

土壤中多环芳烃不同前处理分析方法的比较

葛成军^{1,2}, 唐文浩², 黄占斌¹, 俞花美³

(1.中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院, 北京 100083; 2.海南大学环境与植物保护学院, 海南 儋州 571737; 3.海南大学管理学院, 海南 儋州 571737)

摘要:针对国内缺乏土壤中多环芳烃(PAHs)检测的国家标准方法的现状,以提取效率和回收率作为不同溶剂、不同提取方式前处理优劣的表征,研究了目前国内较常用的3种提取技术(索氏提取、超声波提取、水平振荡提取)和2种不同的提取剂(二氯甲烷、二氯甲烷/丙酮=5:1)对提取效率和回收率的影响。结果表明,以二氯甲烷作为提取溶剂,水平恒温振荡提取4 h,可以有效地提取土壤中的15种多环芳烃类污染物。此技术提取时间短,节省提取溶剂且提取效率较高,方法回收率在73.3%~117.5%范围内。

关键词:多环芳烃;提取技术;提取剂;提取效率;回收率

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)04-0859-06

Comparison of Different Pretreatments for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAHs) Extraction from Soil

GE Cheng-jun^{1,2}, TANG Wen-hao², HUANG Zhan-bin¹, YU Hua-mei³

(1.School of Chemical and Environmental Engineering, China University of Mining and Technology, Beijing 100083, China; 2.College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Danzhou 571737, China; 3.College of Management, Hainan University, Danzhou 571737, China)

Abstract: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAHs) are carcinogenic pollutants that broadly existing in the environment. In china, there is no national standard for detecting the PAHs in soil. The paper had analyzed and compared the extraction efficiency and the recovery of PAHs from soil by three pretreatments (Soxhelt, Ultrasonic and Shaking) and two different solvents. Bulks of PAHs could be isolated with great efficiency from soil by the Soxhelt extraction. And the Ultrasonic extraction was the most efficient for isolating the PAHs containing more than six fused aromatic rings. But for extracting the PAHs that having up to six fused aromatic rings, the Shaking extraction was more efficiency than the others. Meanwhile, two reagents(dichloromethane and dichloromethane/acetone) were used as solvents in isolating the PAHs by these three methods. The PAHs recoveries of these experiments were also analyzed. The results showed that shaking soil samples within dichloromethane under constant temperature for four hours could isolate fifteen different PAHs with the recovery from 73.3% to 117.5%. It indicated that shaking within dichloromethane under constant temperature was a high efficient short process pretreatment for extracting PAHs from soil.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs); extraction technique; extraction solution; extraction efficiency; recovery rate

环境中多环芳烃(PAHs)由于致畸、致癌和致突变的作用受到广泛重视^[1-2]。因此,环境样品中多环芳烃的分析一直是研究的热点^[3-5]。随着环境样品复杂性的增加,越来越多的研究要求分析方法简便且具有较低的检测限,选择合适的样品前处理和净化程序是分

析复杂样品的先决条件。关于土壤样品中多环芳烃的分析方法早在20世纪60年代就已开始建立,并逐渐趋于完善。然而,多数方法因操作步骤较为复杂或因实验所用材料、设备较为昂贵等原因,不能完全满足实际工作的需要。另外,多环芳烃中部分二环组分(如萘等)的易挥发性导致在实验室提取和净化过程中回收率不理想。美国环保署(USEPA)对底泥、固体废物和污泥中提取非挥发性和半挥发性有机化合物已制定出相应的方法。我国对这方面的研究尚处于起步阶段,对PAHs的分析一般采用液相色谱或气相色谱-质谱联用技术,分析技术已基本形成规范,但是对样

收稿日期:2008-06-22

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD07A06);海南省教育厅高等学校科研项目(hjkj200729);海南大学科技基金项目(Rnd0742)

作者简介:葛成军(1977—),男,江西南昌人,博士生,讲师,从事环境生态工程等方面的教学科研工作。E-mail:gcj3007@163.com

品的提取方法则较为多样,表现为经典和现代方法并存,各有优劣^[3]。目前我国尚未制定土壤中多环芳烃测定的国家标准。

本研究在前人研究工作基础上,选择目前国内较常用的索氏提取、超声波提取、水平振荡提取等技术,配合高效液相色谱分离等分析技术,进行土壤中多环芳烃分析方法的研究。笔者以提取效率和回收率作为不同溶剂、不同提取方式提取优劣的表征,研究了不同提取溶剂和提取方式对提取效率和回收率的影响。对3种预处理技术进行优化并初步探讨了不同技术的优点与不足,旨在为环境中优先有机污染物多环芳烃的研究提供一种简单、准确的前处理手段,为我国土壤中多环芳烃国标方法的建立提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 供试土样

供试土壤为黄棕壤,由中国科学院南京土壤研究所土壤生物与生化室环境预警课题组提供。土壤的采样剖面为0~20 cm,将土样风干,除去草根、石块等杂物,过60目筛,待前处理。

1.2 试剂与仪器

主要试剂:二氯甲烷、环己烷、丙酮、石油醚(30~60℃)均为分析纯,使用前重蒸,乙腈(色谱级),硅胶(色层分析用,粒径0.15~0.074 mm,使用前于130℃活化16 h),无水硫酸钠(500℃烘2 h,冷至室温后置于全玻璃容器密封保存,备用)。EPA610 PAHs混合标样购于SUPELCO公司,其中含:萘(Nap),蒽(Any),苯并[a]蒽(Baa),蒽(Chr),芘(Ane),苯并[b]荧蒽(Bbf),芴(Fle),苯并[k]荧蒽(Bkf),菲(Phe),苯并[a]芘(Bap),蒽(Ant),茚并[1,2,3-cd]芘(Ip),荧蒽(Fla),二苯并[a,h]蒽(Daa),芘(Pyr),苯并[g,h,i]芘(Bgp),浓度为100~2 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。逐步稀释至合适浓度作为校正工作液。

主要仪器:超声波提取器、水平恒温振荡器、脂肪提取器、离心机、恒温水浴锅、旋转蒸发浓缩器。

1.3 提取方法

1.3.1 索氏提取

取20 g黄棕壤样品置于滤纸筒内,上部盖一片滤纸,将滤纸筒装入索氏提取器中,分别以二氯甲烷、 $V(\text{二氯甲烷})/V(\text{丙酮})=5:1$ 作提取溶剂,加入60 mL提取溶剂浸泡过夜。次日,于恒温水浴锅上加热提取8 h。待冷却后,将提取液转移至梨形瓶中。旋转浓缩

至干,加4 mL环己烷,浓缩定容至2 mL。

1.3.2 超声波提取

取20 g黄棕壤样品置于60 mL离心管中,分别以二氯甲烷、 $V(\text{二氯甲烷})/V(\text{丙酮})=5:1$ 作提取溶剂,加入30 mL提取溶剂浸泡过夜。次日于超声水浴中分别提取30、60、90、120 min,为防止水温升高,通过加冰控制温度在30~35℃之间。提取后将离心管放在离心机内,以3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度离心5 min,定量转移20 mL上清液,转移至旋转浓缩瓶中旋转浓缩至干,加4 mL环己烷,浓缩定容至2 mL待净化。

1.3.3 振荡提取

取20 g黄棕壤样品于100 mL三角瓶中,分别以二氯甲烷、 $V(\text{二氯甲烷})/V(\text{丙酮})=5:1$ 作提取溶剂,加入60 mL提取溶剂浸泡过夜。次日于恒温水平振荡器内连续振荡4 h。静置分层后,定量吸取40 mL上清液于梨形瓶中旋转浓缩至干,加4 mL环己烷,浓缩定容至2 mL待净化。

1.4 净化方法

取上述待净化液其中0.5 mL,进行柱层析分离。层析柱直径0.8 cm,底部带活塞和烧结玻璃砂芯。先加入二氯甲烷15 mL,再依次加入1 cm高无水硫酸钠、3 g硅胶、1 cm高无水硫酸钠。放掉柱中二氯甲烷,待无水硫酸钠刚好露出二氯甲烷液面时,加15 mL石油醚预洗,弃去淋出液,当无水硫酸钠刚露出时上样,加10 mL石油醚预洗,弃去淋出液,以20 mL二氯甲烷与石油醚混合液 $[V(\text{二氯甲烷}):V(\text{石油醚})=3:2]$ 洗脱PAHs,控制淋出液速度为2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,收集淋出液,旋转蒸发浓缩至2 mL,氮气吹干,用1 mL乙腈定容,高效液相色谱测定。

1.5 色谱及工作条件

仪器分析采用Waters 2690高效液相色谱仪,荧光(Waters 2475)检测器和紫外(Waters 2996)检测器串联同步测定,同时配有色谱工作站,分析柱为Waters-PAHs分析专用大孔烷基C18柱(46 mm $\times$ 250 mm,内径5 μm)。

工作条件:流动相为乙腈/超纯水,流动相流速1.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,梯度淋洗程序为:0~12 min, $V(\text{水}):V(\text{乙腈})=6:4$ 溶剂淋洗;12~25 min,100%乙腈淋洗;25~45 min, $V(\text{水}):V(\text{乙腈})=6:4$ 溶剂淋洗。柱温27℃。保留时间定性,外标峰面积定量。紫外检测器的波长为254 nm,荧光检测器激发和发射波长程序变化,以获得待测组分的最大响应值。

2 结果与讨论

2.1 2种提取溶剂提取效率的比较

前人研究表明,对于分子量较低或低环的组分(如萘或茚烯等)在萃取时损失较严重,回收率较低。这是由于萃取液和固相萃取的洗脱液需用真空旋转蒸发或温和的氮气流挥发至近干的缘故^[6]。为了避免这种损失选择合适的提取溶剂相当重要。

图1(a)、(b)为索氏提取下2种有机溶剂提取15种多环芳烃的分析结果。研究发现2种不同溶剂对低环组分的提取结果相近且偏差较小;二氯甲烷/丙酮(5:1)对4环以上组分的提取结果明显高于二氯甲烷的提取结果,特别对Pyr、Fla、Ant和I1p的提取结果差异较大,且标准偏差相对较高。这说明长时间的索氏高温提取会影响被提取物的性质,另一方面索氏提取中人为误差也可能降低分析结果的精密度。

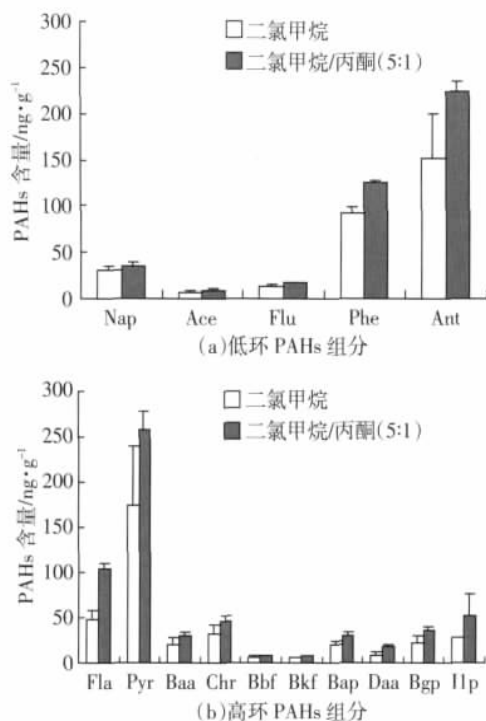


图1 索氏提取多环芳烃不同组分时2种有机溶剂的提取结果
Figure 1 Extraction efficiency of PAHs through Soxhlet by using two organic solvents

本文对利用在超声波提取条件下2种提取溶剂对多环芳烃的萃取效率进行比较,如图2所示。由结果可知,对于大部分组分来说,二氯甲烷的提取效率不及二氯甲烷/丙酮(5:1)的混合溶液。但对于Ane、Ant、Fla、Pyr、Daa和I1p选用二氯甲烷更为合适。

振荡提取因其具有设备要求简单、操作简便、用

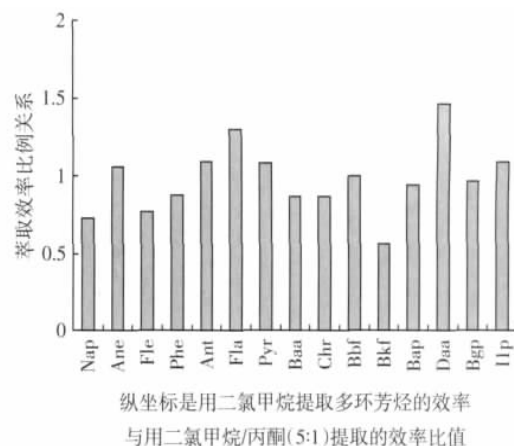


图2 超声波萃取15种多环芳烃时2种提取溶剂的萃取效率
Figure 2 Extraction efficiency of PAHs through ultrasound by using two organic solvents

时较短等优点而被众多实验室广泛采用。由图3所示,二氯甲烷对各组分的提取效率明显低于用二氯甲烷/丙酮混合液的提取效率。

造成以上结论的原因可能与丙酮与二氯甲烷的性质有关。它们的强亲核性质在提取过程中有利于与土壤颗粒竞争具有较大电子密度和强亲核性的PAHs。

2.2 2种提取溶剂回收率的比较

本研究中2种提取溶剂的回收率如表1所示。由表1可知,索氏提取多环芳烃时,二氯甲烷/丙酮混合液的回收率除Ane和Ant外,均低于只用二氯甲烷提取时的回收率。选择振荡提取时所有组分的回收率均表现为:二氯甲烷>二氯甲烷/丙酮(5:1)。且对于不稳定的2,3环PAHs组分来说,振荡提取的回收率较高。而选择超声波提取方式时,Phe、Baa、Chr、Bkf等组分在使用二氯甲烷为提取溶剂时回收率高。另外使用超声波提取时不同PAHs之间的回收率差别较大,回收率在16.4%~161.3%之间。崔艳红等曾用加速溶剂

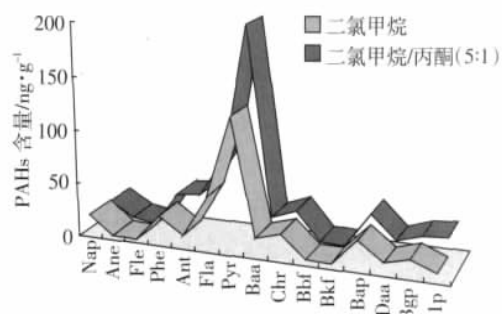


图3 振荡提取15种多环芳烃组分时2种有机溶剂的提取结果
Figure 3 Comparison of extraction contents of PAHs through oscillation by using two organic solvents

表 1 土壤中 15 种多环芳烃的回收率(%)及其精密度(n=3)
Table 1 Recoveries and RSD of PAHs in soils(n=3)

项目	二氯甲烷			二氯甲烷/丙酮(5:1)		
	索氏	超声	振荡	索氏	超声	振荡
Nap	67.8±4.41	16.4±0.52	73.3±3.74	51.1±2.86	50.3±2.77	60.3±2.17
Ane	71.9±2.80	44.1±1.85	117.5±2.70	74.9±4.72	55.8±2.01	112.6±10.70
Fle	80.4±7.32	67.2±4.37	85.6±5.91	61.0±5.98	70.8±6.80	81.9±4.34
Phe	90.2±2.35	123.0±11.51	97.8±8.22	60.3±6.09	114.6±5.16	93.5±2.43
Ant	69.0±4.35	140.5±12.22	74.0±5.25	74.1±3.41	161.0±10.95	69.5±6.53
Fla	105.2±5.79	97.2±2.53	110.8±6.54	85.3±6.57	134.9±11.87	103.4±8.07
Pyr	80.5±1.13	113.2±10.41	111.2±10.34	75.1±3.38	134.2±12.21	102.8±2.67
Baa	107.9±8.42	101.4±4.66	92.0±7.82	77.9±5.38	97.4±4.77	77.5±2.56
Chr	106.7±8.75	108.6±6.30	92.5±6.38	74.6±4.63	102.1±7.76	77.4±4.33
Bbf	100.9±6.96	91.8±7.71	93.7±8.34	77.2±3.01	95.4±4.67	77.0±4.54
Bkf	103.0±6.18	122.6±4.41	96.1±6.82	65.8±4.47	91.4±7.68	75.5±5.13
Bap	111.8±4.36	98.4±5.81	100.8±3.23	63.0±2.14	105.5±9.81	77.0±3.70
Daa	94.4±5.10	155.8±12.15	108.4±4.44	79.2±5.46	161.3±15.16	91.6±5.22
Bgp	108.8±11.10	90.9±7.73	102.2±7.05	85.7±6.68	94.3±9.05	84.6±8.12
I1p	96.8±2.23	73.8±3.39	83.5±5.68	72.1±2.38	88.3±8.57	71.7±2.37

法对天津污灌区土壤中多环芳烃提取使用不同溶剂进行比较分析,结果为二氯甲烷-丙酮混合液(1:1)的回收率为 62%~187%;二氯甲烷的回收率在 30%~284%之间;正己烷-丙酮混合液的回收率在 1%~132%之间^[4]。故在选择不同提取方式时,溶剂亦应作相应的选择以获得较好的回收率。

2.3 3 种提取方式提取效率的比较

本研究选择目前国内较常用的 3 种提取方式(索氏、振荡、超声)进行提取效率和回收率的比较研究。图 4(a)、(b)分别是以二氯甲烷、二氯甲烷-丙酮混合液(5:1)为提取溶剂时 3 种提取方式对黄棕壤中多环芳烃的提取效率分析结果。由图可见,索氏提取和超声波提取偏差较大,振荡提取的偏差相对较小。但是索氏提取对绝大多数 PAHs 组分,特别是低环组分的提取效率最大。这与索氏提取的密闭系统有关。对于低环组分,振荡提取的效率优于超声波提取,但对于部分高环组分,尤其如 Baa、Chr 等,结论相反。

2.4 3 种提取方式回收率的比较

利用 3 种提取方式对黄棕壤中 15 种多环芳烃回收率的测定结果见表 1。在以二氯甲烷为提取溶剂时,超声波提取的回收率在 16.4%~155.8%,索氏提取的回收率在 67.8%~111.8%;振荡提取的回收率在 73.3%~111.2%。在以二氯甲烷-丙酮(5:1)为提取溶剂时,超声波提取的回收率在 50.3%~161.3%,索氏提取的回收率在 51.1%~85.7%;振荡提取的回收率在

60.3%~112.6%。这说明以上 3 种提取技术均可以适用于提取黄棕壤的多环芳烃测定分析研究。但使用超声波提取技术时二氯甲烷溶剂易挥发,带走了小分子质量的 PAHs,造成这部分分析物的损失。而索氏提取是一个密闭体系,挥发损失的 PAHs 极少,有利于提取环数小的多环芳烃,但转移过程可能会有部分损失,而振荡则避免了以上技术的不足,故本研究认为振荡提取多环芳烃分析物的效率优于索氏,索氏的效率高于超声法。

2.5 超声提取时间对土壤中多环芳烃提取效率的影响

不同的超声时间可以直接影响溶剂与土壤的接触程度,从而影响提取效率。本研究以二氯甲烷作为提取溶剂,分别超声 0.5、1、1.5 和 2 h,以低环(Nap、Ane、Fle、Phe、Ant、Fla、Pyr)和高环组分(Baa、Chr、Bbf、Bap、Bgp 和 I1p)的峰面积 Ai 为提取效率的衡量指标分别作图 5(a)、(b),观察不同提取时间对提取效率的影响。结果表明,在超声至 1.5 h 时,六高环组分的 Ai 增幅不明显,有些甚至略有下降,但超声 1.5 h 至 2 h 段时,高环组分的 Ai 增幅相当明显。这是由于高环 PAHs 性质稳定,长时间的超声提取保证了溶剂与土壤充分接触,从而取得了较好的分析结果。虽然较长时间的超声提取会提高高环组分的提取效率,但从图 5(b)可以看出,大部分低环组分在 1 h 后,各组分 Ai 的增幅减缓甚至降低。超声提取时间超过 1.5 h,该类组分 Ai 明显减小。尤其是 Fla、Phe、Ant 的下

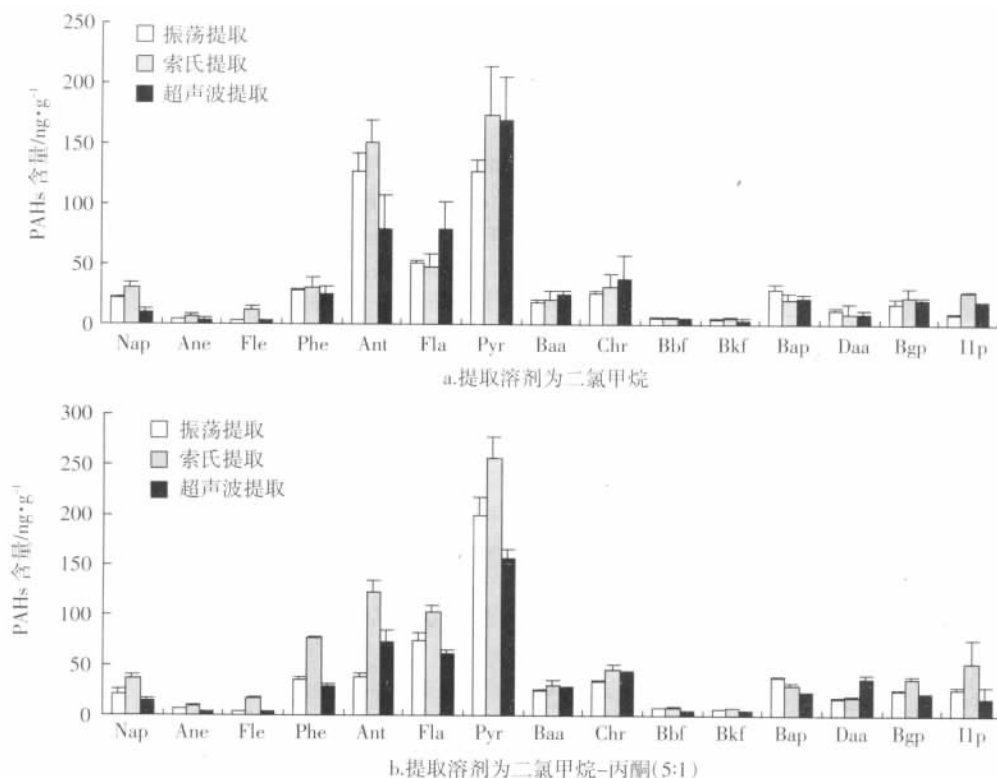


图 4 3 种不同提取方式的提取效率比较

Figure 4 Comparison of extraction efficiency by three extraction mediums

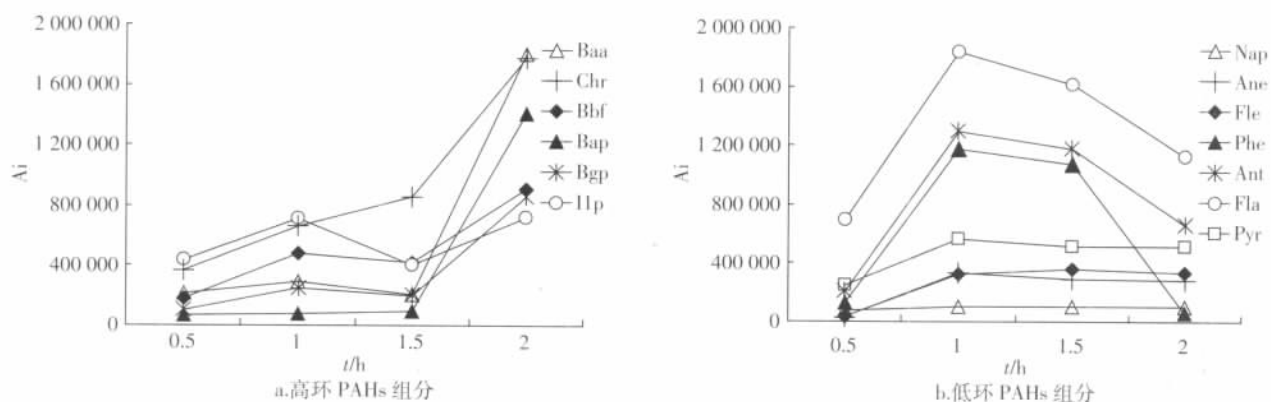


图 5 超声波提取的时间对不同 PAHs 组分的提取效率影响

Figure 5 Extraction efficiency of PAHs in different hours by ultrasound extraction

降幅度最大, 2 h 超声结束时的峰面积比最大提取量时对应的峰面积下降分别达 61%、51%、51%。故本研究认为在运用超声波提取技术时, 易挥发性低环多环芳烃类有机污染物的提取时间应控制在 1 h 以内。

3 结论

(1) 索氏提取对绝大多数 PAHs 组分, 特别是低环组分的提取效率最大, 但 Pyr 等组分偏差较大(> 25%)。对于低环组分, 振荡提取的效率优于超声波提

取, 但对于部分高环组分(如 Baa、Chr 等), 超声法优于其他 2 种提取方式。

(2) 3 种提取方式的回收率表现为: 振荡优于索氏, 索氏优于超声法。索氏和振荡提取多环芳烃时, 二氯甲烷/丙酮(5:1)的回收率低于只用二氯甲烷提取时的回收率。而选择超声波提取方式时, 除个别组分外, 二氯甲烷/丙酮(5:1)的回收率较高, 但不同 PAHs 间的回收率差别较大(16.4%~155.8%)。然而二氯甲烷/丙酮(5:1)作为提取溶剂时的提取效率却较高。

(3)本研究认为以二氯甲烷作为提取溶剂,水平恒温振荡提取 4 h,可以有效地提取土壤中的 15 种多环芳烃类污染物。此技术提取时间短,节省提取溶剂且提取效率较高,方法回收率在 73.3%~117.5%范围内。

参考文献:

- [1] 葛成军, 安 琼, 董元华. 钢铁工业区周边农业土壤中多环芳烃(PAHs)残留及评价[J]. 农村生态环境, 2005, 21(2): 66-69, 73.
GE Cheng-jun, AN Qiong, DONG Yuan-hua. Residue and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in soils around a steel mill[J]. *Rural Eco-Environment*, 2005, 21(2): 66-69, 73.
- [2] 葛成军, 俞花美. 多环芳烃在土壤中的环境行为研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(1): 162-165.
GE Cheng-jun, YU Hua-mei. The environmental behaviors of polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in the soil[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2006, 14(1): 162-165.
- [3] 张 路, 范成新. 底泥中多环芳烃提取方法评述[J]. 环境监测管理与技术, 2001, 13(5): 8-12.
- ZHANG Lu, FAN Cheng-xin. A Discussion about PAHs Extraction in Sediments[J]. *The Administration and Technique of Environmental Monitoring*, 2001, 13(5): 8-12.
- [4] 崔艳红, 朱雪梅, 郭丽青, 等. 天津污灌区土壤中多环芳烃的提取、净化和测定[J]. 环境化学, 2002, 21(4): 392-396.
CUI Yan-hong, ZHU Xue-mei, GUO Li-qing, et al. Measurement of PAHs in soils samples from wastewater irrigated soil from Tianjin[J]. *Environmental Chemistry*, 2002, 21(4): 392-396.
- [5] 丁中华, 马西林, 刘瑞莲, 等. 煤都大同市大气环境中的颗粒物有机污染物和金属元素的分析研究[J]. 环境科学进展, 1996, 4(1): 23-27.
DING Zhong-hua, MA Xi-lin, LIU Rui-lian, et al. Analysis of atmospheric particulate, organic pollutants and metal elements in Datong ambient air[J]. *Advances in Environmental Science*, 1996, 4(1): 23-27.
- [6] Kicinski H G, Adamek S, Kettrup A. Trace enrichment and HPLC analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples, using solid phase extraction in connection with UV/VIS diode-array and fluorescence detection[J]. *Chromatographia*, 1989, 28: 203-208.