

高效液相色谱法测定土壤中多环芳烃的条件优化

翟有朋, 顾云, 丁金美

(泰州市环境监测中心站, 江苏 泰州 225300)

摘要:研究了加速溶剂萃取(ASE)、固相萃取柱净化(SPE)、高效液相色谱仪(HPLC)联合测定土壤中16种多环芳烃(PAHs)的分析方法,选择以正己烷/丙酮(1+1, V/V)作为ASE提取溶剂,提取液经SPE硅胶小柱净化,正己烷/二氯甲烷(1+1, V/V)进行洗脱,洗脱体积为10 mL,洗脱液经旋转蒸发浓缩至近干,过0.22 μm有机滤膜,用乙腈定容至1 mL,最后用HPLC-紫外检测器对提取液中16种PAHs进行定量分析。土壤中16种PAHs的方法检出限为2.8~4.9 μg/kg,加标回收率为81.9%~102%,相对标准偏差为2.5%~6.2%,完全满足土壤中PAHs分析的质量控制要求,该法稳定性好、准确度高、可操作性强,适合于土壤样品中16种PAHs的准确测定。

关键词:加速溶剂萃取;固相萃取;高效液相色谱;土壤;多环芳烃

中图分类号:X833.0657.7²⁺

文献标志码:B

文章编号:1674-6732(2018)01-0017-05

Optimization of Conditions for Determination of PAHs in Soil by HPLC

ZHAI You-peng, GU Yun, DING Jin-mei

(Taizhou Environmental Monitoring Center, Taizhou, Jiangsu 225300, China)

Abstract: The analysis method of 16 kinds of PAHs in soil was studied by accelerated solvent extraction, solid phase extraction purification and high performance liquid chromatograph. *n*-Hexane/acetone (1 + 1, V/V) was selected as ASE solvent, the extracts were purified by silica column, *n*-hexane/dichloromethane (1 + 1, V/V) was used as elution solvent, the elution volume was 10 mL. The elution solution was concentrated to nearly dry by rotary evaporation, and then was filtered by 0.22 μm organic membrane, finally acetonitrile was added to make up to the 1 mL mark. Quantitative analysis were taken by HPLC equipped with UV detector. The method detection limits were 2.8 ~ 4.9 μg/kg, the average spiked recoveries were 81.9% ~ 102%, the relative standard deviations were 2.5% ~ 6.2%, which completely satisfy the requirement for quality control of PAHs analysis in soil. This method had good stability, high accuracy and strong practicality, it was suitable for accurate determination of 16 kinds of PAHs in soil samples.

Key words: Accelerated solvent extraction; Solid phase extraction; High performance liquid chromatograph; Soil; PAHs

多环芳烃(PAHs)是一类持久性有机污染物^[1],迄今为止已经发现200多种PAHs。其中16种由于具有较强的致畸、致癌、致突变特性^[2],已成为美国环境保护署EPA的优先控制对象,并在全球范围内受到广泛关注和研究。我国也将这16种中的7种PAHs纳入优先控制和检测的有毒有机污染物黑名单^[3]。

PAHs广泛存在于大气、水、土壤及生物体环境中,并通过直接接触或食物链的方式进入人体,从而危害人体健康^[4]。在多种环境介质中,土壤承担了90%以上的PAHs环境负荷,并且这些污染物多富集在表层土壤中。邓绍坡等^[5]调查分析了2004—2007年间我国34个市表层土壤中的PAHs含量,结果表明,从PAHs总量标准来看,我国有

38%的土壤受到严重污染,且北方地区比例远高于南方地区。这说明我国土壤PAHs污染问题相当突出,2016年国务院印发的《土壤污染防治行动计划》(以下简称《土十条》)中指出土壤中PAHs监测将作为未来几年环境整治工作的重点^[6]。

土壤中PAHs含量低、样品基质复杂、干扰严重等问题大大增加了开展土壤污染防治工作的难度^[7]。目前,我国无论在PAHs监测种类、监测范围及分析测试等方面都与国外存在着较大的差距。在分析方法方面,现有的土壤中PAHs监测标准包括《土壤和沉积物多环芳烃的测定 高效液相色谱

收稿日期:2017-08-29

作者简介:翟有朋(1984—),男,工程师,硕士,从事环境监测工作。

法》(HJ 784—2016)、《土壤和沉积物 多环芳烃的测定 气相色谱 - 质谱法》(HJ 805—2016)、EPA8100 等^[7]。由于 16 种优先控制的 PAHs 化学性质相近、沸点较高,且多为微量至痕量残留,因而 PAHs 的提取和净化至关重要^[8]。

目前,土壤中 PAHs 的提取方法主要有固相萃取法、微波萃取法、超声萃取法、超临界流体萃取法、加速溶剂(ASE)萃取等^[4]。其中加速溶剂萃取具有速度快、效率高、有机溶剂用量少、自动化操作等优点,被广泛应用于土壤中 PAHs 的提取^[9]。常用的净化技术包括硅胶层析柱法和佛罗里硅土柱层析法(即固相萃取柱,SPE)等。平华等^[10]将经过加速溶剂萃取仪提取出来的土样,经固相萃取柱用正己烷淋洗活化,加标回收率均在 87.2% ~ 129% 范围,得到了很好的效果。梁柱等^[11]用丙酮/二氯甲烷(体积比为 1:1)混合液淋洗佛罗里硅土柱层析,将经过加速溶剂萃取后的萃取液进行纯化,样品最终回收率为 78.8% ~ 114%。而高效液相色谱(HPLC)分析不需要对样品进行汽化,适用于沸点较高组分的分析,因而成为 PAHs 分析中的首选方法。

尽管加速溶剂萃取 - 固相萃取柱净化 - 高效液相色谱分析成为土壤中 PAHs 检测的主要方法,并得到充分应用,但在萃取次数、洗脱体积和处理时间等参数方面并未得到统一的结论,在实际应用推广中存在一定的局限性^[9]。现采用 ASE 萃取、SPE 净化、HPLC 检测,通过对 ASE 提取溶剂及萃取次数、SPE 净化洗脱溶剂及洗脱体积、色谱条件等的优化,建立一套高效、快速、准确测定土壤中 PAHs 的检测方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),配有紫外检测器;PAHs 专用色谱柱(4.6 mm × 250 mm,粒径 5 μm,美国 Supelco 公司);ASE350 快速溶剂萃取仪(美国 Thermo 公司);Austo Trace 280 自动固相萃取仪(美国 Thermo 公司);HEI - VAP 旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司)。

PAHs 标准溶液(萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、蒽、蒽、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]芘均为 500 mg/L,溶剂为乙腈,

美国百灵威公司);十氟联苯标准溶液(1 000 mg/L,溶剂为乙腈,美国百灵威公司);二氯甲烷、丙酮、正己烷、乙腈均为农残级,购自上海安谱实验科技股份有限公司;SPE 净化小柱(1 000 mg/6.0 mL,美国 Agilent 公司)。

1.2 样品采集与处理

供试土壤样品采集于某化工企业周边的水稻田。样品采集参照《土壤环境监测技术规范》(HJ/T 166—2004)^[7]和《场地环境监测技术导则》(HJ 25.2—2014)^[8]。采集 5 点混合样,各点均采集一段直径 4 cm、深 0 ~ 20 cm 的圆柱形表层土壤,将 5 个点采集的土壤样品充分混合成 1 个样品。

土壤样品置于室内阴凉处自然风干、磨碎、过筛,制备好的土壤样品经过 ASE 萃取、SPE 柱净化、浓缩等操作,将浓缩液定容至 1 mL 待测。

1.3 ASE 萃取条件

载气压力 1.0 MPa,加热温度 100℃,预加热平衡 5 min,静态萃取 5 min,溶剂淋洗体积为 60% 池体积,氮气吹扫时间 120 s,静态萃取次数 2 次。

1.4 SPE 柱净化条件

将 ASE 萃取得到的提取液旋转蒸发浓缩至 1 mL,将溶剂完全转换为正己烷,最后浓缩至 1 mL,待净化。由于土壤中杂质较多,ASE 萃取得到的提取液通常呈浅黄色或黄褐色,在用 HPLC 检测前,用商用硅胶柱进行净化。将 1 mL 待净化的提取液加入到正己烷活化过的硅胶小柱中,用 5 mL 正己烷/二氯甲烷(1 + 1, V/V)洗脱,重复洗脱 2 次,收集洗脱液,浓缩至 0.5 ~ 1.0 mL,加入 3 mL 乙腈,再浓缩,最后定容至 1.0 mL 待测。

1.5 色谱条件

用 HPLC 紫外检测器对 16 种 PAHs 进行检测,PAHs 专用柱分离。流动相为乙腈 + 水;柱温 35℃;进样量 10 μL。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

2.1.1 流动相的选择

乙腈和甲醇作为液相常用的流动相有机溶剂,乙腈紫外截止波长为 190 nm,甲醇为 210 nm,而部分待测的 PAHs 化合物(如苊、苯并[g,h,i]芘)在 210 nm 处具有最大吸收峰。当甲醇作为流动相时,基线波动较大,影响定性 with 定量分析,同时,甲醇的黏度系数较乙腈大,导致柱压较高,因而流动

相有机溶剂选定为乙腈。

16 种 PAHs 的化学结构与理化性质十分相似, 采用等度洗脱无法完全分离, 而采用梯度洗脱 (见表 1), 则可以获得良好的分离效果, 基线平稳、峰形对称性好、响应值高 (见图 1)。

表 1 梯度洗脱方法

时间/min	流量/(mL · min ⁻¹)	乙腈/%	水/%
0.00	1.00	60.0	40.0
5.00	1.00	60.0	40.0
20.0	1.00	100.0	0.0
29.0	1.00	100.0	0.0
30.0	1.00	60.0	40.0

2.1.2 检测波长选择

PAHs 最大吸收波长、保留时间、标准曲线及检出限见表 2。通过紫外检测器波长扫描, 发现 16

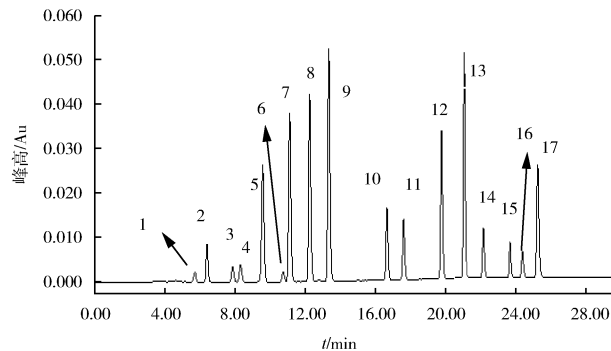


图 1 2.00 mg/L PAHs 混合标准溶液色谱图
1. 萘, 2. 苊烯, 3. 芴, 4. 苊, 5. 菲, 6. 十氟联苯, 7. 蒽, 8. 荧蒽, 9. 芘, 10. 苯并[a]蒽, 11. 蒾, 12. 苯并[b]荧蒽, 13. 苯并[k]荧蒽, 14. 苯并[a]芘, 15. 二苯并[a,h]蒽, 16. 苯并[g,h,i]芘, 17. 茚并[1,2,3-cd]芘。

图 1 2.00 mg/L PAHs 混合标准溶液色谱图

种 PAHs 在表 2 中的波长下具有最大响应值。在保证 16 种目标化合物有较好响应的同时, 又要尽量降低干扰, 有效地分离 16 种 PAHs, 最终选择 237 nm 作为检测波长。

表 2 PAHs 最大吸收波长、保留时间、标准曲线及检出限

化合物	英文缩写	最大吸收波长/nm	保留时间/min	校准曲线	相关系数 <i>r</i>	方法检出限/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	相对标准偏差/%
萘	Nap	220	5.732	$y = 366\ 895.4x + 14\ 883.4$	0.999 8	2.9	5.8
苊烯	Acy	229	6.414	$y = 172\ 389.8x + 3\ 021.4$	0.999 4	2.8	3.9
芴	Flo	226	7.884	$y = 261\ 130.1x + 8\ 563.4$	0.999 6	2.9	5.2
苊	Ace	210	8.332	$y = 59\ 658.0x + 357.6$	0.999 7	4.8	4.1
菲	Phe	251	9.603	$y = 179\ 857.1x + 4\ 580.9$	0.999 8	4.9	6.1
蒽	Ant	251	10.760	$y = 459\ 044.8x + 14\ 785.7$	0.999 7	3.9	4.5
荧蒽	Flu	236	12.281	$y = 125\ 314.0x + 1\ 251.5$	0.999 6	4.8	4.6
芘	Pyr	240	13.364	$y = 198\ 136.6x + 5\ 977.1$	0.999 5	2.9	5.2
苯并[a]蒽	BaA	287	16.690	$y = 212\ 805.5x + 6\ 930.3$	0.999 7	3.8	3.6
蒾	Chr	267	17.636	$y = 290\ 435.4x + 8\ 731.7$	0.999 9	2.9	4.1
苯并[b]荧蒽	BbF	256	19.802	$y = 95\ 926.0x + 2\ 016.8$	0.999 8	4.8	3.9
苯并[k]荧蒽	BkF	307	21.086	$y = 121\ 515.6x + 2\ 249.9$	0.999 7	4.7	4.7
苯并[a]芘	B[a]P	296	22.188	$y = 115\ 783.4x + 3\ 756.8$	0.999 5	4.9	5.2
二苯并[a,h]蒽	DahA	297	23.703	$y = 232\ 285.8x + 2\ 797.7$	0.999 5	4.9	4.0
苯并[g,h,i]芘	BghiP	210	24.417	$y = 89\ 818.5x + 1\ 681.1$	0.999 6	4.8	3.8
茚并[1,2,3-cd]芘	IcdP	250	25.281	$y = 131\ 447.4x + 3\ 489.7$	0.999 8	3.9	4.5

2.2 ASE 萃取条件优化

2.2.1 萃取溶剂选择

向 10 g 石英砂中加入 1 mL 1.0 mg/L PAHs 标准溶液, 分别用二氯甲烷、丙酮、正己烷、正己烷/丙酮(1+1, V/V) 作为萃取溶剂, 进行溶剂选择试验, 结果见表 3。

由表 3 可知, 二氯甲烷和丙酮对 16 种 PAHs 的提取效率比正己烷高, 其主要原因是二氯甲烷和丙酮的亲核性较强, 有利于 PAHs 的吸附。但是,

表 3 ASE 萃取溶剂的优化 ($n=3$)

萃取溶剂	加标量/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	加标回收率/%	相对标准偏差/%
二氯甲烷	100	83.4 ~ 102.4	4.8 ~ 7.6
丙酮	100	85.9 ~ 103.1	4.3 ~ 8.2
正己烷	100	68.5 ~ 89.7	1.7 ~ 2.8
正己烷/丙酮(1+1, V/V)	100	84.8 ~ 104.2	1.5 ~ 2.4

二氯甲烷和丙酮提取时相对标准偏差比正己烷大, 提取稳定性较差, 其主要原因是二氯甲烷和

丙酮极性较强,萃取时提取出的杂质较多,加大了净化难度,基线干扰大,影响定性与定量分析。采用正己烷/丙酮(1+1,V/V)作为萃取溶剂,不但提取效率较高,稳定性也较好,因此选取正己烷/丙酮(1+1,V/V)作为 ASE 提取土壤中 PAHs 的萃取溶剂。

2.2.2 萃取次数选择

针对静态萃取次数为 1、2、3 次,进行选择试验,结果见表 4。

由表 4 可知,用正己烷/丙酮(1+1,V/V)作为 ASE 提取 16 种 PAHs 的溶剂时,萃取 2 次的回收率明显比萃取 1 次的高,继续增加萃取次数,回收率变化不明显,考虑节约时间及有机溶剂的使用量,萃取次数选定为 2 次。

表 4 ASE 萃取次数的优化 ($n=3$)

萃取次数/次	加标回收率/%
1	78.3 ~ 96.8
2	84.8 ~ 104.2
3	85.1 ~ 103.8

2.3 SPE 柱净化条件优化

2.3.1 SPE 柱净化洗脱剂的选择

分别以 10 mL 二氯甲烷、正己烷、正己烷/二氯甲烷(1+1,V/V)作为洗脱液,对硅胶柱中 16 种 PAHs 的加标回收率如图 2 所示。

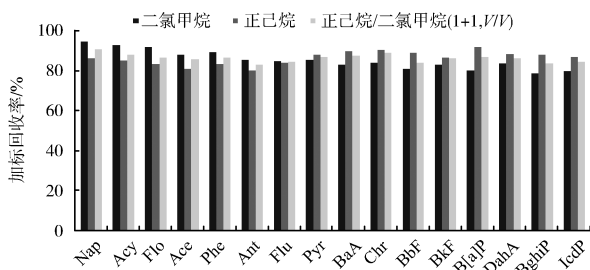


图 2 不同洗脱剂对硅胶柱中 16 种 PAHs 的回收率

二氯甲烷对 2 环的 Nap 及 3 环的 Acy、Flo、Ace、Phe、Ant、Flu 的回收率比正己烷高,而正己烷对 4 环的 Pyr、BaA、Chr、BbF、BkF、B[a]P 及 5 环的 DahA、IcdP 与 6 环的 BghiP 的回收率比二氯甲烷高,这主要是因为二氯甲烷的极性较正己烷强,所以对极性较高的 2 环及 3 环 PAHs 的提取能力强,而对极性较弱的 4 环、5 环及 6 环的 PAHs 提取能

力弱。

为了避免单一溶剂的缺陷,因此选取正己烷/二氯甲烷(1+1,V/V)混合溶液作为洗脱液,16 种 PAHs 回收率为 82.8% ~ 92.5%。

2.3.2 SPE 柱净化洗脱剂体积选择

向用正己烷活化过的硅胶小柱中加入 1 mL 1 000 mg/L PAHs 混合标准溶液,分别用 4、6、8、10 和 12 mL 的正己烷/二氯甲烷(1+1,V/V)洗脱,结果见图 3。结果显示,当洗脱体积为 10 mL 时,16 种 PAHs 被完全淋洗出,因而洗脱剂体积选定为 10 mL。

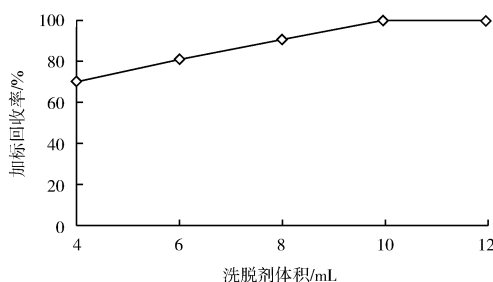


图 3 不同洗脱剂体积对 PAHs 的洗脱效果

2.4 方法性能指标

2.4.1 标准曲线、方法检出限及精密度

用乙腈配制 16 种 PAHs 混合标准溶液系列: 0.04、0.10、0.50、2.00 和 5.00 mg/L,用高效液相色谱仪-紫外检测器检测。以 PAHs 的质量浓度为横坐标,对应的仪器响应值(峰面积)为纵坐标,绘制标准曲线。

如表 2 所示,16 种 PAHs 在 0.04 ~ 5.00 mg/L 范围内均呈良好的线性,相关系数为 0.999 4 ~ 0.999 9,方法检出限为 2.8 ~ 4.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$,相对标准偏差为 3.6% ~ 6.1%,满足《HJ 784—2016》^[9]的相关质量控制要求,说明该方法的准确度高,可靠性好,适用于土壤中 PAHs 的测定。

2.4.2 土壤样品基质加标回收实验

用土壤样品基质加标回收实验验证方法的精密度与准确度,结果见表 5。

土壤样品中 16 种 PAHs 的回收率为 81.9% ~ 102%,相对标准偏差为 2.5% ~ 6.2%,完全满足《HJ 784—2016》样品分析的质量控制要求,说明本方法可用于土壤样品中 16 种 PAHs 的准确测定。

表 5 土壤样品中 16 种 PAHs 的加标回收率 (n=3)

化合物	添加值(100 μg/kg)		添加值(400 μg/kg)	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
萘	95.2	4.8	98.4	4.4
蒽	88.6	5.2	89.4	5.1
芴	85.7	3.9	86.2	4.2
苊	86.1	4.4	88.1	3.8
菲	88.2	4.1	87.5	3.5
蒽	91.5	5.6	90.4	5.1
荧蒽	85.9	3.9	88.3	4.2
芘	96.3	4.7	99.2	3.8
苯并[a]蒽	81.9	6.2	83.5	5.5
蒽	89.5	5.7	90.6	4.8
苯并[b]荧蒽	90.3	3.7	88.9	4.3
苯并[k]荧蒽	88.3	2.9	89.6	4.8
苯并[a]芘	85.4	4.5	87.9	2.8
二苯并[a,h]蒽	98.5	3.3	102	4.1
苯并[g,h,i]芘	86.4	2.6	88.4	2.5
茚并[1,2,3-cd]芘	89.2	5.2	91.8	3.8

[参考文献]

3 结语

采用正己烷/丙酮(1+1, V/V)作为 ASE 提取溶剂,提取液经 SPE 硅胶小柱净化,洗脱剂为正己烷/二氯甲烷(1+1, V/V)的混合溶剂,洗脱体积为 10 mL,最后用 HPLC 测定提取液中 16 种 PAHs 浓度。通过进行土壤样品加标实验,16 种 PAHs 的检出限为 2.8 ~ 4.9 μg/kg,回收率为 81.9% ~ 102%,相对标准偏差为 2.5% ~ 6.2%,完全满足《HJ 784—2016》样品分析的相关质量控制要求。说明该方法的稳定性好、准确度高、可操作性强,适合于土壤样品中 16 种 PAHs 的测定。

(上接第 13 页)

[2] 中华人民共和国中央人民政府. 国务院关于印发水污染防治行动计划的通知:国发[2015]17号[EB/OL]. (2015-04-02)[2017-06-01]. http://www.gov.cn/jzhengce/content/2015-04/16/content_9613.htm.

[3] 江苏省人民政府. 省政府关于印发江苏省水污染防治工作方案的通知:苏政发[2015]175号[EB/OL]. (2015-12-28)[2017-06-01]. <http://www.jiangsu.gov.cn/jsgov/tj/bgt/201601/t20160111490432.html>.

[4] 贾坤,王虎,李秋水,等. 太阳能小型无人值守水质自动监测站的开发和应用[J]. 水电自动化与大坝监测,2010,34(3):76-79.

[5] 盛国梁. 公用事业项目融资及其路径选择——基于 BOT、TOT、PPP 模式之比较分析[J]. 统计与管理,2017(3):102-103.

[6] 吕杜鹏. PPP 模式和 BOT 模式的比较分析——以多地轨道交通建设融资模式为例[J]. 江苏商论,2017(1):95-96.

[1] 孙小静,石纯,世远,等. 上海北部郊区土壤多环芳烃含量及来源分析[J]. 环境科学研究,2008,21(4):140-144.

[2] 范淑秀,李培军,巩宗强,等. 苜蓿对多环芳烃非污染土壤的修复作用研究[J]. 环境科学,2007,28(9):2080-2084.

[3] 岳瑞江,邱自兵,王志苗,等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法分析土壤中多环芳烃含量[J]. 资源节约与环保,2015(1):55-57.

[4] 牛媛媛,杨凤,丁克强,等. 土壤中多环芳烃预处理及分析方法研究[J]. 化工技术与开发,2016,45(4):21-25.

[5] 邓绍坡,吴运金,龙涛,等. 我国表层土壤多环芳烃(PAHs)污染状况及来源浅析[J]. 生态与农村环境学报,2015,31(6):866-875.

[6] 土壤污染防治行动计划[EB/OL]. (2016-05-28)[2017-08-29] http://www.gov.cn/jzhengce/content/2016-05/31/content_5078377.htm.

[7] 车金水,赵紫珺,余翀天. 加速溶剂提取-在线凝胶净化色谱-气质联用法分析检测土壤中多环芳烃[J]. 环境化学,2016,35(7):1543-1545.

[8] 张茜,刘潇威,罗铭,等. 快速溶剂(ASE)提取、凝胶渗透色谱(GPC)联合固相萃取(SPE)净化,高效液相色谱法测定土壤中的多环芳烃[J]. 环境化学,2011,30(4):771-777.

[9] 张亚楠,杨兴伦,卞永荣,等. 化学提取法表征污染土壤中 PAHs 老化规律和蚯蚓富集特征[J]. 环境科学,2015,36(12):4583-4591.

[10] 平华,李杨,潘立刚,等. 加速溶剂萃取-气相色谱质谱法测定土壤中多环芳烃的含量[J]. 食品安全质量检测学报,2012,3(6):695-699.

[11] 梁柱,余雯静,孙欣阳. 加速溶剂萃取-色谱质谱联用法测定土壤中的多环芳烃[J]. 化学分析计量,2009,18(3):45-48.

[7] 刘华丽,方俊,龚越. 基于全寿命周期的 BOO 项目合同体系管理研究[J]. 建筑经济,2016,37(6):24-28.

[8] 中华人民共和国中央人民政府. 财政部关于印发地方行政单位国有资产处置管理暂行办法的通知:财行[2014]228号[EB/OL]. (2014-08-20)[2017-06-01]. http://www.mof.gov.cn/pub/xingzhengsifa/zhengwuxinxi/zhengcefabu/201409/t20140903_1135089.html.

[9] 镇江市人民政府. 市财政局关于印发镇江市市级政府购买公共服务实施细则(暂行)的通知:镇财采[2015]2号[EB/OL]. (2015-04-07)[2017-06-01]. http://www.zjcz.gov.cn/zcfg/sczjwj/201504/t20150414_1508827.htm.

[10] 秦若卿. 基于中国新常态下 PPP 项目与政府采购的初探[J]. 现代经济信息,2016(12):51.

[11] 袁奇. 大型 PPP 建设项目的合同商务管理研究[J]. 现代经济信息,2016(16):96.