

土壤和植物样品的多环芳烃分析方法研究

高彦征^{1,2}, 朱利中², 凌婉婷¹, 熊巍¹

(1.南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏 南京 210095; 2.浙江大学环境与资源学院, 浙江 杭州 310028)

摘要:采用超声提取的前处理方法并结合 HPLC/UV 分离和分析技术,研究了土壤和植物样品的多环芳烃(PAHs)分析方法。结果表明,植物样品中供试 6 种 PAHs 的方法回收率为 76.00%~103.1%,相对标准偏差(RSD)均小于 4.1%。土壤样品(干土或湿土,湿土含水量为 50%田间持水量)中 6 种 PAHs 的方法回收率均高于 85%,RSD 则低于 3.1%;但干土的方法回收率要高于湿土,RSD 则比湿土略低。所建立的分析方法具有操作简单、省时的优点,有可接受的回收率和较好的重复性,可用于污染土壤和植物样品的 PAHs 检测分析。

关键词:土壤; 植物; 多环芳烃; 分析方法

中图分类号:X132 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2005)05-1003-04

Analysis Method for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Plant and Soil Samples

GAO Yan-zheng^{1,2}, ZHU Li-zhong², LING Wan-ting¹, XIONG Wei¹

(1. College of Natural Resource and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310028, China)

Abstract: There are large areas of contaminated soils by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in China and all over the world, posing great threats to ecology health and human lives. A novel and prospective analysis method of PAHs for environmental samples such as soils and plants is urgently needed for risk assessment of agricultural products and soil remediation. By using the ultrasonication extraction and HPLC/UV analysis techniques, a simple, available and instructive analysis method of PAHs for soil and plant samples was experimented. The recoveries of six tested PAHs including phenanthrene, anthracene, pyrene, fluoranthene, benzo[a]anthracene, and benzo[a]pyrene for ryegrass samples were 76.00%~103.1%, with relatively standard deviations (RSD) less than 4.1%. As to the soil samples including the dry soil (DS) and wet soil (WS, 50% of the field holding capacity), the recoveries of these PAHs were always larger than 85% with RSD smaller than 3.1%. In addition, the recoveries of PAHs for DS samples were generally higher than those for WS ones, while the RSD of the former was smaller than that of the latter. This potentially useful and prospective analysis method for environmental soil and plant samples would be of great importance for the soil restoration and risk assessment.

Keywords: soil; plant; polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); analysis method

有关环境样品中多环芳烃(PAHs)污染的报道很多^[1-6]。防治土壤污染、保障农产品安全须建立简便、高效的 PAHs 分析方法。土壤和植物样品中 PAHs 的分析方法早在 20 世纪 60 年代就开始研究并逐渐完善;然而多数方法由于操作复杂,分析所用材料、设备

昂贵等原因,不能完全满足实际工作的需要^[7]。土壤和植物样品的 PAHs 分析主要包括样品前处理(提取)和测定 2 个基本过程。目前常用的提取方法有索氏提取和超声提取。其中索氏提取操作麻烦、耗时很长、提取效率不高;超声提取法有操作简单、省时、回收率高的优点,有逐步取代索氏提取法的趋势^[3]。

本文选择超声提取方法,利用高效液相色谱(HPLC)分离和紫外(UV)检测分析技术,试图建立简便、实用的土壤和植物样品的 PAHs 分析方法,为开展土壤 PAHs 污染的植物修复、保障农产品安全提供

收稿日期:2004-11-22

基金项目:国家杰出青年基金(20125719);污染控制与资源化研究国家重点实验室开放课题(PCRRF05004);南京农业大学青年科技创新基金(KJ05009)

作者简介:高彦征(1975—),男,博士。E-mail: gaoyanzheng@njau.edu.cn

技术依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

二氯甲烷、丙酮、正己烷、无水硫酸钠、层析用硅胶(200~300目)均为分析纯;甲醇为色谱醇。KQ-300DE 医用数控超声波清洗器, RM-3 旋转浓缩蒸发器, Heraeus 台式高速冷冻离心机, IKA A11basic 分析用研磨机, 直径 0.7 cm×25 cm 层析柱。Agilent-1100 高效液相色谱仪, 配有 G1314A 紫外检测器, Φ4.6×250 mm C18 反相色谱柱。

1.2 样品采集和预处理

黑麦草(*Lolium multiflorum* Lam)采集后,用蒸馏水充分漂洗,滤纸蘸干表面水分后,用研磨机粉碎,混匀后备用。土壤为潮土,样品采自旱地表层(0~20 cm),有机质含量为 1.45%, pH5.05, 砂粒、粉砂粒和粘粒含量分别为 3.93%、86.55%和 9.52%。部分土样风干处理,部分土样的含水量调至 50%田间持水量,均过 20 目筛后备用。

1.3 样品提取和净化

取一定量(2 g)上述制备好的植物样品于 25 mL 玻璃离心管中,用 30 mL 有机萃取剂(1:1 的丙酮和正己烷溶液)分 3 次,每次 10 mL 并在超声水浴中超声萃取 30 min;将萃取液收集、过无水硫酸钠柱后,转移到 50 mL 旋转蒸发瓶中;40 ℃恒温下将萃取液浓缩至干,用正己烷定容到 2 mL;取 1 mL 过 2 g 硅胶柱净化,用 11 mL 1:1 的二氯甲烷和正己烷溶液洗脱;洗脱液收集至旋转蒸发瓶,40 ℃恒温下浓缩至干,用甲醇定容到 2 mL,过 0.22 μm 孔径滤膜后, HPLC/UV 分析。

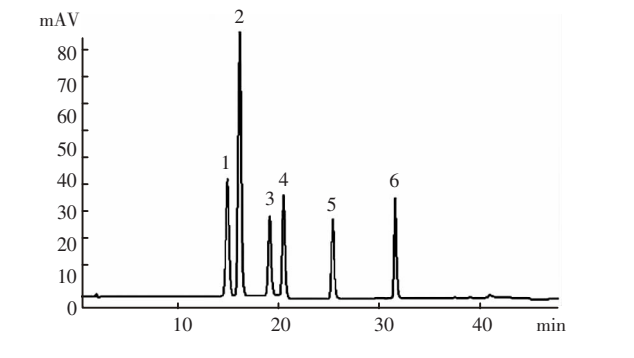
取 2 g 上述制备好的土壤样品于 25 mL 玻璃离心管中(湿土要先加入 2 g 过 20 目筛的无水硫酸钠,充分混匀),加入 10 mL 二氯甲烷,盖紧后,于超声水浴中超声萃取 1 h;以 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min;取 3

mL 上清液过 2 g 硅胶柱净化,并用 11 mL 1:1 的二氯甲烷和正己烷溶液洗脱;洗脱液收集至旋转蒸发瓶,40 ℃恒温下浓缩至干,用甲醇定容到 2 mL,过 0.22 μm 孔径滤膜后, HPLC/UV 分析。

2 结果与讨论

2.1 分析特征

流动相为甲醇-水,采用梯度淋洗和波长切换方法分离 6 种 PAHs,流速为 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,进样量为 40 μL。在此条件下所得 6 种 PAHs 的色谱图如图 1 所示。结果表明,上述分析条件下,应用梯度淋洗和波长切换,可消除干扰物质的影响, PAHs 分离效果好,出峰尖锐、对称,因而具有很好的选择性。



1.菲 2.蒽 3.荧蒽 4.芘 5.苯并(a)蒽 6.苯并(a)芘

图 1 6 种 PAHs 的色谱图

Figure 1 Chromatogram of six tested PAHs

该方法的具体分析特征见表 1。该方法具有灵敏、准确、选择性好的特点, PAHs 浓度 0.003~0.96 mg·L⁻¹ 范围内,线形相关系数均在 0.999 以上,保留时间、峰高、峰面积的相对标准偏差 ($n=6$) 分别为 0.12%~0.30%、0.33%~1.48%、0.12%~1.39%;检测限为 20.0~67.1 pg。

2.2 植物样品

为了评价方法的准确度,采用前述植物样品的前处理方法和上述分析条件,分析植物样品的 PAHs 本

表 1 HPLC/UV 测定 PAHs 的分析特征

Table 1 Characteristics of PAH by HPLC/UV analysis

PAHs	回归方程(以峰高定量)*	回归系数	保留时间 RSD/%	峰高 RSD/%	峰面积 RSD/%	检测限/pg
菲	$y=0.029\ 5x-0.008$	0.999 3	0.26	1.08	0.75	44.1
蒽	$y=0.013\ x-0.004\ 4$	0.999 4	0.29	0.81	0.12	20.0
荧蒽	$y=0.042\ 4x-0.003\ 9$	0.999 4	0.30	1.37	1.39	65.7
芘	$y=0.032\ x-0.003\ 7$	0.999 2	0.18	1.48	1.64	50.2
苯并(a)蒽	$y=0.041\ 5x+0.000\ 5$	0.999 6	0.21	0.76	0.45	67.1
苯并(a)芘	$y=0.034\ x-0.002\ 8$	0.999 6	0.12	0.33	0.39	52.7

注:* 浓度范围 0.003~0.96 mg·L⁻¹。

底(空白对照)。同时取上述样品,分别加入用甲醇稀释的 PAHs 混合标准液^[3];暗处静置,待甲醇挥发后,实验了 PAHs 方法回收率,结果见表 2。供试 6 种 PAHs 的方法回收率为 76.00%~103.1%,相对标准偏

差均小于 4.1%。
应用本方法,可以将样品提取时间从索氏提取的 12 h 以上大大减少到 2 h 以内,单个处理的溶剂用量也较索氏提取减少很多^[8],从而节约了分析成本、提高

表 2 植物样品中 PAHs 加标回收率
Table 2 Recoveries of PAHs for plant samples through the complete analytical processes

PAHs	加标量 /ng	加标回收率/%						RSD /%	
		1	2	3	4	5	6		平均值
菲	412.1	104.1	100.7	97.41	105.1	104.1	107.0	103.1	3.34
蒽	442.3	90.02	90.86	87.85	90.30	81.95	86.03	87.84	3.87
萤蒽	429.7	96.68	96.91	94.08	93.25	96.88	90.62	94.74	2.70
芘	439.1	91.53	93.34	87.56	83.47	88.98	92.06	89.49	4.05
苯并(a)蒽	466.0	80.38	83.67	78.91	77.33	77.82	80.21	79.72	2.87
苯并(a)芘	428.2	81.41	76.00	73.89	72.96	77.05	74.70	76.00	3.98

了工作效率。

2.3 土壤样品

按照前述土壤样品的前处理方法和色谱分析条件,分析空白对照土壤样品的 PAHs 本底含量。另外,称取上述土壤样品 2 g,加入用甲醇稀释的 PAHs 混合标准液 200 μL,置于暗处,待甲醇挥发后,按前述方法分析土壤 PAHs 含量,并计算土壤 PAHs 方法回收率。干土中供试 6 种 PAHs 的方法回收率见表 3,为 93.16%~104.4%,相对标准偏差为 1.01%~2.12%。湿土(50%田间持水量)中 6 种 PAHs 的方法回收率仍

然很高,为 85.35%~96.78%,但比干土略低,相对标准偏差也比干土要大(为 1.66%~3.06%),见表 4。由于萃取剂二氯甲烷与水的不兼容性,湿土中水的存在一定程度上阻碍了萃取剂与土壤中 PAHs 的有效接触,导致湿土中 PAHs 方法回收率较干土低、RSD 则偏大。

一些文献中也给出了土壤样品的 PAHs 分析方法,但这些方法在萃取剂选择、前处理方式、萃取液的净化过程及最终的检测方法等方面与本文差别较大,本文给出的分析方法的回收率和分析偏差则一般要

表 3 土壤样品(干土)中 PAHs 加标回收率
Table 3 Recoveries of PAHs for air-dried soil samples through the complete analytical processes

PAHs	加标量 /μg	加标回收率/%							RSD/%
		1	2	3	4	5	6	平均值	
菲	4.160	104.3	101.8	105.6	102.6	105.9	106.1	104.4	1.74
蒽	3.893	100.2	99.40	102.4	100.0	97.96	100.0	100.0	1.45
萤蒽	3.847	103.8	101.1	103.6	101.8	102.7	102.9	102.6	1.01
芘	3.700	103.1	100.0	102.3	100.9	106.3	102.6	102.5	2.12
苯并(a)蒽	3.689	97.16	98.49	99.43	100.0	102.7	101.5	99.88	2.00
苯并(a)芘	8.562	94.21	91.51	95.01	91.79	92.76	93.65	93.16	1.48

表 4 土壤样品(湿土,含水量为 50%田间持水量)中 PAHs 加标回收率

Table 4 Recoveries of PAHs for wet soil samples with 50% field water holding capacity through the analytical processes

PAHs	加标量	加标回收率/%						RSD/%	
	/μg	1	2	3	4	5	6		平均值
菲	4.160	92.55	95.59	95.91	98.46	97.86	93.28	95.61	2.48
蒽	3.893	88.40	93.23	92.77	95.90	93.86	92.27	92.74	2.67
萤蒽	3.847	94.63	97.03	98.37	95.54	96.32	98.77	96.78	1.66
芘	3.700	88.30	88.41	92.31	92.55	95.61	90.64	91.30	3.06
苯并(a)蒽	3.689	88.49	89.27	91.49	86.74	87.81	91.70	89.25	2.24
苯并(a)芘	8.562	82.05	87.39	87.59	84.38	83.96	86.72	85.35	2.61

优于相关文献报道^[7,8]。

3 结论

用超声提取法提取、并结合 HPLC/UV 分离和分析植物和土壤样品的 PAHs,具有操作简单、省时、回收率较高、重复性较好的优点。植物样品中供试 6 种 PAHs 的方法回收率为 76.00%~103.1%,相对标准偏差均小于 4.1%;土壤样品(干土或湿土,湿土含水量为 50%田间持水量)中 6 种 PAHs 的方法回收率均高于 85%,相对标准偏差则低于 3.1%。所建立的分析方法可用于污染土壤和植物样品的 PAHs 检测分析。

参考文献:

[1] 宋玉芳,常士俊,李 利,等.污灌土壤中多环芳烃的积累与动态变化研究[J].应用生态学报,1997,8:93-98.

[2] Zhu L Z, Gao Y Z. Prediction of phenanthrene uptake by plants with a

partition-limited model [J]. *Environmental Pollution*, 2004,131:505-508.

[3] Gao Y Z, Zhu L Z. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils[J].*Chemosphere*, 2004,55:1169-1178.

[4] 高彦征,朱利中,胡辰剑,等.Tween80 对植物吸收菲和芘的影响[J].环境科学学报,2004,24:714-718.

[5] 高彦征,凌婉婷,朱利中,等.黑麦草对多环芳烃污染土壤的修复作用及机制[J].农业环境科学学报,2005,24(3):498-502.

[6] Gao Y Z, Zhu L Z, Ling W T. Application of the partition-limited model for plant uptake of organic chemicals from soil and water[J]. *Science of the Total Environment*, 2005,336:171-182.

[7] Binet P, Portal J M, Leyval C. Application of GC-MS to the study of anthracene disappearance in the rhizosphere of ryegrass[J]. *Organic Geochemistry*, 2001, 32:217-222.

[8] Wickstorm R, Tolonen K. The history of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and perylene as recorded in dated lake sediment[J]. *Water Air and Soil Pollution*, 1987, 32:155-175.