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
3	芘	$Y = 2.88e+05 X + 1.10e+04$	0.200-5.00	0.9997	0.300	0.600
4	菲	$Y = 1.22e+05 X - 2.10e+03$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
5	蒽	$Y = 3.84e+05 X + 1.25e+04$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
6	荧蒽	$Y = 9.42e+04 X - 1.99e+03$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
7	芘	$Y = 1.85e+05 X + 4.17e+03$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
8	苯并[a]蒽	$Y = 4.02e+05 X + 6.77e+03$	0.200-5.00	0.9999	0.300	0.600
9	屈	$Y = 1.81e+05 X + 3.64e+03$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
10	苯并[b]荧蒽	$Y = 1.96e+05 X + 3.61e+03$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
11	苯并[k]荧蒽	$Y = 9.34e+05 X + 2.95e+04$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
12	苯并[a]芘	$Y = 6.54e+05 X + 1.45e+04$	0.200-5.00	0.9998	0.300	0.600
13	二苯并[a, h]蒽	$Y = 3.06e+05 X + 7.13e+03$	0.200-5.00	0.9997	0.300	0.600
14	苯并[g,h,i]苊	$Y = 1.83e+05 X - 4.20e+03$	0.200-5.00	0.9997	0.300	0.600
15	茚并[1,2,3-cd]芘	$Y = 4.38e+04 X + 3.19e+01$	0.200-5.00	0.9997	0.300	0.600

2.2 方法准确度和精密度如表 4 所示。

表 4 血清样品中多环芳烃的加标回收率及相对标准偏差(n=6)

化合物	添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率%(n=6)						平均回收 率 (%)	RSD (%)
		1	2	3	4	5	6		
萘	1.50	94.9	90.7	98.7	113.5	109.1	98.1	100.8	8.6
	3.00	104.3	113.1	117.4	108.2	116.9	117.8	112.9	5.0
	6.00	104.8	114.8	108.6	108.8	118.8	118.1	112.3	5.1
蒽	1.50	95.2	91.0	93.8	92.4	95.8	95.4	93.9	2.0
	3.00	88.0	95.8	95.0	95.7	96.5	91.4	93.7	3.6
	6.00	93.2	95.1	94.3	92.0	98.5	95.7	94.8	2.4
芘	1.50	108.4	98.6	105.0	104.2	104.4	101.2	103.6	3.3
	3.00	93.7	3.6	93.7	3.6	93.7	3.6	101.1	5.4
	6.00	95.1	96.1	94.6	92.6	82.5	82.1	90.5	7.1
菲	1.50	97.9	91.3	107.1	96.7	96.3	111.1	100.1	7.5
	3.00	87.0	98.9	84.6	90.8	103.8	83.5	91.4	9.0
	6.00	90.7	88.9	91.0	80.5	99.3	97.1	91.3	7.3
蒽	1.50	88.8	87.2	87.2	86.6	87.2	90.8	88.0	1.8
	3.00	83.2	91.2	92.9	91.8	92.0	88.9	90.0	4.0
	6.00	89.5	91.1	91.3	88.2	96.0	87.5	90.6	3.4
荧蒽	1.50	97.8	96.6	93.2	94.2	90.2	106.0	96.3	5.6
	3.00	87.7	92.8	97.7	97.4	96.0	94.6	94.4	4.0

	6.00	93.5	94.0	93.0	90.3	91.6	95.7	93.0	2.0
	1.50	88.0	86.4	86.2	86.2	87.4	82.0	86.0	2.4
芘	3.00	84.8	92.3	91.6	90.6	91.6	87.8	89.8	3.2
	6.00	87.8	90.4	90.8	86.3	105.9	99.0	93.3	8.1
	1.50	88.6	87.0	88.2	85.8	86.4	84.6	86.8	1.7
苯并[a]蒽	3.00	82.1	90.2	91.9	92.2	91.6	88.6	89.4	4.3
	6.00	88.9	89.5	89.8	86.0	96.6	92.7	90.6	4.0
	1.50	86.8	83.6	85.0	85.2	86.6	83.8	85.2	1.6
屈	3.00	83.1	90.4	93.2	92.6	89.8	88.0	89.5	4.1
	6.00	87.7	88.0	88.2	85.0	99.5	98.9	91.2	6.9
	1.50	87.4	83.8	85.6	84.0	85.8	83.2	85.0	1.9
苯并[b]荧蒽	3.00	80.2	91.6	91.4	90.0	89.5	84.6	87.9	5.2
	6.00	87.4	87.9	88.2	85.0	95.7	98.6	90.4	5.9
	1.50	85.2	83.0	83.6	82.0	83.6	81.6	83.2	1.6
苯并[k]荧蒽	3.00	79.9	88.5	89.8	89.3	88.6	85.1	86.9	4.4
	6.00	87.1	88.0	88.2	84.7	95.5	95.5	89.8	5.1
	1.50	83.8	82.4	82.4	80.8	83.8	81.6	82.5	1.4
苯并[a]芘	3.00	79.2	87.8	89.4	88.7	88.4	84.9	86.4	4.5
	6.00	86.2	87.4	87.2	83.7	104.4	100.8	91.6	9.5
	1.50	81.2	81.2	82.4	78.0	80.6	79.2	80.4	2.0
二苯并[a, h]蒽	3.00	78.2	87.0	88.6	87.4	87.1	83.5	85.3	4.5
	6.00	86.3	86.1	86.2	82.9	87.7	88.0	86.2	2.1
	1.50	87.8	87.6	86.8	81.6	85.2	81.2	85.0	3.5
苯并[g,h,i]芘	3.00	78.7	87.0	87.6	87.3	87.0	85.5	85.5	4.0
	6.00	88.3	85.2	84.8	81.4	100.5	97.3	89.6	8.5
	1.50	80.6	79.2	92.0	83.6	77.6	77.4	81.7	6.8
茚并[1,2,3-cd]芘	3.00	82.3	84.3	82.6	82.3	84.3	85.3	83.5	1.5
	6.00	85.5	89.3	83.0	81.5	90.9	84.3	85.7	4.3

3. 样品测定结果

表 5 血清样品测定结果

序号	化合物	测定1 ($\mu\text{g/L}$)	测定2 ($\mu\text{g/L}$)	平均值 ($\mu\text{g/L}$)	相对偏差%
1	蔡	1.18	1.22	1.20	3.8
2	芘	<LOD	<LOD	--	--
3	芘	<LOD	<LOD	--	--
4	菲	1.12	1.25	1.18	10.9
5	蒽	<LOD	<LOD	--	--
6	荧蒽	<LOD	<LOD	--	--
7	芘	<LOD	<LOD	--	--
8	苯并[a]蒽	<LOD	<LOD	--	--
9	屈	<LOD	<LOD	--	--
10	苯并[b]荧蒽	<LOD	<LOD	--	--
11	苯并[k]荧蒽	<LOD	<LOD	--	--
12	苯并[a]芘	<LOD	<LOD	--	--

13	二苯并[a, h]蒽	<LOD	<LOD	--	--
14	苯并[g,h,i]芘	<LOD	<LOD	--	--
15	茚并[1,2,3-cd]芘	<LOD	<LOD	--	--

注：<LOD 为小于方法检出限。

三. 结论

经过对方法《职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法》进行验证实验，对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。

结果表明：该方法中多环芳烃的精密度在 1.4%-9.5%之间，回收率在 77.4%-118.8%之间。方法能满足职业暴露人群血清中多环芳烃的测定要求，典型图谱附后。

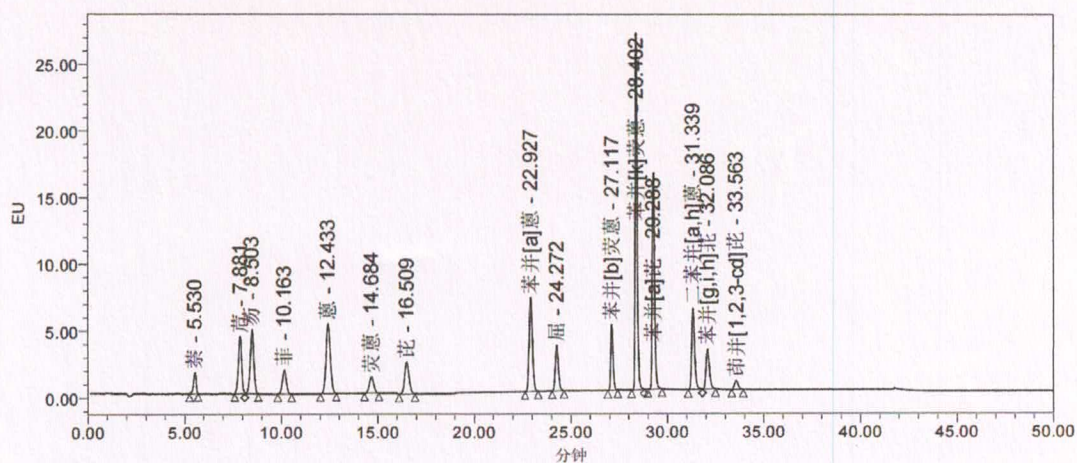


图 1 多环芳烃标准溶液色谱图

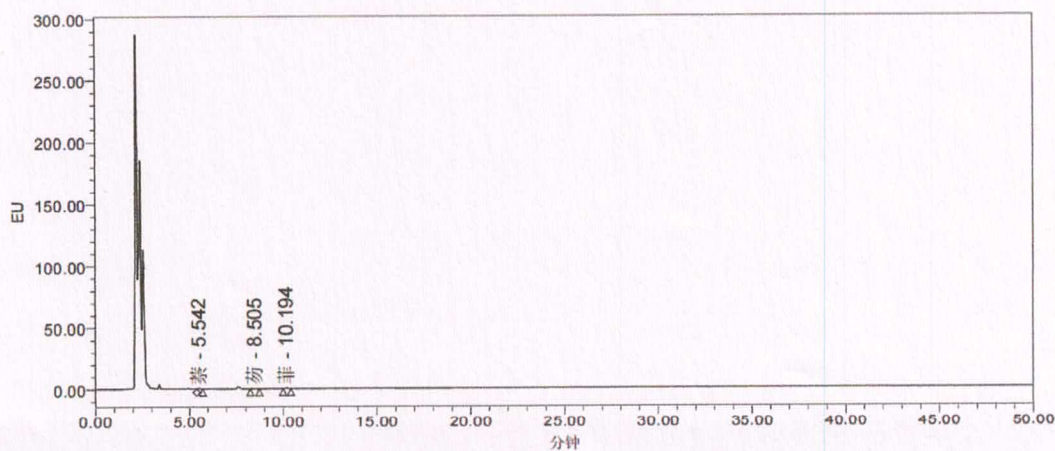


图 2 血清样品色谱图

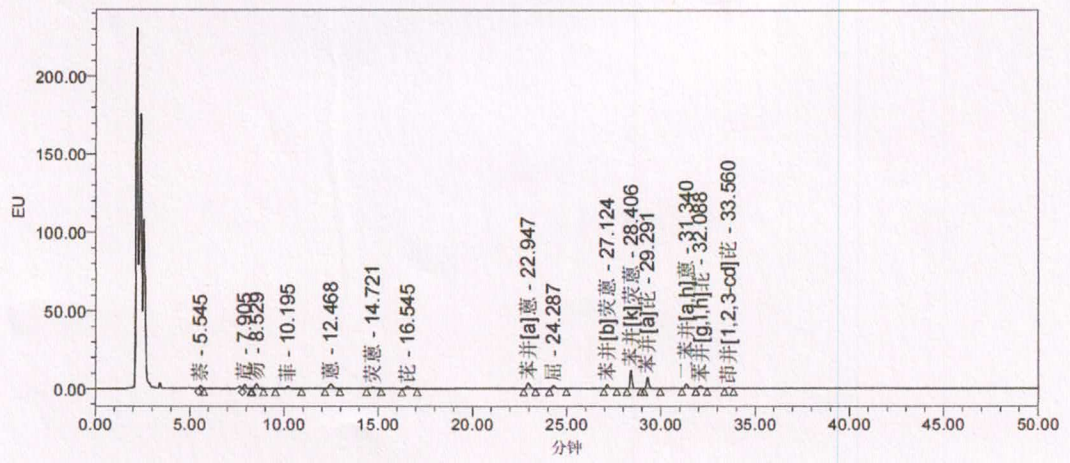


图3 加标血清样品色谱图