

土壤、沉积物和植物样品中多环芳烃(PAHs) 不同提取与净化方法比较

刁春燕^{1,2,3}, 周启星^{2*}, 周俊良³, 孙约兵⁴

(1. 贵州民族学院化学与环境科学学院, 贵阳 550025; 2. 南开大学环境科学与工程学院, 环境污染过程与基准教育部重点实验室, 天津 300071; 3. Department of Biology and Environmental Science, School of Life Sciences, University of Sussex, Falmer, Brighton BN1 9QJ, UK; 4. 农业部环境保护科研监测所污染防治研究室 农业部/天津市产地环境与农产品安全重点开放实验室, 天津 300191)

摘要:系统分析和比较了土壤、沉积物和植物样品中多环芳烃(PAHs)的提取与净化方法, 阐述和对比了索氏提取法、超声波提取法、超临界流提取法、固相提取与固相微提取法、固液提取法、微波辅助提取法、快速溶剂提取法等提取方法以及定量浓缩净化法、硅胶柱层析净化法、费罗里土柱层析净化法、氧化铝净化法、固相萃取(SPE)净化法等净化方法。旨在通过比较目前的提取和净化方法, 展望将来提取与净化方法发展的新方向。

关键词:PAHs; 提取方法; 净化方法; 土壤样品; 沉积物样品; 植物样品

中图分类号:X830.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)12-2399-09

Comparison of Extraction and Purification Methods for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Soil, Sediment and Plant Samples

DIAO Chun-yan^{1,2,3}, ZHOU Qi-xing^{2*}, ZHOU Jun-liang³, SUN Yue-bing⁴

(1. College of Chemistry and Environmental Science, Guizhou University of Nationalities, Guiyang 550025, China; 2. MOE Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria, College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China; 3. Department of Biology and Environmental Science, School of Life Sciences, University of Sussex, Falmer, Brighton BN1 9QJ, UK; 4. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: Various extraction and purification methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil, sediment and plant samples were systematically analyzed. The extraction methods including Soxhlet extraction, ultrasonic assisted extraction, supercritical fluid extraction, solid phase extraction, solid phase microextraction, solid-liquid extraction, cloud point extraction, shaking extraction, microwave assisted extraction and accelerated solvent extraction were expounded and compared. At the same time the purification methods were also reviewed, such as quantitative concentrated purification, silica column purification, Florisil column purification, alumina gel column purification, gel permeation chromatography purification and solid phase extraction (SPE) purification. The extraction and purification methods for plant samples were similar with those for soil and sediment samples. The most widely applied extraction methods for plants were Soxhlet extraction, ultrasonic assisted extraction, supercritical fluid extraction, accelerated solvent extraction, solid phase extraction and plant solvent extraction. The most widely applied purification methods for plants were silica column purification, saponification assisted silica column purification, gel permeation chromatography purification, solid phase extraction (SPE) purification and hollow fiber liquid micro-extraction. According to the comparison of the current extraction and purification methods, future developments for both of the methods were suggested. New equipments should be explored to reduce the inaccuracy of experiments.

Keywords: PAHs; extraction method; purification method; soil sample; sediment sample; plant sample

收稿日期: 2011-05-19

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(40930739, 21037002)

作者简介: 刁春燕(1978—), 女, 河北衡水人, 博士, 副教授, 主要从事环境生态修复及低碳产业链的研究。E-mail: diaoxuanji@126.com

* 通讯作者: 周启星 E-mail: zhouqx@nankai.edu.cn

关于多环芳烃(PAHs)的多介质环境污染的报道很多,大多数国家已经将 PAHs 列为环境监测的重要内容之一,“中国环境优先监测黑名单”中包括 7 种 PAHs,美国环保总署确定了 16 种 PAHs(简称 EPA-PAHs)作为优先监测污染物。PAHs 最突出的特性是致癌、致畸及致突变性,并且致癌性随着苯环数的增加而增加^[1]。当 PAHs 与某些官能团发生作用时,生成致癌性更强的 PAHs 衍生物^[2]。防治农业环境 PAHs 污染、保障农产品安全,必须建立简便、高效的 PAHs 分析方法^[3]。由于农业环境所涉及的土壤、沉积物和植物样品机体复杂、干扰物多、难以直接测定,而这些复杂介质样品分析前处理过程中最重要的就是样品提取和净化,所以这两个步骤对 PAHs 分析测定的准确性起着决定性作用。

1 土壤和沉积物中 PAHs 的提取方法

1.1 索式提取法

索式提取器是在 1879 年由 Franz von Soxhlet 发明的实验仪器,由圆底烧瓶、提取器和球形冷凝管 3 部分组成。它最初的设计是为了从固体中提取脂类化合物,如果待提纯的化合物在溶剂中有有限的溶解度而杂质不溶于这种溶剂,也可以使用索式提取器进行提取。

一般来讲,索式提取的样品是放在用很厚的滤纸制成的筒中,然后整个筒放在索提的套管中,索提被放在装有萃取溶剂的烧瓶上,索提的上方有一只回流冷凝管,溶剂会通过蒸汽路径上行并流入套管,浸润样品。冷凝管保证了所有溶剂蒸汽都会被冷却而回到套管中浸润固体,套管逐渐被热的溶剂充满,这时一些待提纯物质逐渐溶解在热溶剂中。当索提的套管近满时,溶剂就会自动地顺着虹吸管流出,重新进入烧瓶进行蒸馏。如此循环,时间可达数小时或数日,在每个周期中都有一部分化合物溶解在溶剂中,许多周期后这些化合物就会主要集中于烧瓶内。这种提取方法具有操作简单,可持续回流提取,溶剂量少等优点。

索式提取法(S Soxhlet Extraction, SE)提取 PAHs 的具体步骤:称取样品(5~40 g)于索式提取器,加入有机提取剂(甲醇、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷或者含不同比例的某些提取剂的混合剂),根据不同样品需求选择合适的提取时间开始提取,PAHs 的提取一般为 8~72 h 不等。

刘颖^[4]选用 US-EPA 公布的索式提取法,取 5.0 g 样品和 5.0 g 无水硫酸钠混合均匀,提取剂为丙酮和

正己烷各 50 mL,回流频率为 4~6 次·h⁻¹,经 22 h 索氏提取,获得浓缩后的提取液。毕鸿亮等^[5]取 20.0 g 土壤样品,加入适量铜片及回收率指示物(二氢苊-d10 10 μ L 113 mg·L⁻¹、菲-d10 10 μ L 101 mg·L⁻¹),用 200 mL 二氯甲烷索氏提取 48 h,对绿色食品产地的土壤 PAHs 进行了研究。Itoh 等^[6]用正己烷/丙酮(1:1)、二氯甲烷和乙酸乙酯为提取剂提取了 4 h,选择正己烷和丙酮后分别对比了 8、16 h 和 24 h 的提取效果。

1.2 超声波提取法

超声波提取是利用超声波增大物质分子运动频率和速度,增加溶剂穿透力,提高污染物的溶出速度和溶出次数,缩短提取时间的浸提方法。超声波在媒质中传播可使媒质质点在其传播空间内进入振动状态强化溶质扩散、传质,即超声波机制;超声波在媒质质点传播过程中其能量不断被媒质质点吸收变成热能,导致媒质质点温度升高,即超声波热学机制。同时,大量的超声波作用于提取介质,当振动处于稀释状态时,介质被撕裂成许多小空穴,这些小空穴瞬时闭合时会产生高达几千大气压的瞬时压力,即空化现象。在超声场中由于被破碎物等所处的提取介质中含有大量的溶解气体及微小的杂质,它们包围在被破碎物等的胶质外膜周围,为超声波作用提供了必要条件。空气中产生的极大压力造成被破碎物细胞壁及整个生物体破裂,而且整个破裂过程在瞬时完成,同时超声波产生的振动作用加强了胞内物质的释放扩散及溶解。超声波破碎过程是一个物理过程,浸提过程中无化学反应,被浸提的生物活性物质在短时间内保持不变,而破碎速度提高、破碎时间缩短,可极大地提高提取效率^[7]。

超声波辅助提取法(Ultrasonic Assisted Extraction, UAE)提取 PAHs 的步骤:称取样品(3~10 g),加入有机提取剂(正己烷、甲醇、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷或者有不同比例的某些提取剂的混合剂),再加入铜粉和无水硫酸钠(去除硫元素及水分的干扰),摇匀置于超声波清洗器中,选择提取时间(15 min~2 h),冷却分离得到提取液。

近年来超声提取法的使用依然频繁。徐荣等^[8]采用超声提取法,比较了二氯甲烷、二氯甲烷/丙酮(1:1)和正己烷/丙酮(1:1)3 种不同提取剂的提取效率,以及不同提取时间对其提取效率的影响。高彦征等^[9]取用 2 g 土壤样品于 25 mL 玻璃离心管中(湿土要先加入 2 g 过 20 目筛的无水硫酸钠,充分混匀),加入 10 mL 二氯甲烷,盖紧后于超声水浴中超声萃取 1 h,分

离得提取液。Bossio 等^[9]采用超声提取法分析有机样品。King 等^[10]运用超声提取法提取了英国港口沉积物中的 PAHs, 提取剂采用二氯甲烷, 两次提取。

1.3 超临界流体提取法

CO₂ 的临界温度(T_c)和临界压力(P_c)分别为 31.05 °C 和 7.38 MPa, 当处于这个临界点以上时, CO₂ 同时具有气体和液体双重特性。它既近似于气体, 粘度与气体相近; 又近似于液体, 密度与液体相近, 但其扩散系数却比液体大得多, 是一个优良的溶剂, 能通过分子间的相互作用和扩散作用将许多物质溶解。同时, 在稍高于临界点的区域内, 压力稍有变化, 即引起其密度的很大变化, 从而引起溶解度的较大变化。因此, 超临界 CO₂ 可以从基体中将物质溶解出来, 形成超临界 CO₂ 负载相, 然后降低载气的压力或升高温度, 超临界 CO₂ 的溶解度降低, 这些物质就沉淀出来(解析)与 CO₂ 分离, 从而达到提取分离的目的。不同的物质由于在 CO₂ 中的溶解度不同或同一物质在不同的压力和温度下溶解状况不同, 使这种提取分离过程具有较高的选择性^[11-12]。

超临界流体提取法 (Supercritical Fluid/Liquid Extraction, SFE/SLE) 提取 PAHs 的实验步骤: 准确称取 1.0 g 样品与无水 Na₂SO₄ 以 2:1 比例混合均匀后, 放入 2.5~4 mL 提取池(加无水 Na₂SO₄ 以除去土样中水分), 样品中含有有机硫化物, 可能在加热限流器中降解, 在提取池和限流器之间加入少许酸化过的铜屑, 铜能与有机硫化物反应生成 CuS, 可避免因硫化物进入限流器而导致限流器阻塞或引起限流器流速变化。在一定压力和温度下, 先静态提取 15~20 min, 后动态提取一定体积的液态 CO₂, 提取物收集在 4.0 mL 丙酮或者正己烷中, 定容 2.0 mL。

高连存等^[13]采用超临界流体分析土壤中的 PAHs, 并与索式提取法进行了比较, 同时研究了压力、温度 and 不同改良溶剂的提取方式对 PAHs 提取的影响。Bogolte 等^[14]用 CO₂ 作提取剂对工业污染土壤中的几种 PAHs 进行了分析, 并模拟了场地复杂条件和简单条件下的不同提取状况, 证明连续流超临界流体提取是很好的提取法。Zougagh 等^[15]用密度为 0.8 g·mL⁻¹ 的 CO₂ 为流体, 温度 40~70 °C, 静态和动态提取时间分别为 0.5 min 和 15 min, 取得了良好的 PAHs 提取效果。

1.4 加速溶剂提取法

加速溶剂萃取 (Accelerated Solvent Extraction, ASE) 是一种在较高的温度和较大的压力下, 用溶剂

萃取固体或半固体样品的前处理方法。操作流程主要为称取样品 5 g 左右和准备 1 mL 的标准储备液, 置于提取池中, 加入有机提取剂(甲醇、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷或者含不同比例的某些提取剂的混合溶剂), 静态提取 3~20 min, 然后清洗浓缩得提取液。该方法具有溶剂用量少、提取时间短和样品提取自动化的优点, 已被 EPA 收录为处理固体样品的标准方法之一。

Hubert 等^[16]系统研究了 ASE 的各种操作条件对 PAHs 提取效率的影响, 最佳条件是使用甲苯作为提取剂, 通过 3 个静态循环, 提取时间 3×10 min, 压力 15 MPa, 在 80 °C 和 140 °C 条件下两步提取, 提取效率与土壤参数、样品污染的程度以及 PAHs 的物理化学性质有关。李庆玲等^[17]建立了用加速溶剂提取技术提取含硫沉积物中痕量 PAHs 的可靠方法, 优化了不同提取剂、不同提取程序等提取条件, 研究了沉积物中的硫化物对 PAHs 测定的影响。崔艳红等^[18]用加速溶剂提取仪(DIONEX, ASE-300)提取, 取 10 g 样品装入 33 mL 萃取池中, 提取温度为 100~160 °C, 压强 10.34 MPa(1 500 psi), 静态提取 3~8 min, 其后用溶剂快速冲洗样品, 氮气吹扫收集全部提取液, 可以得到很好的效果。王潇磊等^[19]通过对比试验、条件试验等对 ASE 提取土壤中 PAHs 的效果进行了验证, 结果表明: 温度 80~110 °C, 压力 6.895~13.790 MPa(1 000~2 000 psi), 均适用于提取土壤中 PAHs, 含有丙酮的提取溶剂对 PAHs 回收率较高; 萘、苊烯和二氢苊浓缩回收率偏低, 其他 PAHs 回收率较好。

1.5 固相提取法

固相提取法 (Solid Phase Extraction, SPE) 是近年发展起来的一种样品预处理技术, 由液固萃取和柱液相色谱技术相结合发展而来, 主要用于样品的分离、纯化和浓缩, 与传统的液液萃取法相比较可以提高分析物的回收率, 更有效地将分析物与干扰组分分离, 减少样品预处理过程, 操作简单、省时、省力。其基本原理是样品在两相之间的分配, 即在固相(吸附剂)和液相(溶剂)之间的分配, 保留或洗脱的机制取决于被分析物与吸附剂表面的活性基团, 以及被分析物与液相之间的分子间作用力。具有两种洗脱模式: 一种是被分析物比所存在的生物介质与固相之间的亲和力更强, 因而被保留, 然后用一种对被分析物亲和力更强的溶剂洗脱; 另一种是存在的生物介质较被分析物与固相之间亲和力更强, 则被分析物被直接洗脱。

SPE 的基本流程:

(1)预处理。先用数毫升甲醇润湿小柱,活化填料,以使固相表面易于和被分析物发生分子间相互作用。填料未经预处理或者未被溶剂润湿,会引起被分析物过早穿透,影响回收率。

(2)加样。使水样经过小柱,弃去废液。

(3)除去干扰杂质。用水或适当的缓冲液冲洗小柱,转移样本中的内源性杂质和其他相关杂质。

(4)分析物的洗脱和收集。选择适当的洗脱溶剂洗脱被分析物,收集洗脱液,浓缩后备用或直接进样分析。

固相提取法的关键性因素就是对填料的选择。选择固定相基本上是遵循相似相溶原则,分析物的极性与固定相极性相近时,可以得到分析物的最佳保留,两者极性越相近,保留越好,所以要尽可能选择相似的固定相。吸附性填料有活性炭、硅藻土、硅胶、氧化铝等;化学键合型硅胶类填料有正相和反相,正相的有氨基、腈基、二醇基,反相的有C1、C2、C6、C8、C18、腈基、环己基、苯基等;离子交换型填料有季胺基、氨基、二氨基、苯磺酸基和羧基等。

Oleszczuk等^[20]用SPE法提取菲、苈、蒽、苯并[a]芘、苯并[g,h,i]芘。萃取柱用5 mL异丙醇/水(10:90,体积比)润湿,2×3 mL四氢呋喃/己烷(50:50,体积比)洗脱得到提取液。Ramos等^[21]用SPE法提取16种EPA-PAHs,先超声得到初步提取液后通过SPE提取柱,柱干燥5 min后用甲醇/水(1:1,体积比)淋洗,乙腈洗脱。

固相微提取法(Solid Phase Microextraction, SPME)^[22]是对传统固相提取法的延伸,由加拿大Waterloo大学Rawliszyn于1990年首创,被评为20世纪最具潜力的100项技术发明之一。该技术中的固相为一支覆盖着一层高聚物固定相(聚甲基硅氧烷或聚丙烯酸酯)的熔融石英纤维,该纤维被置于一个微量注射器的针腔内,使用时将针筒推出,则纤维降低,放入样品液中一段时间,在转子搅拌下,分析物被吸附,然后将纤维退回进样针内,当进样针插入GC进样口时,样品发生热解吸附,从而进入分析柱中。竹炭固相微提取法(Bamboo Charcoal Solid Phase Microextraction, BC-SPME)^[23]是自制竹炭SPE柱,将竹炭研磨后,过0.178 mm孔径(80目)的铜筛,80℃下烘干2 h,以商品化的聚丙烯固相萃取小柱管(Supeclon LC-18, 500 mg·6 mL⁻¹)装填:将LC-18固相萃取管的填料去除,用正己烷浸泡萃取管和筛板,晾干,准确称取1.000 mg竹炭装入萃取管中,两端用筛板封住,即为

竹炭SPE柱,临用前用50 mL正己烷、50 mL二氯甲烷淋洗去除杂质。此法可在今后用于土壤、沉积物样品中PAHs的提取。

1.6 其他一些重要的提取方法

浊点萃取(Cloud Point Extraction, CPE)是近年来出现的一种新型液-液萃取技术,它以表面活性剂胶束水溶液的溶解性和浊点现象为基础,通过改变实验条件引发水相和表面活性剂相分离,达到分离富集环境中痕量疏水性物质的目的,已成功用于水中金属及有机污染物的分离富集。土壤的基底复杂,PAHs含量较低,适合采用浊点提取法进行分离富集。陈虹丽等^[24]采用阴离子表面活性剂十二烷基硫酸钠(SDS)超声波辅助浊点提取技术(CPE),提取及测定了土壤及底泥中痕量PAHs,并对其影响因素进行了探讨。胡琼等^[25]研究了加盐、加热、离心和搅拌4种辅助方法对浊点提取法的影响。

微波辅助提取(Microwave Assisted Extraction, MAE)是指利用微波加热来加速溶剂对固体样品中目标提取物的提取过程。微波辅助提取的主要步骤:定量称取样品置于聚四氟乙烯试样管中,加适量溶剂,以密封活塞塞好,置于密闭溶样罐中,旋好外盖,在微波溶样系统中接受微波辐射数分钟;将密闭溶样罐取出后以流水冷却至罐体内恢复常压,在试样管中加入几克无水硫酸钠以除去水分,析出提取液,固体物再以提取剂清洗,清洗液析出后与提取液合并,高速离心处理,清液经过滤、浓缩至1 mL,待测。Bartolom等^[26]用微波辅助提取法提取了16种EPA-PAHs。Shu等^[27]曾用微波辅助提取法测定了16种PAHs。

水平恒温振荡法(Shaking Extraction, SE)比较简单。葛成军等^[28]选用此法分析了土壤中的PAHs,取20 g黄棕壤样品于100 mL三角瓶中,分别以二氯甲烷、V(二氯甲烷)/V(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。此外,还与索式提取法和超声提取法进行了比较。

液固搅拌提取法(Liquid-Solid Stirring Extraction, LSSE)的原理是利用磁力搅拌装置,以二氯甲烷或N,N-二甲酰胺(DMF)等有机溶剂为提取剂,在常温下连续搅拌10 h或以上完成提取过程。水蒸气蒸馏提取法(Water Distilled Extraction, WDE)是利用蒸馏装置,以二氯甲烷、正己烷等有机溶剂为提取剂,在

常温下连续蒸馏完成提取过程。此法在实际中很少用。

总之,对于土壤、沉积物样品中的 PAHs 提取方法很多,不同方法有不同的适用范围和优缺点。表 1 归纳了上述各种方法的优缺点。

2 土壤和沉积物中 PAHs 的净化方法

2.1 硅胶柱层析法

PAHs 样品分析中另一个重要环节就是样品净化,提取液的净化好坏也直接影响 PAHs 的测定效果。硅胶柱层析净化法是目前土壤和沉积物中 PAHs 净化的常用方法之一。

硅胶柱层析法(Silica Column Purification,SCP)的原理是根据物质在硅胶上的吸附力不同而得到分离。一般情况下,极性较大的物质易被硅胶吸附,极性较弱的物质不易被硅胶吸附,整个层析过程即是吸附、解吸、再吸附、再解吸过程。层析流动相选择一般为:极性小的用乙酸乙酯,如石油醚系统;极性较大的用甲醇,如氯仿系统;极性大的用甲醇-水-正丁醇-醋酸系统,拖尾可以加入少量氨水或冰醋酸。

硅胶柱层析的一般步骤为:

- (1)称量。200~300 目硅胶,称 30~70 倍于上样量。
- (2)搅成匀浆。加入干硅胶体积 1 倍的溶剂,用玻璃棒充分搅拌。如果洗脱剂是石油醚/乙酸乙酯/丙酮体系,就用石油醚;如果洗脱剂是氯仿/醇体系,就用氯仿。
- (3)装柱。将柱底用棉花塞紧,加入约 1/3 体积石

油醚(氯仿),装上蓄液球,打开柱下活塞,将匀浆一次倾入蓄液球内。随着沉降,会有一些硅胶沾在蓄液球内,用石油醚(氯仿)将其冲洗入柱中。

(4)压实。沉降完成后,加入更多的石油醚,用双联球或气泵加压,直至流速恒定。这样可使分离度提高很多,且可以避免过柱时由于柱床萎缩产生开裂。

(5)上样。上样后,加入一些洗脱剂,再将一团脱脂棉塞至接近硅胶表面,防止大量洗脱剂会冲坏硅胶表面。

(6)过柱和收集。柱层析实际上是在扩散和分离之间的权衡,推荐用梯度洗脱。收集的例子:10 mg 上样量,1 g 硅胶,0.5 mL 收一馏分;1~2 g 上样量,50 g 硅胶(200~300 目),20~50 mL 收一馏分。由于商用硅胶柱比较昂贵,许多研究者自制硅胶柱,也可以采用皂化等辅助手段配合硅胶柱净化。

周婕等^[29]以粒径为 0.07 mm 和 0.05 mm 的硅胶为柱填料,研究了全苯基异氰酸酯基环糊精的分离,考察了流动相组成、填料床层、流速、柱温和上样量等因素对分离的影响。结果表明,硅胶柱层析法纯化全苯基异氰酸酯基环糊精的最佳工艺条件:床层高度为 32 cm,流动相为正己烷:乙酸乙酯=2:1,流速为 0.6 mL·min⁻¹,柱温为 30 ℃,最大上样量为 0.02 g 混和物(溶于 2 mL 流动相)。在此条件下,先洗脱组分回收率为 40.91%,后洗脱组分回收率为 50.00%,总回收率为 90.91%。

2.2 弗罗里硅土柱层析净化法

弗罗里硅土柱层析法 (Florisil Column Purifica-

表 1 土壤、沉积物中 PAHs 各种提取方法的优缺点比较

Table 1 Comparison of relative merits of various extraction methods for PAHs in soil and sediments

提取方法	优点	缺点
索式提取法	经典的索氏提取法回收率较高;自动索式提取法提高了操作流程的便利性;相对缩短了时间	提取时间较长;操作也相对较烦琐,一般需要连续提取几天;溶剂的使用量较大
超声波提取法	方法简单;速度较快,一般需几个小时;有较好的提取回收率	由于超声波可能会破坏不稳定化合物的原有结构,对于提取其他结构不稳定化合物是不合适的
液固搅拌提取法	简单,对设备的要求很低	回收率与其他几种提取方法相比也较低
水蒸气蒸馏提取法	简单,对设备的要求最低	处理过程复杂且回收率与其他几种提取方法相比也较低,很少用
超临界流体提取法	高效、快速、精密度好	仪器及运行昂贵
加速溶剂提取法	有机溶剂用量少、萃取速度快、样品回收率高	大量样品同时处理比较烦琐
固相提取法	高回收率;更有效地将分析物与干扰组分分离;不需要使用超纯试剂,有机溶剂的低消耗减少对环境的污染;能处理小体积试样;无相分离操作,容易收集分析物组分;操作简单、省时、省力、易于自动化	不利于分析量多的样品;浑浊样品易于堵塞;多用于水样品的测定
浊点提取法	提取率较高	分析前需要去除表面活性剂
微波辅助提取法	快速、回收率高、不使用有毒溶剂、可以萃取和分析从非极性到极性物质,可在低温下萃取热不稳定性的化合物,不必担心中毒和环境污染问题	样品在微波内提取时溶剂易于挥发;样品容器不易于密封
水平恒温振荡法	提取时间短;提取效率较高	前期时间长,溶剂量大

tion, FCP) 是正相机理模式的方法, 弗罗里硅土柱的制备过程一般为: 200 mm×15 mm (直径) 玻璃柱, 底部垫约 0.5 cm 高脱脂棉, 依次填装 1 cm 无水硫酸钠、5 g 弗罗里硅土和 1 g 无水硫酸钠, 用二氯甲烷/丙酮 (90:10, V/V) 20 mL 前处理后备用。弗罗里硅土柱层析净化的一般步骤: 萃取后的提取液经脱水 (一般用无水硫酸钠) 处理后直接通过弗罗里硅土, 提取液中的 PAHs 及其他干扰组分都将吸附于弗罗里硅土。然后用二氯甲烷/丙酮 (1:1, V/V) 浸泡再洗脱, 洗脱液浓缩后进样分析。一般应先用标样做试验, 以了解能否达到较高的回收率。弗罗里硅土柱层析法操作简单, 重复性较高, 分析多苯环的 PAHs 较适合, 但低苯环的 PAHs 有可能会丢失。

弗罗里硅土柱层析净化方法在残留分析中已有广泛应用, 而在多残留分析中常用极性不同的溶剂体系, 把各种分析物淋洗入不同的洗提馏分中, 使分析物得到分组分离。何强等^[30]采用乙腈对烯酰吗啉在土壤中的残留量进行振荡提取, 用弗罗里硅土固相萃取柱净化, 毛细柱气相色谱电子捕获检测器测定, 结果表明: 烯酰吗啉 Z 式和 E 式色谱峰分离完全, 平均回收率为 97.3%~98.9%, 变异系数小于 5%。卢福峰等^[31]使用弗罗里硅土固相萃取柱净化, 除去萃取液中的杂质。净化前先将萃取液上旋转蒸发仪浓缩, 转换溶剂为正己烷, 浓缩至 2 mL。SPE 净化分以下几步: 活化, 取 5 mL 丙酮/正己烷混合液 (体积比为 1:9) 加入柱管, 用真空泵以低于 5 mL·min⁻¹ 的流量抽至液面与固相物质持平, 再加入 5 mL 正己烷同上处理; 上柱, 将 2 mL 萃取液加到柱内, 用少量正己烷清洗容器, 将清洗液一并加入柱内, 用真空泵以低于 5 mL·min⁻¹ 的流量过柱, 抽空, 用鸡心瓶收集流出液; 淋洗, 向柱中加入 5 mL 丙酮/正己烷混合液 (体积比为 1:9), 以 5 mL·min⁻¹ 的流量淋洗; 抽空, 收集淋洗液于同一鸡心瓶中, 用高纯氮气将淋洗液与流出液吹至近干, 用乙腈定容至 1 mL, 待测。

2.3 氧化铝柱净化法

氧化铝柱净化法 (Alumina Gel Column Purification, ACP) 原理和硅胶柱及弗罗里硅土柱原理相似, 只是柱内填料不一样, 所以吸附洗脱效果也不一样。若要装干柱, 将氧化铝连续倒入柱子中, 边装边振动或装好后敦实; 若装湿柱, 将氧化铝与氯仿混合, 呈糊状或更稀一点, 摇匀, 排出气泡, 然后倒入柱子中, 让溶剂缓慢滴下。毕鸿亮等^[32]采用硅胶、氧化铝复合柱净化, 依次用 20 mL 正己烷洗去杂质, 70 mL 二氯甲

烷/正己烷 (3:7, V/V) 混合液洗脱 PAHs。

2.4 凝胶渗透层析净化法

凝胶渗透层析 (Gel Permeation Chromatography, GPC) 也称凝胶排阻层析 (Gel Exclusion Chromatography)、分子筛层析 (Molecular Sieve Chromatography)、凝胶过滤 (Gel Filtration) 等, 它是以多孔性凝胶填料为固定相, 按分子大小顺序分离样品中各个组分的液相色谱方法。1959 年, Porath 和 Flodin 首次用一种多孔聚合物——交联葡聚糖凝胶作为柱填料, 分离水溶液中不同分子量的样品, 称为凝胶过滤。凝胶的选择要考虑凝胶的种类及型号, 有分子量相差悬殊的物质的分离和分子量相差不大的物质的分离之分, 而且如果样品处理量较大, 应选用粒径较大、流速较快的凝胶; 如果要求精细分离, 就应选用粒径较细、分辨率高的凝胶。

凝胶层析是生物化学中一种常用的分离手段, 它具有设备简单、操作方便、样品回收率高、实验重复性好, 特别是不改变样品生物学活性等优点, 因此广泛用于生物分子的分离纯化, 同时还应用于分子量的测定、脱盐、样品浓缩等。朱丽波等^[33]使用自动定量浓缩仪 (EVA) 的标准浓缩模式, 将 ASE 洗提液浓缩到二氯甲烷中, 定容体积 10 mL, 然后上自动凝胶渗透色谱将提取液净化。GPC 的上样体积为 510 mL, 收集干净的提取液至自动定量浓缩仪的溶剂转成浓缩模式, 二氯甲烷溶剂转成正己烷, 定容体积为 110 mL。仪器参数: 流速为 5 mL·min⁻¹, Forun (或 Pre run) 为 1 200 s, Main run 为 960 s, Tailing 为 300 s。

3 植物样品中 PAHs 的提取与纯化方法

3.1 植物样品中 PAHs 的提取方法

PAHs 通过植物吸收而后通过食物链的机制影响生态系统和人体健康。而植物叶面对 PAHs 的吸收是植物积累 PAHs 的最重要途径之一^[34]。PAHs 在植物样品中的提取方法和土壤及沉积物样品基本相似。近年来, 应用最多的是索式提取法、超声波提取法、超临界流体提取法、加速溶剂提取、固相提取法和植物溶剂浸提法等。

阎吉昌等^[35]取长春市下风向位置杨树叶 (阔叶) 和松树叶 (针叶) 各 30 g 剪碎, 装入索氏提取器中, 用二氯甲烷提取 4 h 直至树叶无色。同样操作重复一次, 合并提取液净化, 分析。王雅琴等^[36]用植物溶剂浸提法和加速溶剂提取法对北京大学及周边地区非取暖期植物叶片中的多环芳烃进行了提取分析。将每组叶片用蒸馏水浸泡 10 min 洗去叶面尘后, 分别置于

400 mL 烧杯中,加入 CH_2Cl_2 (150 mL)使之淹没叶片,烧杯封口后旋转振荡 2 min (HZQ-C , $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$),提取液减压抽滤 (Sartorius AG 0.45 μm 玻璃纤维滤膜, SHB-III 型水循环真空泵)后定容至 150 mL 待用。对于提过叶蜡的叶片冷冻干燥 48 h (Rikakikai, FDU-830),粉碎 (东诚 JLL350-B)后,称取 1~2 g 叶片粉碎样在 ASE (戴安 ASE-300)中用体积比 1:1 的丙酮 (分析纯再蒸馏)和二氯甲烷 (分析纯再蒸馏)混合溶剂提取 PAHs。

3.2 植物样品中 PAHs 的净化方法

PAHs 在植物样品中的净化方法和土壤与沉积物样品净化相似,通常用的方法主要是硅胶柱层析净化法 (自制硅胶柱)、皂化辅助硅胶柱净化法、凝胶渗透色谱净化法、SPE 净化法、中空纤维液相微萃取法等^[37]。方学智等^[38]应用 SPE 净化法代替 GB/T 5009.146—2003 的传统净化法,并对其玉米中氯氰菊酯、溴氰菊酯测定数据的不确定度进行了分析。研究结果表明:用 15 mL 石油醚/乙酸乙酯 (体积比 95:5)淋洗氯氰菊酯和溴氰菊酯的回收率最高,分别达到了 102.07% 和 80.86%,且在 $0.005 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间具有 0.995 以上相关性。通过对应用 SPE- t_R 的不确定分析,氯氰菊酯和溴氰菊酯都具有较小的不确定度,分别为 1.86% 和 1.91%,其不确定的主要来源为标准溶液的配制和样品的称量、定容。

4 展望

由于土壤、沉积物和植物样品的复杂性,以及这些介质中 PAHs 含量仅是痕量级,发展更为有效且费用低廉的提取及净化前处理方法极为重要。传统提取方法如索氏提取、超声波提取的提取效率较高,操作简单且不需要特殊的仪器,因而一直被广泛应用。近年来,随着 SPE、SPME、MAE 等样品预处理技术的发展,不但操作简单快速,选择性好,而且自动化程度越来越高,将日益成为土壤、沉积物和植物样品中 PAHs 提取和净化的主要方法。然而,由于 PAHs 系列化合物性质存在比较大的差异且某些方法需要特殊的仪器,使得这些新方法或新技术的应用受到了一定的限制^[39]。因此,今后的发展方向是:

(1) 在环境友好、经济高效的基础上,将生物技术与现代分析手段相结合,使得样品中 PAHs 前处理技术不断提高,土壤、沉积物和植物样品中 PAHs 的提取方法更具多样性,且更为高效。

(2) 提取装置和检测仪器的智能化、自动化发展,

利用高效分离手段与智能化计算机以及精密检测仪器的联机使用,将大大减少分析过程中的偶然误差,极大地提高分析结果的准确性和精密度。

(3) 研发一体化的提取及净化浓缩装置,或者研制采用一体化的样品容器辅助各种提取和净化方法设备,将是未来的一个重要方向,尽可能使整个过程自动化、快速化、痕量化和低成本。

参考文献:

- [1] Jacob K W. Polycyclic aromatic hydrocarbons of environmental and importance[J]. *Fresenius J Anal Chem*, 1986, 323:1-10.
- [2] Grote M, Schuurmann G, Altenburger R. Modeling photo-induced algal toxicity of PAHs[J]. *Environ Sci Technol*, 2005, 39(11):4141-4149.
- [3] 高彦征,朱利中,凌婉婷,等.土壤和植物样品的多环芳烃分析方法研究[J]. *农业环境科学学报*, 2005, 24(5):1003-1006.
GAO Yan-zheng, ZHU Li-zhong, LING Wan-ting, et al. Analysis method for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plant and soil samples[J]. *Journal Agro-Environment Science*, 2005, 24(5):1003-1006.
- [4] 刘颖.上海市土壤和水体沉积物中多环芳烃的测定方法、分布特征和源解析[D].上海:同济大学,2008.
LIU Ying. Determination, distribution and source analyses of PAHs in soils and sediments in Shanghai, China[D]. Shanghai: Tongji University, 2008.
- [5] 毕鸿亮,饶勇,孙翠香,等.绿色食品产地土壤中 PAHs 测定方法研究[J]. *生态环境*, 2007, 16(2):467-470.
BI Hong-liang, RAO Yong, SUN Cui-xiang, et al. Study on the determination for PAHs in soil and green food production[J]. *Ecology and Environment*, 2007, 16(2):467-470.
- [6] Itoh N, Numata M, Aoyagi Y, et al. Comparison of low-level polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment revealed by Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction, and pressurized liquid extraction[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 612(1):44-52.
- [7] 舒俊林.超声提取技术在化学分析中的应用研究.中国环境科学学会学术年会论文集[C]. 2009:1056-1060.
SHU Jun-lin. Study on the application of ultra-sonic extraction technology in chemical analysis[C]. The collection of the theses for annual conference of China, Environmental Science Institute, 2009:1056-1060.
- [8] 徐荣,张德明,徐林.城市污泥中苯并[a]芘的超声提取、净化和检测[J]. *中国给水排水*, 2006, 22(2):82-84.
XU Rong, ZHANG De-ming, XU Lin. Ultra-sonic extraction, purification and measurement method for benzo[a] pyrene in municipal sewage sludge[J]. *China Water and Wastewater*, 2006, 22(2):82-84.
- [9] Bossio J P, Harry J, Kinney C A. Application of ultrasonic assisted extraction of chemically diverse organic compounds from soils and sediments[J]. *Chemosphere*, 2008, 70:858-864.
- [10] King A J, Readman J W, Zhou J L. Dynamic behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons in Brighton marina, UK[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 48:229-239.

- [11] 张 艳, 王松雪, 孙长坡. 超临界流体萃取技术在粮食农药残留检测中的应用[J]. 食品科学, 2010, 31(1):274-277.
ZHANG Yan, WANG Song-xue, SUN Chang-po. Application of supercritical fluid extraction for detection of pesticide residues in cereal grains: A review[J]. *Food Science*, 2010, 31(1):274-277.
- [12] 张 怡, 赵扬帆, 郑宝东. 超临界流体 CO₂ 萃取姬松茸酚类物质的研究[J]. 中国农学通报, 2008, 24(10):110-114.
ZHANG Yi, ZHAO Yang-fan, ZHENG Bao-dong. Study on extraction of agaricus *Blazei* Murrill by supercritical CO₂[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(10):110-114.
- [13] 高连存, 张春阳, 崔兆杰, 等. 炼钢厂炼焦车间土壤中 PAHs 的超临界流体萃取-色谱联用分析方法研究[J]. 环境科学研究, 1998, 11(1):36-39.
GAO Lian-cun, ZHANG Chun-yang, CUI Zhao-jie, et al. Study on the analytical method of polycyclic aromatic hydrocarbons from the soil of coking workshop of steel plant using SFE and GC-MS[J]. *Research of Environmental Science*, 1998, 11(1):36-39.
- [14] Bogolte B T, Ehlers G A C, Braun R, et al. Estimation of PAH bioavailability to *Lepidium sativum* using sequential supercritical fluid extraction: a case study with industrial contaminated soils[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2007, 43:242-250.
- [15] Zougagh M, Rios A, Valcárcel M. Direct automatic screening and individual determination of PAHs using supercritical fluid extraction coupled on-line with liquid chromatography and fluorimetric detection[J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 524:279-285.
- [16] Hubert A, Wenzel K D, Weissflog M M L, et al. High extraction efficiency for POPs in real contaminated soil samples using accelerated solvent extraction[J]. *Anal Chem*, 2000, 72:1294-1300.
- [17] 李庆玲, 徐晓琴, 黎先春, 等. 加速溶剂萃取/气相色谱-质谱测定海洋沉积物中的痕量多环芳烃[J]. 分析测试学报, 2006, 25(5):33-37.
LI Qing-ling, XU Xiao-qin, LI Xian-chun, et al. The determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments with ASE/GC-MS[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2006, 25(5):33-37.
- [18] 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 soil samples from wastewater irrigated soil from Tianjin[J]. *Environmental Chemistry*, 2002, 21(4):392-396.
- [19] 王潇磊, 王玲玲, 李 斐. 土壤中多环芳烃的 ASE 前处理方法研究[J]. 环境科学导刊, 2009, 28(5):1-2.
WANG Xiao-lei, WANG Ling-ling, LI Fei. Study on pretreatment method of PAHs determination in soil by accelerated solvent extraction [J]. *Environmental Science*, 2009, 28(5):1-2.
- [20] Oleszczuk P, Baran S. Application of solid-phase extraction to determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge extracts [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2004, 113:237-245.
- [21] Ramos L, Vreuls J J, Brinkman U A T. Miniaturised pressurised liquid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil and sediment with subsequent large volume injection gas chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 891(2):275-286.
- [22] 柳丽丽, 陈 莎, 任 仁. 有机氯农药的固相萃取前处理技术和分析方法[J]. 北京工业大学学报, 2003, 29(1):68-72.
LIU Li-li, CHEN Sha, REN Ren. Solid phase extraction pretreatment technique and analytic method of organochlorine pesticides[J]. *Journal of Beijing University of Technology*, 2003, 29(1):68-72.
- [23] 肖荣辉, 马继平, 鹿文慧, 等. 竹炭固相萃取/气相色谱-质谱联用对环境水样中 16 种多环芳烃的测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(9):1022-1026.
XIAO Rong-hui, MA Ji-ping, LU Wen-hui, et al. Determination of 16 PAHs in water samples by solid-phase extraction using bamboo charcoal as the absorbent coupled with GC-MS[J]. *Journal of Instrument Analysis*, 2009, 28(9):1022-1026.
- [24] 陈虹丽, 薛秀玲. 浊点萃取-高效液相色谱测定土壤及底泥中痕量多环芳烃[J]. 环境化学, 2009, 28(3):441-444.
CHEN Hong-li, XUE Xiu-ling. Cloud point extraction and HPLC determination of PAHs in soil and sediment[J]. *Environment Chemistry*, 2009, 28(3):441-444.
- [25] 胡 琼, 姚炳佳, 叶 鋈, 等. 相分离辅助方法对有机硅表面活性剂浊点萃取 PAHs 的影响[J]. 高校化学工程学报, 2007, 21(2):184-188.
HU Qiong, YAO Bing-jia, YE He, et al. Effect of assisting methods for phase separation on the performance of cloud point extraction of PAHs with silicone surfactant[J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2007, 21(2):184-188.
- [26] Bartolom L, Cortazar E, Raposo J C, et al. Simultaneous microwave-assisted extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, phthalate esters and nonylphenols in sediments[J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1068(2):229-236.
- [27] Shu Y Y, Lai T L, Lin H S, et al. Study of factors affecting on the extraction efficiency of polycyclic aromatic hydrocarbons from soils using open-vessel focused microwave assisted extraction[J]. *Chemosphere*, 2003, 52:1667-1676.
- [28] 葛成军, 唐文浩, 黄占斌, 等. 土壤中多环芳烃不同前处理分析方法的比较[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(4):859-864.
GE Cheng-jun, TANG Wen-hao, HUANG Zhan-bin, et al. Comparison of different pretreatments for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) extraction from soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(4):859-864.
- [29] 周 婕, 杜 斌, 张振中. 硅胶柱层析法纯化全苯异氰酸酯基-环糊精[J]. 应用化学, 2008, 25(5):548-551.
ZHOU Jie, DU Bin, ZHANG Zhen-zhong. Separation of mono-6-N-allylamino-perphenylcarbamoylated β -cyclodextrin with silica gel[J]. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 2008, 25(5):548-551.
- [30] 何 强, 郭新东, 李畅方, 等. 土壤中烯酰吗啉残留量的气相色谱分析[J]. 广州化工, 2006, 34(4):67-68.
HE Qiang, GUO Xin-dong, LI Chang-fang, et al. Determination of dimethomorph residue in soil by gas chromatography[J]. *Guangzhou Chemical Engineering*, 2006, 34(4):67-68.
- [31] 卢福峰, 邢 核, 许秀艳, 等. ASE 萃取-SPE 净化-HPLC 法测定土壤中多环芳烃[J]. 环境监测管理与技术, 2007, 19(3):25-31.
LU Fu-feng, XING He, XU Xiu-yan, et al. Determination of polycyclic

- aromatic hydrocarbons in soil samples by accelerated solid extraction coupled with solid-phase extraction cleanup[J]. *Environmental Monitoring Management and Technology*, 2007, 19(3):25-31.
- [32] 毕鸿亮, 张浩原, 孙翠香. 蔬菜中多环芳烃的 GC-MS 分析[J]. 分析测试学报, 2007, 27(4):530-532.
- BI Hong-liang, ZHANG Hao-yuan, SUN Cui-xiang. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in vegetable by gas chromatography-mass spectrometry with saponification cleanup[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2007, 27(4):530-532.
- [33] 朱丽波, 徐能斌, 傅晓钦, 等. ASE-GC/MSMS 多离子反应监测 (MRM) 测定土壤中的 16 种多环芳烃 (PAHs) [J]. 中国环境监测, 2008, 24(5):43-47.
- ZHU Li-bo, XU Neng-bin, FU Xiao-qin, et al. Determination of 16 PAHs in soil by ASE-GC/MSMS MRM[J]. *Environmental Monitoring in China*, 2008, 24(5):43-47.
- [34] Agrawal M, Singh J. Impact of coal power plant emission on the foliar elemental conc. In plants in a low rainfall tropical region[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2000, 60:261-282.
- [35] 阎吉昌, 盖新杰, 张 宏, 等. 树叶及土壤中有机污染物 GC-MS 分析[J]. 中国环境监测, 1994, 10(5):14-16.
- YAN Ji-chang, GAI Xin-jie, ZHANG Hong, et al. Determination of organic pollutants in soil and leaves samples by GC-MS[J]. *Environmental Monitoring in China*, 1994, 10(5):14-16.
- [36] 王雅琴, 左 谦, 焦杏春, 等. 北京大学及周边地区非取暖期植物叶片中的多环芳烃[J]. 环境科学, 2004, 25(4):23-27.
- WANG Ya-qin, ZUO Qian, JIAO Xing-chun, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in plant leaves from the Peking University campus and nearby in summer season[J]. *Environmental Science*, 2004, 25(4):23-27.
- [37] Ratolaa N, Alvesa A, Kalogerakis N, et al. Hollow-fibre liquid-phase microextraction: A simple and fast cleanup step used for PAHs determination in pine needles[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 618:70-78.
- [38] 方学智, 费学谦, 丁 明, 等. 玉米中氯氟菊酯、溴氟菊酯 SPE 净化及不确定度分析[J]. 农药, 2009, 48(2):127-129, 149.
- FANG Xue-zhi, FEI Xue-qian, DING Ming, et al. Purification of permethrin and deltamethrin in maize by SPE and evaluation of uncertainty[J]. *Agrochemicals*, 2009, 48(2):127-129, 149.
- [39] 曾 斌, 胡立高, 李庆新, 等. 土壤样品中有机污染物提取方法的研究新进展[J]. 长江大学学报, 2008, 5(1):74-78.
- ZENG Bin, HU Li-gao, LI Qing-xin, et al. Development of extraction method for organic pollutants in soil samples[J]. *Journal of Yangtze University (Nat Sci Edit)*, 2008, 5(1):74-78.