

全自动前处理-高效液相色谱测定土壤中的16种多环芳烃

李双双 何媛媛 杨紫薇

江苏省镇江环境监测中心

DOI:10.12238/eep.v8i2.2546

[摘要] 建立了土壤多环芳烃(PAHs)加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱净化-在线定量浓缩的全自动前处理方法,试样经高效液相色谱-紫外检测器分析,16种PAHs可完全分开。当样品量为10g,定容体积为1.0mL,进样体积为10 μ L时,方法检出限、测定下限、精密度和准确度均符合HJ 784-2016的质控要求。

[关键词] 土壤; 多环芳烃; 加速溶剂萃取; 凝胶渗透色谱; 高效液相色谱

中图分类号: Q938.1+3 **文献标识码:** A

Fully automated pretreatment-HPLC determination of 16 PAHs in soil

Shuangshuang Li Yuanyuan He Ziwei Yang

Zhenjiang Environmental Monitoring Center Zhenjiang

[Abstract] A fully automated pre-treatment method for soil sample accelerated solvent extraction gel permeation chromatography purification on-line quantitative concentration was established. The samples were analyzed by HPLC UV detector and the 16 PAHs could be completely separated. When the sample volume is 10 g, the constant volume is 1.0 ml and the injection volume is 10 μ L, the detection limit, lower determination limit, precision and accuracy of the method meet the quality control requirements of HJ 784-2016.

[Keywords] Soil; PAHs; Accelerated solvent extraction; Gel permeation chromatography; HPLC.

1 概述

多环芳烃(PAHs)是由有机物的不完全燃烧产生的,分子结构上含两个及以上苯环稠合的一类芳香烃化合物^[1,2]。目前已被确定结构的有200多种^[3],是一类典型的环境污染物,具有三致性^[4],美国环保局(EPA)在20世纪初将其中16种PAHs(萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并(a)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-c,d)芘)列为环境中优先控制的污染物^[5]。

我国对这16种PAHs在大气,水,土壤,生物体等不同介质下的研究和控制也越来越重视。其中土壤多环芳烃属于土壤污染风险管制项目,本研究依据中华人民共和国环境标准HJ 784-2016《土壤和沉积物多环芳烃的测定高效液相色谱法》开发测定土壤中的多环芳烃测定的新方法。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

全自动快速压力溶剂萃取仪(莱伯泰科Flex-HPSE);全自动凝胶净化-定量浓缩联用仪(莱伯泰科PreElite-GC/U112020G-168);平行蒸发仪(步琦Sncore Analyst);高效液相色谱仪(安捷伦1200)。

丙酮/正己烷/乙腈/环己烷/乙酸乙酯(色谱纯,国药);石英砂/硅藻土(100-60目,使用前置马弗炉中450 $^{\circ}$ C烘烤4小时);16

种多环芳烃标准溶液(100 μ g/mL,美国Accustandard);16种多环芳烃质控土(上海安谱)。

2.2 试样制备

提取:称取10g新鲜样品,加入一定量的硅藻土,在研钵中研磨成细小颗粒,充分拌匀后,装入萃取池中,放入全自动快速压力溶剂萃取仪,以丙酮:正己烷=1:1的混合溶剂为提取剂,设置载气压力0.8MPa,加热温度100 $^{\circ}$ C,萃取池压力1200-2000Psi,预加热平衡5min,静态萃取时间5min,收集提取液。

浓缩:将提取液转至平行蒸发仪,设置温度45 $^{\circ}$ C,真空度150bar,转速250转/min,浓缩至约1.0mL,加入2.0mL环己烷/乙酸乙酯=1/1的混合溶剂待净化^[6]。

净化-浓缩-定容:将浓缩后的提取液经凝胶渗透色谱净化-定量浓缩联用仪,进行净化-浓缩-定容一体化处理。凝胶渗透色谱净化方法为:色谱柱Bio-Beads SX3,紫外检测器波长254nm,淋洗液环己烷:乙酸乙酯=1:1,流量5.0ml/min,满环进样(5.0mL),收集14-24min馏分;同步在线定容浓缩:温度55 $^{\circ}$ C;定容转化成1.0mL乙腈溶液待测^[7]。

2.3 分析方法

色谱柱PAH柱(5 μ m 3.0 \times 250mm);进样量5.0 μ L;柱温30 $^{\circ}$ C;流速1.0mL/min;流动相水(A)和乙腈(B),梯度洗脱,见下表1。

表1 梯度洗脱程序

时间(min)	A(水) (%)	B(乙腈) (%)
0.0	47.0	53.0
9.0	47.0	53.0
18.0	5.0	95.0
26.0	5.0	95.0
26.5	47.0	53.0
30.0	47.0	53.0

检测器: DAD, 根据各组分的出峰顺序, 在同一检测通道A, 设置程序可变波长, 具体如下表2所示。

表2 程序可变波长参数

时间 (min)	通道A	
	波长 nm	带宽 nm
0.0	220	4
10.0	250	4
14.0	240	4
17	270	4
19.5	250	4
22.5	220	4

2.4 标准曲线的建立

取16种多环芳烃标准溶液(100 μg/mL), 配制5个质量浓度分别为0.10, 0.50, 1.00, 5.00, 10.0mg/L的标准系列, 贮存于棕色进样瓶中, 依次由低浓度到高浓度进高效液相色谱分析。^[8]以目标化合物浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 建立标准曲线, 16种化合物能完全分离, 在0.10-10.0mg/L范围内线性关系良好, 相关系数均>0.995, 所得标准图谱见图1。

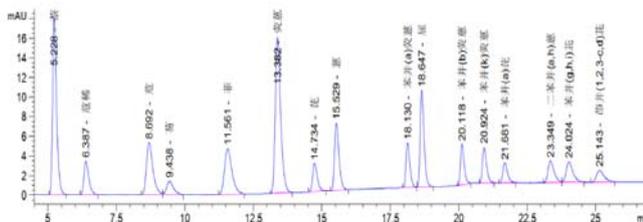


图1 1.00 mg/L 16种PAHs的标准图谱

2.5 试样分析

将2.2制备好的土壤试样经0.45 μm PTFE滤膜过滤后直接进入高效液相色谱分析。按照2.4方法进行测定, 根据2.5的标准曲线计算试样中目标化合物的浓度。若试样浓度超出标准曲线的范围, 样品需重新提取, 分取适量提取液后重新处理后测定。^[9]

3 结果与讨论

3.1 检出限和测定下限

按照样品分析的全部步骤, 依据环境监测标准HJ168-2020^[10]规定, 以2-5倍信噪比(S/N)为估计检出限(EDL), 为2.0 μg/kg。以硅藻土为空白样品, 加入5倍EDL的16种PAHs标液, 按照2.3方法制备试样, 2.6方法进行试样分析。方法检出限(MDL)=3.143×s, 测定下限(LDL)=4×MDL, 同时需要满足试样中16种多环芳烃有9种目标物样品浓度在3~5倍MDL的范围内(超过

50%), 15种在1~10倍MDL的范围内(超过90%), 1种小于20倍MDL的范围(小于10%), 因此, 选择2~4μg/kg作为土壤多环芳烃的MDL比较合适,^[11]具体见表3。

表3 方法检出限测定下限计算结果(单位: μg/kg)

序号	化合物	方法检出限	测定下限
1	萘	1	4
2	苊烯	3	12
3	苊	2	8
4	芴	2	8
5	菲	2	8
6	蒽	2	8
7	荧蒽	2	8
8	芘	3	12
9	苯并(a)蒽	3	12
10	屈	2	8
11	苯并(b)荧蒽	4	16
12	苯并(k)荧蒽	2	8
13	苯并(a)芘	2	8
14	二苯并(a,h)蒽	3	12
15	苯并(g,h,i)芘	3	12
16	茚并(1,2,3-c,d)芘	2	8

表4 精密度和准确度(单位: μg/kg)

序号	化合物	浓度水平	RSD%	加标回收率%
1	萘	10.0	5.4	105
		200	0.6	67.0
		500	0.5	61.2
2	苊烯	10.0	4.8	76.9
		200	0.7	89.5
		500	0.5	86.8
3	苊	10.0	1.2	82.9
		200	0.7	90.0
		500	0.5	88.0
4	芴	200	0.9	96.0
		500	0.7	96.0
		500	0.7	96.0
5	菲	200	0.8	91.5
		500	0.5	97.2
		500	0.5	97.2
6	蒽	10.0	4.5	92.5
		200	0.6	97.5
		500	0.5	91.6
7	荧蒽	200	0.6	94.0
		500	0.5	94.8
		500	0.5	94.8
8	芘	10.0	0.5	89.4
		200	0.7	94.5
		500	0.5	95.0
9	苯并(a)蒽	200	0.6	91.5
		500	0.8	92.0
		500	0.8	92.0
10	屈	10.0	0.8	76.9
		200	0.6	96.0
		500	1.6	72.6
11	苯并(b)荧蒽	10.0	12	82.9
		200	0.7	95.0
		500	0.6	92.8
12	苯并(k)荧蒽	200	0.6	95.5
		500	1.3	86.6
		500	1.3	86.6
13	苯并(a)芘	200	3.0	94
		500	2.7	95.2
		500	2.7	95.2
14	二苯并(a,h)蒽	200	0.8	93.5
		500	3.9	57.2
		500	3.9	57.2
15	苯并(g,h,i)芘	200	1.4	94.5
		500	0.6	94.6
		500	0.6	94.6
16	茚并(1,2,3-c,d)芘	200	2.6	95.0
		500	1.0	94.6
		500	1.0	94.6

3.2 方法精密度和准确度

依据HJ 168-2020,对浓度为10.0、200和500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的硅藻土空白样品进行了6次重复测定。以测定的相对标准偏差(RSD%)表示精密性,以加标回收率表示准确度,结果满足HJ784-2016的质控要求,^[12]具体如表4。

3.3 方法正确度

根据HJ168-2020中的方法正确度的要求,对土壤标准有证样进行测定,结果详见下表。

表5 土壤有证标准质控样品测试数据(单位: mg/kg)

化合物	测定结果	标准质控浓度	验收范围
萘	2.22	4.13 \pm 0.04	2.07-4.60
萘烯	2.93	3.67 \pm 0.03	1.84-5.51
萘	3.65	4.53 \pm 0.04	2.27-6.80
芴	3.44	3.94 \pm 0.04	1.97-5.92
菲	3.17	3.92 \pm 0.04	1.96-5.83
蒽	3.11	3.82 \pm 0.04	1.91-5.72
荧蒽	4.66	6.36 \pm 0.06	3.18-9.54
芘	3.04	4.07 \pm 0.04	2.03-6.10
苯并(a)蒽	2.81	3.89 \pm 0.04	1.94-5.83
蒽	3.05	4.17 \pm 0.04	2.08-6.25
苯并(b)荧蒽	2.75	3.87 \pm 0.04	1.93-5.80
苯并(k)荧蒽	2.80	3.71 \pm 0.03	1.85-5.56
苯并(a)芘	2.97	4.00 \pm 0.04	2.00-6.00
二苯并(a,h)蒽	2.96	3.68 \pm 0.03	1.84-5.52
苯并(g,h,i)芘	2.87	4.02 \pm 0.04	2.01-6.03
茚并(1,2,3-c,d)芘	2.72	3.95 \pm 0.04	1.97-5.92

3.4 实验结论

当样品量为10g,定容体积为1.0mL,进样体积为10 μL ,测定土壤16种多环芳烃的方法检出限为2~4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,测定下限为8~16 $\mu\text{g}/\text{kg}$;

实验室对含量为10.0、200和500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的硅藻土加标样品进行了6次重复测定。实验室内RSD分别为:0.5%~12%,0.6%~3.0%,0.5%~3.9%;^[13]

实验室对含量为10.0、200和500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的硅藻土加标样品进行了6次重复测定。加标回收率分别为:76.9%~105%,67.0%~97.5%,57.2%~97.2%;

实验室对含量为土壤标准有证物质进行了6次重复测定,测定浓度均在质控范围内。

经实验确认,检出限、精密性、准确度、正确度等均符合HJ 784-2016要求,可以运用本研究方进行土壤中16种多环芳烃的测定。

[项目名称]

农药-抗生素多组分快速筛查与分析技术研究,项目编号: ZJ2401。

[参考文献]

[1]邓绍坡,吴运金,龙涛.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.

[2]吴健,王敏,靳志辉,等.土壤环境中多环芳烃研究的回顾与展望—基于Web of Science大数据的文献计量分析[J].土壤学报,2016,53(5):1085-1096.

[3]倪妮,宋洋.多环芳烃污染土壤生物联合强化修复研究进展[J].土壤学报,2016,53(3):561-568.

[4]王春辉,吴绍华,周生路,等.典型土壤持久性有机污染物空间分布特征及环境行为研究进展[J].环境化学,2014,33(11):1828-1836.

[5]Ding Rui, Ma Wei Fang. Reseach Progress and technical comparison on detection of trace polycyclic aromatic in the environment[J]. China Academic Journal Electronic Publishing House,2020,11(1):743-750.

[6]胡国坤,余可垚,张睿萱,等.加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱法测定中华绒螯蟹中16种多环芳烃.食品安全质量检测学报,2021,12(17):6894-6899.

[7]付衍宽,孙志洪.加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱法净化-气相色谱-串联质谱法测定土壤中常见的7种农药残留量[J].理化检验-化学分册2021,57(8):687-692.

[8]汪伟薇,孙毓鑫,徐向荣.西沙永兴岛土壤中多环芳烃的分布特征及来源[J].生态科学,2021,40(5):1-7.

[9]GB36600-2018,土壤环境质量建设用地土壤污染风险管控标准[s].生态环境部,2018.

[10]HJ784-2016,土壤和沉积物多环芳烃的测定高效液相色谱法[s].北京:环境保护部,2016.

[11]HJ783-2016,土壤和沉积物有机物的提取加压流体萃取法[s].北京:生态环境部,2015.

[12]刘奋.高效液相色谱DAD检测器程序可变波长检测方法研究.中国卫生检验杂志,2000,10(6):662-667.

[13]HJ168-2020,环境监测分析方法标准制订技术导则[s].北京:生态环境部,2020.

作者简介:

李双双(1985--),女,汉族,江苏仪征人,硕士研究生,高级工程师,从事的研究方向:环境中痕量有机物的监测分析。