

# T/GAIA

## 广东省分析测试协会团体标准

T/XXXX—XXXX

### 职业暴露人群血清中多环芳烃的测定 高效液相色谱法

Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Serum Samples of  
Occupationally Exposed Population by High Performance Liquid Chromatography

(征求意见稿)

(本草案完成时间: 2023/10/30)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

广东省分析测试协会 发布

# 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	3
2 规范性引用文件 .....	3
3 术语和定义 .....	3
4 原理 .....	3
5 试剂与材料 .....	3
6 仪器和设备 .....	4
7 试样的制备与保存 .....	4
8 分析步骤 .....	4
9 结果计算和表述 .....	5
10 方法的灵敏度、准确度和精密度 .....	5
附录 A（资料性） 15 种多环芳烃标准品信息 .....	6
附录 B（资料性） 多环芳烃标准溶液的液相色谱图 .....	7

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由广东省分析测试协会提出。

本文件由广东省分析测试协会归口。

本文件起草单位：广州市疾病预防控制中心，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。

本文件主要起草人：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。

# 职业暴露人群血清中多环芳烃的测定

## 高效液相色谱法

### 1 范围

本标准规定了职业暴露人群血清中15种多环芳烃的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于血清中萘、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、屈、苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,h]蒽、苯并[g,h,i]芘、茚并[1,2,3-cd]芘15种多环芳烃的检测，可用于内暴露水平监测及职业暴露人群血清中多环芳烃检测。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

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

### 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 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。

### 5 试剂与材料

#### 5.1 试剂

5.1.1 水：GB/T 6682 所规定的一级水。

5.1.2 乙腈（CH<sub>3</sub>CN）：质谱纯。

#### 5.2 标准品

多环芳烃标准溶液（含萘、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、屈、苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,h]蒽、苯并[g,h,i]芘、茚并[1,2,3-cd]芘）：浓度1000 μg/mL，或经国家认证并授予标准物质证书的标准溶液，-18 °C下避光保存。标准品信息参见附录A。

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。

#### 5.3 标准溶液制备

5.3.1 多环芳烃标准中间液（10.0 μg/mL）：吸取多环芳烃标准溶液（1000 μg/mL）0.10 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。

5.3.2 多环芳烃标准使用液（100 ng/mL）：吸取多环芳烃标准中间液（10.0 μg/mL）0.10 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。

5.3.3 多环芳烃标准系列工作液：分别吸取多环芳烃标准使用液（100 ng/mL）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，得到质量浓度为1.0 ng/mL、2.5 ng/mL、5.0 ng/mL、

10.0 ng/mL、15.0 ng/mL、25.0 ng/mL 的标准系列工作液，临用现配。

实验所需的玻璃仪器均需在450 °C煅烧6 h，以消除背景干扰。

## 6 仪器和设备

- 6.1 高效液相色谱仪：配荧光检测器。
- 6.2 涡旋混合器：转速不低于 3000 r/min。
- 6.3 低温离心机：转速不低于 10 000 r/min。
- 6.4 移液器：量程 10 μL~100 μL 和 100 μL~1000 μL。

## 7 试样的制备与保存

### 7.1 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。

### 7.2 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。

### 7.3 试料的保存

-70 °C 以下保存，不可反复冻融。

## 8 分析步骤

### 8.1 提取

血清样品室温解冻后，用移液枪准确移取试样100 μL置于1.5 mL离心管中，加入300 μL乙腈，涡旋2 min，-20 °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。

### 8.2 测定

#### 8.2.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：PAH C<sub>18</sub> 色谱柱（250 mm×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 1。
- d) 流速：1.2 mL/min。
- e) 检测波长：激发波长和发射波长见表 2。
- f) 柱温：27 °C。
- g) 进样量：20 μL。

表1 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

表2 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

### 8.2.2 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中，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参见附录 B。

### 8.2.3 试样溶液的测定

将试样待测液注入高效液相色谱仪中，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。

### 8.3 空白试验

除不加试样外，均按照上述测定步骤进行。

## 9 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 ( $\mu\text{L}$ )；

$V_i$ —试样溶液取样体积，单位为微升 ( $\mu\text{L}$ )；

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。

## 10 方法的灵敏度、准确度和精密度

### 10.1 灵敏度

本方法萘、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。蔡、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。

### 10.2 准确度

本方法中多环芳烃在1.0 ng/mL~25 ng/mL的添加浓度水平时，回收率为60 %~120 %。

### 10.3 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

附 录 A  
(资料性)  
15 种多环芳烃标准品信息

表A.1 15种多环芳烃标准品信息

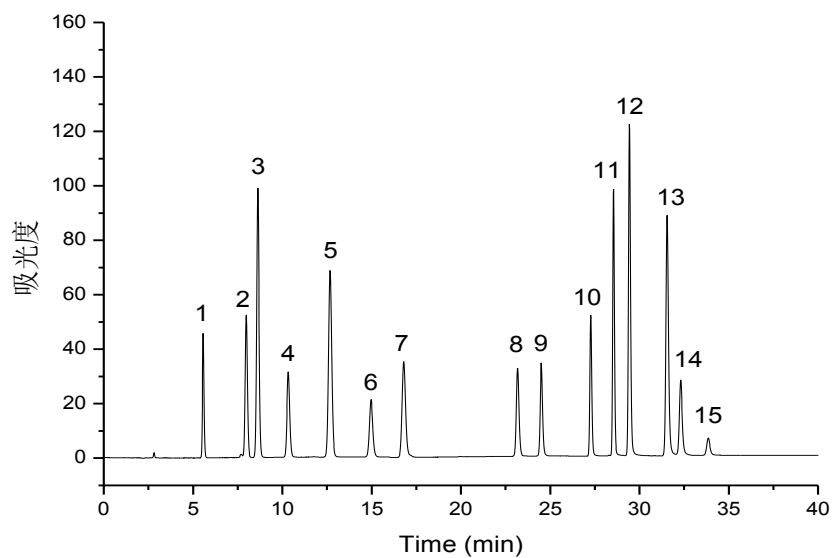
序号	名称	英文名称	分子式	CAS号
1	萘	Naphthalene	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	91-20-3
2	茈	Acenaphthene	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>	83-32-9
3	芴	Fluorene	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>	86-73-7
4	菲	Phenanthrene	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	85-01-8
5	蒽	Anthracene	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	120-12-7
6	荧蒽	Fluoranthene	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	206-44-0
7	芘	Pyrene	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	129-00-0
8	屈	Chrysene	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	218-01-9
9	苯并[a]蒽	Benz[a]anthracene	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	56-55-3
10	苯并[b]荧蒽	Benzo[b]fluoranthene	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	205-99-2
11	苯并[k]荧蒽	Benzo[k]fluoranthene	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	207-08-9
12	苯并[a]芘	Benzo[a]pyrene	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	50-32-8
13	二苯并[a, h]蒽	Dibenz[a, h]anthracene	C <sub>22</sub> H <sub>14</sub>	53-70-3
14	苯并[g, h, i]芘	Benzo[g, h, i]perylene	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	191-24-2
15	茚并[1, 2, 3-cd]芘	Indeno[1, 2, 3-cd]pyrene	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	193-39-5

## 附录 B

(资料性)

## 多环芳烃标准溶液的液相色谱图

多环芳烃标准溶液 (10.0 ng/mL) 液相色谱图见 B.1。



说明:

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

图B.1 多环芳烃标准溶液 (10.0 ng/mL) 液相色谱图