

谢曼曼, 刘美美, 王淑贤, 等. 土壤中多环芳烃单体碳同位素分析的分离净化方法研究[J]. 岩矿测试, 2021, 40(6): 962 - 972.
XIE Man - man, LIU Mei - mei, WANG Shu - xian, et al. Study on Separation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils for Compound - specific Carbon Isotope Analysis[J]. Rock and Mineral Analysis, 2021, 40(6): 962 - 972.

【DOI: 10.15898/j.cnki.11-2131/td.202109280131】

土壤中多环芳烃单体碳同位素分析的分离净化方法研究

谢曼曼¹, 刘美美¹, 王淑贤^{1*}, 凌媛², 孙青^{1*}

(1. 国家地质实验测试中心, 北京 100037;

2. 中国地质科学院地质研究所, 北京 100037)

摘要: 应用单体碳同位素组成追溯多环芳烃(PAHs)类污染物的来源越来越受关注。单体同位素分析中, 利用样品预处理减少共流出和未分峰(UCM), 是实现同位素比值准确分析的重要前提。已有分离净化研究较少关注环数小于3的PAHs; 或需联合使用高效液相色谱(HPLC)技术, 但对实验室条件要求较高。本文期望避免使用HPLC技术, 仅通过简单的固相萃取法, 实现16种PAHs的分离净化, 满足包括低环数在内的PAHs单体碳同位素分析的要求。实验对比了氨基和硅胶两种填料的固相萃取(SPE)小柱, 以及正戊烷等10种淋洗溶剂对PAHs的分离净化富集效果。结果表明: 氨基小柱中有20%以上的萘和芘不能与烷烃和未分峰完全分离, 硅胶SPE小柱除杂效果和分离效果优于氨基小柱。选择1000mg/6mL硅胶SPE小柱, 利用6mL正戊烷淋洗UCM和烷烃, 5mL正戊烷-二氯甲烷(70:30, V/V)洗脱PAHs。利用气相色谱(GC)对分离净化效果进行初步检验, 气体同位素质谱(GC-IRMS)进行单体碳同位素分析。16种PAHs的回收率为79%~128%, 相对标准偏差为2%~13% (1σ , $n=6$), 单体碳同位素比值($\delta^{13}C$)分析精度为0.1‰~0.75‰, 大幅降低了其中UCM和共流出对PAH单体碳同位素分析的干扰, 尤其减少了对低环数PAHs单体碳同位素分析的影响, 而且净化过程没有造成PAHs单体碳同位素分馏, 满足PAHs单体碳同位素分析的要求。

关键词: 土壤; 多环芳烃; 单体碳同位素; 固相萃取; 分离净化; 气体同位素质谱法

要点:

(1) 采用硅胶固相萃取法分离净化土壤中多环芳烃, 对前处理实验室的要求大大降低。

(2) 采用改进的硅胶固相萃取净化方法, 大幅降低了UCM和共流出的干扰, 改善低分子量多环芳烃的净化效果。

(3) 前处理过程没有造成目标化合物的碳同位素分馏, 可以满足PAHs单体碳同位素准确、高精度分析。

中图分类号: O657.63; S151.93

文献标识码: A

多环芳烃(PAHs)是有机碳氢化合物在温度高于400℃时, 不完全燃烧以及在还原条件下经热解环化、聚合作用生成的产物, 其分子结构中至少含有两个或以上苯环。森林、草原等天然火灾、火山爆发、天然石油渗漏以及生物成因前驱物的后期沉积改造都能产生PAHs, 这构成了其天然本底。人为活

动包括化石燃料、植物秸秆的不完全燃烧和溢油污染等也会生成PAHs。进入环境中的PAHs很难生物降解, 会广泛分布于水体、沉积物、土壤、大气和生物体中, 长期积累并通过食物链富集浓缩, 其致癌和致突变的组分能够对人体健康产生危害^[1-5]。中国不同功能区土壤中PAHs含量差异明显, 即使是在

收稿日期: 2021-09-28; 修回日期: 2021-10-25; 接受日期: 2021-11-12

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(41302141); 中国地质科学院基本科研业务费项目(CSJ202109)

第一作者: 谢曼曼, 博士, 助理研究员, 从事有机地球化学生物标记物同位素研究。E-mail: xiemann827@163.com。

通信作者: 王淑贤, 高级工程师, 研究方向为分析化学。E-mail: 1009718437@qq.com。

通信作者: 孙青, 博士, 研究员, 研究方向为地球化学。E-mail: sunqingemail@yahoo.com。

一个相对较小的区域内,PAHs也可以表现出长距离迁移能力的差异,故来源复杂。而PAHs的单体碳同位素组成不易受环境因素的影响,较好地保留了母源信息,可以比较准确地指示这类污染物的来源^[6-12]。

PAHs含量分析中,样品前处理一般仅要求对有机提取物进行族组分分离,之后利用荧光法^[13-14]、高效液相色谱法(HPLC)^[15-16]或气相色谱-质谱联用技术^[17-18]进行分析。未达到基线分离的共流出峰和一些未分峰(UCM)对目标化合物含量分析的影响较小。但适用于PAHs含量分析的前处理方法,不能满足其单体碳同位素分析的要求。首先,同位素分析要求的PAHs净化效果较含量分析要高得多,共流出和UCM会造成分析结果出现巨大差异^[19-20]。其次,PAHs在环境中的丰度并不高,而单体碳同位素分析的仪器检出限比同类物质含量分析至少高出一个数量级,进样量增加以及单体同位素分析中固有的质量歧视效应使得共流出和UCM的干扰更加突出。为了达到PAHs单体碳同位素分析要求,已报道的分净化方式一般至少需要两步^[6,21-28]。如采用硅胶柱色谱-薄层色谱法,分离富集3环以上的PAHs,标准品的多次分析精度(SD)在0.3‰以内,净化处理后气溶胶样品的多次分析精度(SD)在0.6‰以内^[25]。Yan等^[27]采用氧化铝柱-硅胶柱-薄层色谱法分离富集PAHs,单标(苾)的仪器分析精度(SD)在0.2‰以内,沉积物样品净化分离后多次进样的相对百分比在15%以内。也有研究尝试将PAHs按照环数分离富集,如Okuda等^[21]利用硅胶柱-氨基柱色谱结合,将PAHs按照环数分开,PAHs标准净化分离前后同位素差值在0.8‰以内,多次分析精度(SD)在1.7‰以内,净化后的气溶胶样品的多次分析精度(SD)可以达到0.2‰~1.2‰。该方法无法分离低分子量的PAHs和UCM,中分子量的PAHs馏分(3环和部分4环)也含有明显的UCM。Mazeas等^[26]通过三步分净化(氧化铝柱色谱-硅胶柱色谱-HPLC),获得7个馏分,分别收集到不同环数的PAHs并进行碳同位素分析,分离净化前后4种甲基非异构体的碳同位素不确定度在0.5‰以内($n=3$),仪器分析精度(SD)在0.5‰以内,海洋沉积物中PAHs只有非的仪器分析精度略差。O'Malley等^[22]采用凝胶色谱-硅胶柱色谱法,对3环PAHs的回收率约50%,4~5环PAHs的回收率为85%,PAHs标准品(单标)的仪器分析精度为0.09‰~0.59‰,沉积物样品为0.17‰~1.16‰。但净化步骤越多,造成的

目标物的损失也必然越多。

已有分净化方法对低分子量(环数小于3)的PAHs关注不多,对环境样品的PAHs碳同位素仪器分析精度往往比标准品差,可能是分净化过程没有消除共流出和UCM等造成的。前处理过程联合HPLC对PAHs分环分离净化的效果较好^[26],也有研究将HPLC与气体同位素质谱联合使用^[7],但两种方式均需要配备高压液相设备,对实验室条件要求较高。也有报道曾提出经过合适的固相萃取技术分离后,也可以达到HPLC的分净化效果^[27]。Okuda等^[21]不使用HPLC,仅用柱色谱分离法能够将PAHs按照环数分离,但除杂效果并不理想,首先不能消除中低环数PAHs馏分中的UCM,其次一部分中环PAHs在高环PAHs的馏分中出现。

结合前人研究经验,本研究不采用分环分离PAHs的思路,期望可以在避免使用HPLC的前提下,通过对固相萃取柱色谱方法进一步优化,实现PAHs尤其是较低环数PAHs的分净化,消除共流出和未分峰对其单体碳同位素准确分析的干扰。优化内容包括选择柱色谱填料、淋洗溶剂配比及其用量。研究中使用气相色谱(GC)对分净化效果进行初步检验,气体同位素质谱(GC-IRMS)进行单体碳同位素分析。

1 实验部分

1.1 仪器与设备

气体同位素质谱仪(GC-IRMS, Trace 2000 气相色谱仪-GC/CIII 接口-MAT253 质谱仪,美国 ThermoFisher 公司)。加速溶剂萃取仪(ASE200 型,美国 Dionex 公司);超声波清洗器(KQ-500DB 型,江苏昆山超声仪器有限公司);固相萃取装置(24 位型,美国 Supelco 公司);气相色谱仪(GC-2010 型,配有氢火焰离子化检测器,日本岛津公司)。

DB-5MS 色谱柱(30m × 0.25mm × 0.25 μm, 美国 J&W 公司)。

载气包括高纯氮气、高纯氦气、高纯二氧化碳、高纯氧气(纯度 ≥ 99.999%, 北京市北温气体制造厂)。

1.2 材料与主要试剂

氨基 SPE 小柱(500mg/3mL, 美国 Alltech 公司);硅胶 SPE 小柱(500mg/3mL, 美国 Alltech 公司);硅胶 SPE 小柱(1000mg/6mL, 美国 Alltech 公司)。

EPA 16 种 PAHs: 萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、

芘、蒽、苯并(a)蒽、苯并(k)荧蒽、苯并(b)荧蒽、苯并(a)芘、茚并(1,2,3-cd)芘、二苯并(a,h)蒽、苯并(g,h,i)芘(EPA610,浓度均为2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$,德国Aldrich公司)。

内标2,2'-二氟联苯(纯度 $\geq 98\%$,Aldrich);内标三联苯(纯度 $\geq 99.5\%$,德国Aldrich公司)。

正己烷、环己烷、正戊烷、二氯甲烷、氯仿、丙酮(农残级,美国TEDIA公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

实验中的模拟样品由杂质和EPA 16种PAHs混合组成。杂质来自土壤(ASE萃取)和植物叶片(超声仪提取)的有机提取物:经过硅胶柱色谱族组分离,分别淋洗出烷烃、芳烃和极性组分(EPA标准方法),其中芳烃组分弃去,烷烃组分和极性组分合并后在氮气下吹干备用,即为杂质。

已有研究认为土壤中有机组分主要包括直链或环烷烃化合物、酸类、醇类、石蜡、萜类、酰胺、甾类、蜡、醛、酮和酯类化合物等^[29-33]。石油醚、异丙醇和甲醇等有机溶剂为萃取剂时,土壤提取物以直链或环烷烃化合物为主,含量占总提取物的95%以上;萃取溶剂中加入30%的乙酸或氨水之后,酯、酰胺和甾类物质才被大量萃取,烃类化合物仍占到70%左右^[29]。植物的有机组成包括烃、酯、醇、酸、酮、烯等以及大量色素类物质^[34-35]。本研究中添加的杂质为正己烷-丙酮(1:1,V/V)萃取获得(见1.3.3节),其主要成分应为烷烃类化合物、酯、醇、酸类和色素类物质。

杂质在添加前均经过称重,根据添加杂质的质量,模拟样品分为3种:模拟样A(3000ng添加样品),含30000ng杂质和3000ng EPA 16种PAHs;模拟样B(2000ng添加样品),含30000ng杂质和2000ng EPA 16种PAHs;模拟样C(多杂质高浓度样品),含90000ng杂质和3000ng EPA 16种PAHs。

1.3.2 SPE小柱净化

在前人研究方法^[21,36]的基础上,本文对比了氨基和硅胶两种填料类型的固相萃取小柱,以更好地分离烷烃、芳烃和极性组分,消除共流出和未分峰,同时希望尽量减少分离净化步骤。

500mg/3mL的SPE小柱(硅胶和氨基)淋洗流程:首先用3个柱体积二氯甲烷和5个柱体积正戊烷对SPE小柱进行预淋洗,待正戊烷将要流干时,将预先配制好的模拟样A(3000ng添加样品)加入SPE小柱中,分别加入4mL正戊烷和12mL正己烷

作淋洗液。其中正戊烷平分2次加入,获得2个馏分F1和F2。正己烷平分6次加入,淋洗液分别按序收集,记为F3、F4、F5、F6、F7、F8。各馏分均浓缩至0.5mL,待GC测定。

1000mg/6mL的硅胶SPE小柱淋洗流程:首先用3个柱体积二氯甲烷和5个柱体积正戊烷对SPE小柱进行预淋洗,待正戊烷将要流干时,将预先配制好的模拟样加入SPE小柱,分别加入6mL正戊烷和若干不同配比的溶剂作淋洗液。2个馏分均浓缩至0.5mL,待GC和GC-IRMS测定。

1.3.3 仪器工作条件

加速溶剂萃取仪萃取土壤样品中有机质。仪器工作参数为:温度150 $^{\circ}\text{C}$,压力1200psi,静态加热5min,循环2次,提取溶剂为正己烷-丙酮(1:1,V/V)。

超声提取植物叶片有机质。参数为:功率100%,温度30 $^{\circ}\text{C}$,提取溶剂为二氯甲烷,每次提取时间10min,提取5次。

气相色谱法(GC)分析PAHs含量。仪器工作参数为:进样口温度280 $^{\circ}\text{C}$,不分流进样,进样体积1.0 μL ,载气为高纯氮气,FID检测器,检测器温度330 $^{\circ}\text{C}$ 。DB-5MS色谱柱,柱箱初始温度60 $^{\circ}\text{C}$,以3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至320 $^{\circ}\text{C}$ 。

气体同位素质谱法(GC-IRMS)分析PAHs单体碳同位素比值。仪器工作参数为:PTV进样口,进样口温度55 $^{\circ}\text{C}$,蒸发温度55 $^{\circ}\text{C}$,传输温度320 $^{\circ}\text{C}$,溶剂蒸发时间2.5min,样品传输时间1.5min,进样口梯度压力为40psi—60psi—70psi;不分流进样,分流时间1.5min;进样体积5.0 μL ,载气为高纯氮气,恒流流速2.0mL/min。DB-5MS色谱柱,柱箱初始温度为60 $^{\circ}\text{C}$,保持5min,以4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至320 $^{\circ}\text{C}$,恒温10min。氧化炉温度950 $^{\circ}\text{C}$;还原炉温度640 $^{\circ}\text{C}$ 。

2 结果与讨论

2.1 仪器稳定性检验

气体同位素质谱仪连续分析EPA 16种PAHs的单体碳同位素比值并计算其标准偏差,以检验仪器的稳定性和准确性。每次进样量为5 μL ,样品浓度为6 $\mu\text{g}/\text{mL}$,连续分析5次。由于苯并(a)蒽和蒽、苯并(b)荧蒽和苯并(k)荧蒽以及茚并(1,2,3-cd)芘和二苯并(a,h)蒽的化合物性质相似,在色谱图上无法实现基线分离,因此在碳同位素分析中只能获得混合物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。16种PAHs的 $\delta^{13}\text{C}$ 值测定精度(1 σ)为0.1‰~0.45‰(表2),分析结果稳定、可靠。

2.2 填料的选择

Wise 等^[36]以正戊烷或正己烷为淋洗液,烷烃组分均先于芳烃组分流,且正戊烷对二者分离效果更佳(详见以下 2.3 节)。因此 SPE 小柱填料优化中,选择以正戊烷为淋洗液分离烷烃馏分,正己烷淋洗 PAHs 馏分。实验对比了 500mg/3mL 的氨基和硅胶 SPE 小柱,尝试利用正戊烷和正己烷将模拟样品 A 中的芳烃与烷烃、UCM 峰、醇类等物质分离(步骤见 1.3.2 节),各馏分淋洗结果如图 1 所示。硅胶 SPE 小柱对 16 种 PAHs 的回收率为 90% ~ 129%,氨基柱的回收率为 81% ~ 105%,硅胶 SPE 小柱的回收效果更优。氨基柱对芘等前 8 种 PAHs 的保留能力明显弱于硅胶柱:氨基柱的 F1 馏分中有 20% 以上的萘和芘流出(图 1a,图 2a),而硅胶柱 F1 馏分中没有 PAHs 流出(图 1b,图 2b);氨基柱中芘等前 8 种 PAHs 基本在 F2 馏分中,而硅胶柱中只有萘、芘和芘大量在 F2 馏分流出。两种填料条件下,烷烃组分、UCM 均基本存在于 F1 馏分中。硅胶柱中多环芳烃均在 F2 馏分及之后流出,但氨基柱中有 20% 以上的萘和芘在 F1 馏分中流出,不能与烷烃和未分峰完全分离。因此,硅胶柱分离烷烃和芳烃的能力优于氨基柱,本文选择硅胶 SPE 小柱继续完成淋洗溶剂选择实验。

2.3 淋洗溶剂的选择

考虑到环境样品中 PAHs 单体碳同位素分析时称样量较大,500mg/3mL 的硅胶柱载样量有限,很容易穿透或饱和而影响分离效果。因此,淋洗溶剂优化过程中采用更大载样量的 1000mg/6mL 的硅胶 SPE 小柱。

Okuda 等^[21]曾利用硅胶-氨基柱色谱法,尝试按照环数对 PAHs 进行分离。该方法中硅胶柱第 1 馏分以 2mL 正己烷为淋洗溶剂,未能将烷烃和 UCM 全部淋洗出,UCM 和 PAHs 共存于第 2 馏分中。本研究利用硅胶 SPE 柱色谱法,以 2mL 正戊烷为淋洗溶剂,UCM 基本与烷烃同时第 1 馏分流出(图 2b),与 PAHs 分离效果较好(图 2c,d)。Okuda 等^[21]的方法利用氨基柱对硅胶柱的第 2 馏分(含 PAHs)进行了二次分离,但效果仍不理想:2 环 PAHs 和 75% 的 UCM 存在于氨基柱第 1 馏分中;3 环和部分 4 环 PAHs 与 25% 的 UCM 共存于氨基柱第 2 馏分中;只有 4 环及 4 环以上 PAHs 与 UCM 分离效果较好(氨基柱第 3 馏分)。相比较而言,硅胶固相萃取中,以正戊烷为淋洗溶剂分离烷烃、UCM 与芳烃的效果优于正己烷,除杂效果更好。

对于 1000mg/6mL 的硅胶 SPE 小柱,6mL 正戊烷可以实现烷烃、UCM 和芳烃分离,但正戊烷对芳烃的洗脱能力较弱,需要继续加入 ~80mL 正戊烷,16 种多环芳烃的回收率才基本达到稳定,回收率约为 74% ~ 112%。该方法虽然可以实现 PAHs 的分选净化,但是溶剂使用量大、耗时长。更重要的是,分选净化后的 PAHs 馏分中出现一些杂峰(图 2c),这些杂峰在溶剂空白、自填玻璃硅胶柱空白和色谱柱流失中均未出现,推断可能来自 SPE 小柱聚丙烯柱管。高达 80mL 的溶剂长时间、大体积淋洗,可能导致柱管中某些物质释放,影响除杂效果。因此,本文对 PAHs 组分的淋洗溶剂进行了优化,期望用较少的淋洗液达到最好的分选净化效果。对比研究了 10 种不同配比淋洗液洗脱 PAHs 的效果,每种淋洗

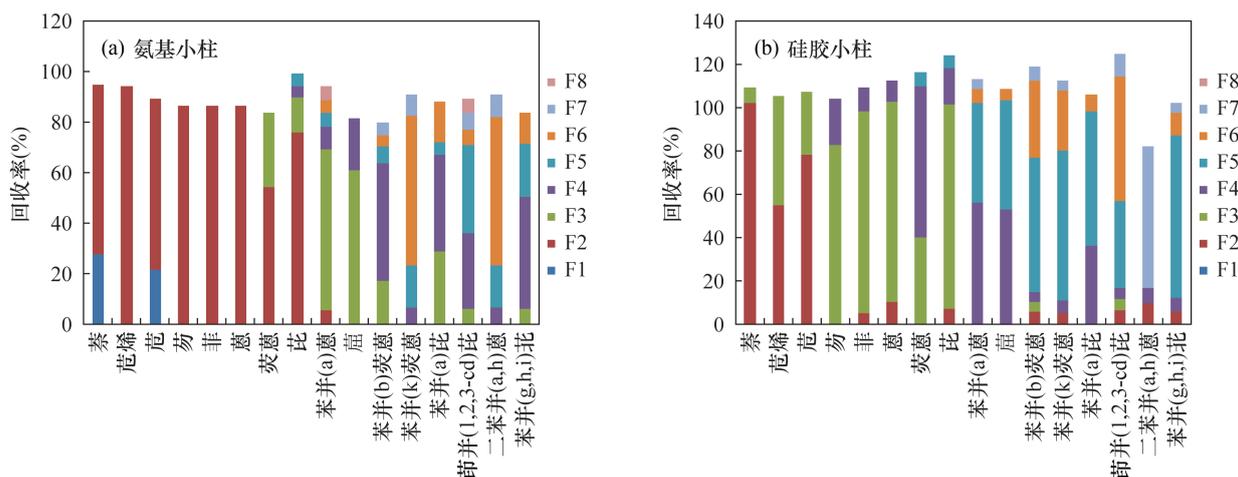
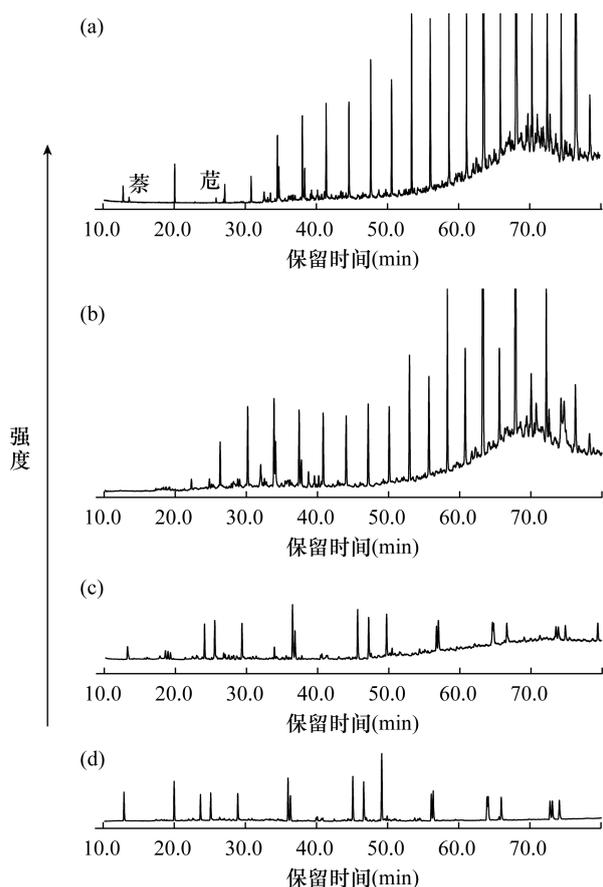


图 1 (a)氨基 SPE 小柱和(b)硅胶 SPE 小柱净化中各馏分中 PAHs 回收率

Fig. 1 Purification recoveries of PAHs in each fraction by (a) amino and (b) silica gel SPE column



a—500mg/3mL 氨基柱净化 F1 馏分色谱图；b—500mg/3mL 硅胶柱净化 F1 馏分色谱图；c—1000mg/6mL 硅胶柱，正戊烷分离净化的第 2 馏分色谱图；d—1000mg/6mL 硅胶柱，正戊烷 - 二氯甲烷 (70 : 30, V/V) 净化的第 2 馏分色谱图。

图 2 不同条件 SPE 小柱分离净化结果

Fig. 2 Chromatograms of different types of SPE column purification. a—Chromatogram of F1 by 500mg/3mL amino SPE column purification; b—Chromatogram of F1 by 500mg/3mL silica gel SPE column purification; c—Chromatogram of elution with pentane by 1000mg/6mL silica gel SPE column; d—Chromatogram of elution with *n*-hexane - DCM (70 : 30, V/V) by 1000mg/6mL silica gel SPE column

方式均经过 6 次平行实验。表 1 列出了不同配比淋洗液条件下 16 种 PAHs 的回收率范围及达到稳定值时各淋洗液的用量。

10 种溶剂配比中，正戊烷 - 二氯甲烷 (70 : 30, V/V) 和环己烷 - 二氯甲烷 (90 : 10, V/V) 均能够实现少量溶剂 (5mL) 高效洗脱 16 种多环芳烃。前者的回收率更高，可以达到 84% ~ 119% (表 1)。这可能与后者洗脱溶剂中的环己烷黏度大、流动性差、浓缩蒸发速率慢、PAHs 易挥发有关。综合来说，硅胶 SPE 小柱分离 PAHs 的最优淋洗方式为：

6mL 正戊烷和 5mL 正戊烷 - 二氯甲烷 (70 : 30, V/V) 梯度洗脱，分别获得烷烃和芳烃馏分，其中 PAHs 存在于第 2 馏分。色谱图显示，该方法基本有效消除 UCM 和烷烃，目标物与烷烃以及醇、酯等极性略强的组分分离效果良好。由于第 2 馏分中 UCM 基本消除，获得了相对干净的多环芳烃组分 (图 2d)，有利于高精度、准确分析 PAHs 单体碳同位素。

表 1 不同配比淋洗液溶剂用量及多环芳烃回收率

Table 1 Elute volume and recoveries of PAHs eluting with different solvents

淋洗液溶剂	体积比 (V/V)	淋洗液体积 (mL)	回收率 (%) (n = 6)
正戊烷	-	80	74 ~ 112
	95 : 5	30	66 ~ 121
	93 : 7	20	66 ~ 113
正戊烷 : 二氯甲烷	90 : 10	20	84 ~ 131
	80 : 20	10	85 ~ 122
	70 : 30	5	84 ~ 119
正己烷 : 二氯甲烷	97 : 3	25	70 ~ 113
正己烷 : 氯仿	90 : 10	20	89 ~ 124
	97 : 3	25	95 ~ 126
环己烷 : 二氯甲烷	90 : 10	5	76 ~ 116

2.4 PAHs 的回收率和精密度

在 1000mg/6mL 硅胶 SPE 小柱中加入模拟样品 A 或 B，淋洗溶剂分别为 6mL 正戊烷和 5mL 正戊烷 - 二氯甲烷 (70 : 30, V/V)。每种模拟样品进行 6 个平行实验。样品经过硅胶 SPE 小柱分离净化后，共流出大幅度减少，UCM 峰基本消除，基线低而平缓 (图 3)，对 PAHs 单体碳同位素分析非常有利。馏分中 16 种 PAHs 的回收率为 79% ~ 128% (RSD 为 2% ~ 13%)。

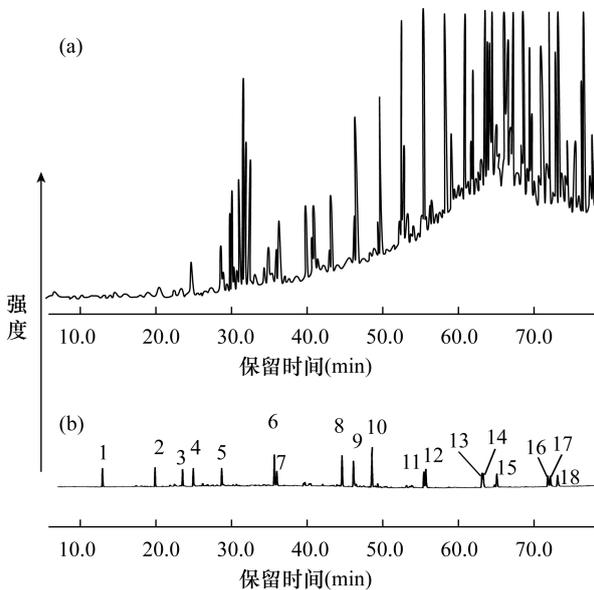
考虑到环境样品中 PAHs 单体碳同位素分析时样品用量较大，可能会带入更多杂质，选择模拟样 C (多杂质高浓度样品) 再次对分离净化方法进行验证，回收率为 87% ~ 125% (RSD 为 3% ~ 18%)。但此时 UCM 峰和共流出仍然比较严重，用同样的流程对其进行了二次净化后 UCM 基本消失，回收率为 65% ~ 127% (RSD 为 8% ~ 20%)。经过第二次净化后，萘、蒽、菲的回收率较第一次净化降低了 20% 左右。净化步骤增加，可能对低分子量、挥发性强的 PAHs 回收率影响较大。

2.5 PAHs 单体碳同位素比值分析精度和准确度

利用 GC - IRMS 分析上述实验中三种模拟样品净化后的 PAHs 单体碳同位素比值 (表 2)，分析精

表 2 SPE 小柱分离前后 PAHs 的 $\delta^{13}\text{C}$ 分析精度和准确度Table 2 Precision and accuracy of $\delta^{13}\text{C}$ values of PAHs before and after SPE column separation

PAHs 化合物	PAHs 工作标准		2000ng 杂质添加		3000ng 杂质添加		多杂质二次净化样品	
	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	SD (1 σ , n=5)	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	SD (1 σ , n=6)	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	SD (1 σ , n=6)	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)	SD (1 σ , n=6)
萘	-24.70	0.45	-0.26	0.16	-0.73	0.15	-0.02	0.41
萘烯	-22.71	0.28	0.95	0.28	0.73	0.13	0.97	0.43
芴	-23.10	0.13	0.39	0.29	0.22	0.17	0.31	0.27
芴	-26.20	0.06	1.12	0.12	0.59	0.18	1.07	0.29
菲	-24.22	0.40	0.32	0.17	0.20	0.21	0.05	0.24
蒽	-24.45	0.24	0.89	0.20	0.71	0.40	0.66	0.45
荧蒽	-23.51	0.30	-0.46	0.49	-0.29	0.20	-0.27	0.20
芘	-24.94	0.11	1.05	0.14	0.99	0.10	1.06	0.23
苯并(a)蒽 + 蒽	-24.22	0.16	0.15	0.25	0.30	0.51	-0.19	0.72
苯并(b)荧蒽 + 苯并(k)荧蒽	-26.41	0.12	0.82	0.80	1.08	0.65	1.46	0.63
苯并(a)芘	-24.91	0.32	0.86	0.26	0.64	0.22	1.05	0.55
茚并(1,2,3-cd)芘 + 二苯并(a,h)蒽	-23.74	0.46	1.11	0.30	0.69	0.27	0.62	0.32
苯并(g,h,i)芘	-27.00	0.10	0.92	0.39	0.54	0.24	0.89	0.46



a—模拟样品中添加的杂质; b—模拟样 B(2000ng 添加)净化后, 各组分分别为: 1—萘; 2—二氟联苯; 3—萘烯; 4—芴; 5—芴; 6—菲; 7—蒽; 8—荧蒽; 9—芘; 10—苯并(a)蒽; 11—蒽; 12—苯并(b)荧蒽; 13—苯并(k)荧蒽; 14—苯并(a)芘; 15—茚并(1,2,3-cd)芘; 16—二苯并(a,h)蒽; 17—苯并(g,h,i)芘; 18—三联苯。

图 3 2000ng 添加样品净化前后色谱图

Fig. 3 Chromatograms of before and after clean in 2000ng spiked level. a—Chromatogram of impurities; b—Chromatogram of after clean in 2000ng spiked level. These compounds are 1—naphthalene; 2—dichlorodiphenyl; 3—acenaphthylene; 4—acenaphthene; 5—fluorene; 6—phenanthrene; 7—anthracene; 8—fluoranthene; 9—pyrene; 10—benzo(a)anthracene; 11—chrysene; 12—benzo(b)fluoranthene; 13—benzo(k)fluoranthene; 14—benzo(a)pyrene; 15—indeno(1,2,3-cd)pyrene; 16—dibenzo(a,h)anthracene; 17—benzo(g,h,i)perylene; 18—terphenyl

度(1 σ)均在 0.8‰以内。其中分析精度超过 0.5‰的组分主要是苯并(b)荧蒽和苯并(k)荧蒽、苯并(a)蒽和蒽。由于苯并(a)蒽和蒽、苯并(b)荧蒽和苯并(k)荧蒽以及茚并(1,2,3-cd)芘和二苯并(a,h)蒽化合物性质相似,保留时间相近,两种化合物在色谱图上形成一个峰,因此在碳同位素分析中只能获得混合物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,这可能是造成这 3 组混合物分析精度相对较差的原因。分离净化前后 PAHs 单体碳同位素比值变化用 $\Delta\delta^{13}\text{C} = \delta^{13}\text{C}_{\text{工作标准}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{净化后模拟样}}$ 评估。3 种模拟样净化后,各 PAHs 单体的 $\Delta\delta^{13}\text{C}$ 值变化均在仪器分析误差范围之内。其中多杂质样品的 PAHs 碳同位素比值是经过两次净化流程后的结果,表明净化过程(一次与二次净化)不会造成 PAHs 碳同位素分馏。

3 方法验证

采集了北京某加油站附近表土样品两种(JYZ-M 和 JYZ-W)、北京某公共汽车站附近表土(Bus Station)和安徽某加油站附近表土(HN),对优化后的 PAHs 分离净化方法进行验证。上述环境样品加入内标二氟联苯和三联苯后经 ASE 抽提,按照优化的实验条件进行硅胶柱色谱分离,每种样品进行了 3~6 次平行实验。JYZ-M 和 HN 经过一次净化后,共流出和 UCM 基本消除。而 JYZ-W 和 Bus Station 经过第一次净化后,UCM 和其他成分的共流出仍然比较严重,经过第二次净化后 UCM 和共流出基本消失,色谱图显示基线平缓。

利用 GC-IRMS 分析了净化后的 PAHs 单体碳同位素,但是由于环境样品中 PAHs 含量较低,GC-IRMS 检出限较高,部分 PAHs 含量低于 GC-IRMS 检出限。各样品中均有检出的目标物为

萘、菲、荧蒽和芘以及内标二氯联苯和三联苯,其单体碳同位素比值分析精度和均值结果见表 3,除 JYZ-W 中的芘以外,PAHs 单体碳同位素分析精度优于 0.75‰。

表 3 表土中多环芳烃单体碳同位素分析结果

Table 3 $\delta^{13}\text{C}$ values of PAHs in topsoil samples

PAHs 化合物	JYZ-M		JYZ-W		Bus Station		HN	
	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	SD(‰) ($1\sigma, n=6$)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	SD(‰) ($1\sigma, n=3$)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	SD(‰) ($1\sigma, n=3$)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	SD(‰) ($1\sigma, n=4$)
萘	-	-	-	-	-	-	-23.61	0.03
二氯联苯	-24.82	0.40	-25.09	0.13	-24.92	0.47	-23.88	0.16
菲	-24.76	0.32	-24.06	0.43	-24.71	0.66	-23.68	0.31
荧蒽	-23.33	0.12	-24.54	0.66	-24.34	0.58	-23.54	0.19
芘	-22.57	0.24	-24.24	1.04	-24.22	0.36	-23.60	0.69
三联苯	-27.05	0.73	-26.22	0.19	-25.71	0.08	-26.00	0.55

4 结论

优化了 SPE 净化分离土壤中多环芳烃的条件:选择 1000mg/6mL 硅胶 SPE 小柱,利用 6mL 正戊烷淋洗烷烃和 UCM,5mL 正戊烷-二氯甲烷(70:30, V/V)洗脱 PAHs。流程简单易操作、溶剂用量少,PAHs 回收率可以达到 74%~128%,相对标准偏差为 2%~13% ($n=6$)。净化过程大幅降低了未分峰和共流出物的干扰,尤其是对低环数 PAHs 的干扰。分离净化前后 PAHs 单体碳同位素比值变化基本在 1.1‰ 以内,前处理过程没有造成目标化合物的碳同位素分馏,可以满足准确高精度的 PAHs 单体碳同位素分析。

利用表土样品对分离净化方法的可行性进行了验证,理论上该方法对植物、大气沉降、沉积物等样品同样适用。此外,由于同位素分析检出限高以及环境样品中 PAHs 含量并不高,满足 PAHs 单体碳同位素分析所需的样品量较大,提取物中杂质含量高,很容易达到 SPE 小柱的载荷极限,造成部分烷烃存储在之后的 PAHs 馏分中,影响 PAHs 的净化分离效果,从而影响其单体碳同位素的分析。今后有必要进一步研究 SPE 小柱将 PAHs 与 UCM、共流出有效分离的载样量,以满足更多类型环境样品中 PAHs 分离净化的分析需求。

5 参考文献

[1] Ye X Q, Pan W Y, Li C M, et al. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and risk for premature ovarian failure and reproductive hormones imbalance[J]. Journal

of Environmental Sciences, 2020, 91: 1-9.
 [2] Hou J, Yin W J, Li P, et al. Joint effect of polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalates exposure on telomere length and lung function [J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 386: 121663.
 [3] Tang J, An T C, Xiong J K, et al. The evolution of pollution profile and health risk assessment for three groups SVOCs pollutants along with Beijiing River, China [J]. Environmental Geochemistry and Health, 2017, 39: 1487-1499.
 [4] 李玉芳, 潘萌, 顾涛, 等. 北京哺乳期女性及婴幼儿多环芳烃暴露风险变化特征 [J]. 岩矿测试, 2020, 39(4): 578-586.
 Li Y F, Pan M, Gu T, et al. Exposure of mother and infants to polycyclic aromatic hydrocarbons during lactation, Beijing [J]. Rock and Mineral Analysis, 2020, 39(4): 578-586.
 [5] 姜永海, 韦尚正, 席北斗, 等. PAHs 在我国土壤中的污染现状及其研究进展 [J]. 生态环境学报, 2009, 18(3): 1176-1181.
 Jiang Y H, Wei S Z, Xi B D, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) pollution in soils in China: Recent advances and future prospects [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2009, 18(3): 1176-1181.
 [6] 苑金鹏, 钟宁宁, 吴水平. 土壤中多环芳烃的稳定碳同位素特征及其对污染源示踪意义 [J]. 环境科学学报, 2005, 25(1): 81-85.
 Yuan J P, Zhong N N, Wu S P. Stable carbon isotopic composition of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and its implications for the pollutants tracing [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2005, 25(1): 81-85.

- [7] 李琪,李钜源,窦月芹,等. 淮河中下游沉积物 PAHs 的稳定碳同位素源解析[J]. 环境科学研究,2012,25(6):672-677.
Li Q, Li J Y, Dou Y Q, et al. Compound-specific stable carbon isotopic analysis on origins of PAHs in sediments from the middle and lower reaches of the Huaihe River [J]. Research of Environmental Sciences, 2012, 25(6): 672-677.
- [8] 白慧玲,彭林,刘效峰,等. 太原市工、商业区 PM₁₀ 中 PAHs 碳同位素组成及来源[J]. 环境科学研究,2013,26(12):1276-1282.
Bai H L, Peng L, Liu X F, et al. Carbon isotope compositions and source apportionment of PAHs associated with PM₁₀ of industrial and commercial districts in Taiyuan City [J]. Research of Environmental Sciences, 2013, 26(12): 1276-1282.
- [9] 焦杏春,王广,叶传永,等. 应用单体碳同位素分析技术探析农田土壤中多环芳烃的植物降解过程[J]. 岩矿测试,2014,33(6):863-870.
Jiao X C, Wang G, Ye C Y, et al. Study on the phytodegradation of PAHs from farmland soil using compound-specific isotope analysis technique [J]. Rock and Mineral Analysis, 2014, 33(6): 863-870.
- [10] Vasil' Chuk Y K, Belik A D, Budantseva N A, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and carbon isotopes in a palsa peat (Bol'shezemel'skaya Tundra) [J]. Eurasian Soil Science, 2021, 54(7): 999-1006.
- [11] Garbariene I, Garbaras A, Masalaite A, et al. Identification of wintertime carbonaceous fine particulate matter (PM_{2.5}) sources in Kaunas, Lithuania using polycyclic aromatic hydrocarbons and stable carbon isotope analysis [J]. Atmospheric Environment, 2020, 237: 117673.
- [12] 陆燕,王小云,曹建平. 沉积物中 16 种多环芳烃单体碳同位素 GC-C-IRMS 测定[J]. 石油实验地质, 2018, 40(4): 532-537.
Lu Y, Wang X Y, Cao J P. Compound-specific carbon stable isotope analysis of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments by gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry (GC-C-IRMS) [J]. Petroleum Geology and Experiment, 2018, 40(4): 532-537.
- [13] 史兵方,杨秀培,唐婧,等. 荧光法测定土壤中总的多环芳烃含量[J]. 环境科学导刊, 2007, 26(4): 91-93.
Shi B F, Yang X P, Tang J, et al. Determination of total polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by fluorescence [J]. Environmental Science Survey, 2007, 26(4): 91-93.
- [14] 倪进治,王军,李小燕,等. 超高效液相色谱荧光检测器测定土壤中多环芳烃[J]. 分析试验室, 2010, 29(5): 25-28.
Ni J Z, Wang J, Li X Y, et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by ultra performance liquid chromatography with a fluorescence detector [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2010, 29(5): 25-28.
- [15] 张道来,刘娜,朱志刚,等. 山东半岛典型海岸带多环芳烃分布特征、来源解析及风险评估[J]. 岩矿测试, 2016, 35(5): 521-529.
Zhang D L, Liu N, Zhu Z G, et al. Sources and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon in surface sediments from typical coast of Shandong Peninsula [J]. Rock and Mineral Analysis, 2016, 35(5): 521-529.
- [16] 陶鑫,全洗强,俞建国,等. 加速溶剂萃取-旋蒸定容-高效液相色谱法检测土壤中 16 种多环芳烃[J]. 环境化学, 2019, 38(12): 2797-2807.
Tao X, Quan X Q, Yu J G, et al. Analysis of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in soil with accelerated solvent extraction, rotary evaporation for obtain a constant volume and high performance liquid chromatography [J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(12): 2797-2807.
- [17] 张小辉,王晓雁. 气相色谱-质谱联用法测定土壤中 16 种多环芳烃[J]. 岩矿测试, 2010, 29(5): 535-538.
Zhang X H, Wang X Y. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Rock and Mineral Analysis, 2010, 29(5): 535-538.
- [18] 王海娇,王娜,宋丽华,等. GC-MS-MS 法测定土壤中的 16 种多环芳烃[J]. 分析试验室, 2010, 29(S1): 412-414.
Wang H J, Wang N, Song L H, et al. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by GC-MS-MS [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2010, 29(S1): 412-414.
- [19] Merritt D A, Brand W A, Hayes J M. Isotope-ratio-monitoring gas chromatography-mass spectrometry: Methods for isotopic calibration [J]. Organic Geochemistry, 1994, 21(6-7): 573-583.
- [20] Hayes J M, Freeman K H, Popp B N, et al. Compound-specific isotopic analyses: A novel tool for reconstruction of ancient biogeochemical processes [J]. Organic Geochemistry, 1990, 16(4-6): 1115-1128.
- [21] Okuda T, Naraoka H, Ishiwatari R. Separation of PAHs in environmental samples by use of solid-phase extraction system for carbon isotope analysis [J]. Journal

- of the Mass Spectrometry Society of Japan,2000,48(6): 387-394.
- [22] O'Malley V P, Abrajanojr T A, Hellou J. Determination of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of individual PAH from environmental samples: Can PAH sources be apportioned? [J]. Organic Geochemistry, 1994, 21(6-7): 809-822.
- [23] Delhomme O, Rieb E, Millet M. Solid-phase extraction and LC with fluorescence detection for analysis of PAHs in rainwater [J]. Chromatographia, 2007, 65(3-4): 163-171.
- [24] Kiss G, Varga-Puchony Z, Hlavay J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation using solid-phase extraction and column liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 1996, 725: 261-272.
- [25] Liu X, Bi X, Mai B, et al. Separation of PAHs in aerosol by thin layer chromatography for compound-specific stable carbon isotope analysis [J]. Talanta, 2005, 66: 487-494.
- [26] Mazeas L, Budzinski H. Polycyclic aromatic hydrocarbon $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio measurement in petroleum and marine sediments: Application to standard reference materials and a sediment suspected of contamination from the Erika oil spill [J]. Journal of Chromatography A, 2001, 923: 165-176.
- [27] Yan B, Abrajano T A, Bopp R F, et al. Combined application of $\delta^{13}\text{C}$ and molecular ratios in sediment cores for PAH source apportionment in the New York/New Jersey harbor complex [J]. Organic Geochemistry, 2006, 37: 674-687.
- [28] Kim M. Stable carbon isotope ratio of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the environment: Validation of isolation and stable carbon isotope analysis methods [M]. Texas: Texas A&M University, 2004: 50-70.
- [29] 刘盛兰, 秦艳, 刘洪林, 等. 内蒙古草原土壤有机物提取分离及鉴定 [J]. 土壤学报, 2017, 54(6): 1459-1470.
- Liu S L, Qin Y, Liu H L, et al. Isolation and identification of soil organic matter in Inner Mongolia grassland [J]. Acta Pedologica Sinica, 2017, 54(6): 1459-1470.
- [30] Naafs D F W, van Bergen P F, Boogert S J, et al. Solvent-extractable lipids in an acid andic forest soil; variations with depth and season [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36: 297-308.
- [31] Morley C P, Mainwaring K A, Doerr S H, et al. Organic compounds at different depths in a sandy soil and their role in water repellency [J]. Australian Journal of Soil Research, 2005, 43: 239-249.
- [32] Atanassova I, Doerr S. Organic compounds of different extractability in total solvent extracts from soils of contrasting water repellency [J]. European Journal of Soil Science, 2010, 61: 298-313.
- [33] Kumar A, Chahal K K, Kataria D. Comparison of chemical composition of root and rhizosphere soil extracts of tagete spatula L.: GC-MS analysis [J]. Asian Journal of Chemistry, 2017, 29(4): 797-800.
- [34] 何文珊, 李琳, 李炎, 等. 生姜不同有机溶剂提取物的 GC-MS 分析 [J]. 热带亚热带植物学报, 2001, 9(2): 154-158.
- He W S, Li L, Li Y, et al. GC-MS analysis of different solvent extracts of ginger [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2001, 9(2): 154-158.
- [35] 罗庆, 王诗雨, 孙丽娜, 等. 同时加速溶剂萃取/气相色谱-质谱法测定植物中 13 种有机磷酸酯 [J]. 分析测试学报, 2018, 37(1): 50-56.
- Luo Q, Wang S Y, Sun L N, et al. Determination of thirteen organophosphate esters in plants using gas chromatography-mass spectrometry with simultaneously accelerated solvent extraction [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2018, 37(1): 50-56.
- [36] Wise S A, Chesler S N, Hertz H S, et al. Chemically-bonded aminosilane stationary phase for the high-performance liquid chromatographic separation of polynuclear aromatic compounds [J]. Analytical Chemistry, 1977, 49(14): 2306-2310.

Study on Separation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils for Compound – specific Carbon Isotope Analysis

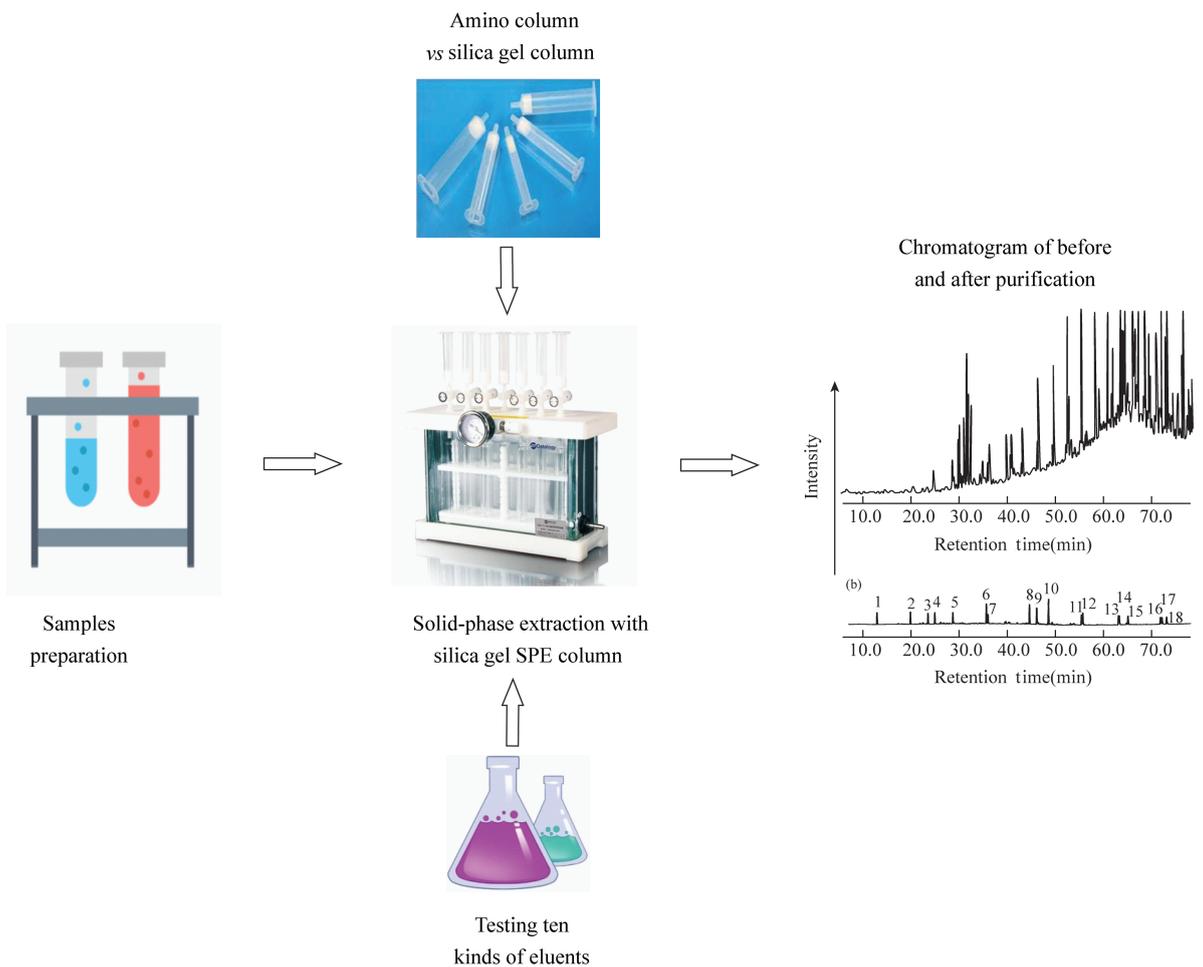
XIE Man – man¹, LIU Mei – mei¹, WANG Shu – xian^{1*}, LING Yuan², SUN Qing^{1*}

(1. National Research Center of Geoanalysis, Beijing 100037, China;

2. Institute of Geology, Chinese Academy of Geological Sciences, Beijing 100037, China)

HIGHLIGHTS

- (1) Purification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil by silica gel solid – phase extraction reduces the requirement of a pretreatment laboratory.
- (2) The purification effect of low molecular weight PAHs can be improved by using the silica gel solid – phase extraction because the interferences of unresolved complex mixture (UCM) and co – outflow are significantly reduced.
- (3) The pretreatment process does not cause carbon isotope fractionation of the target compounds, which provides the means for accurate and high – precision analysis of compound – specific carbon isotope of PAHs.



ABSTRACT

BACKGROUND: Tracing the source of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by the compound – specific carbon isotope is becoming increasingly popular. For precise carbon isotope analysis, a pretreatment process is required to reduce co – outflow and unresolved complex mixture (UCM). Some existing studies require more instrumentation, such as high – performance liquid chromatography (HPLC). In addition, little attention has been paid to PAHs with a ring number less than 3.

OBJECTIVES: To establish a good separation method of 16 PAHs for meeting the requirements of compound – specific carbon isotope analysis.

METHODS: The effects of solid phase extraction (SPE) cartridges with amino and silica fillers were compared, and 10 eluent solvents were used on the separation, purification and enrichment effects of PAHs. Gas chromatography (GC) was used to test the separation and purification effect, and gas chromatography – isotope ratio mass spectrometry (GC – IRMS) was used to analyze compound – specific carbon isotopes.

RESULTS: More than 20% of the naphthalene and acenaphthene in the amino cartridge cannot be completely separated from the alkanes and unresolved peaks. The silica gel SPE cartridge has better impurity removal and separation effects than the amino cartridge. Choosing 1000mg/6mL silica gel SPE cartridge, using 6mL *n* – pentane to elute UCM and alkanes, and 5mL *n* – pentane – dichloromethane (70 : 30, V/V) to elute PAHs, and GC to conduct a preliminary inspection of the separation and purification effect, and GC – IRMS for individual carbon isotope analysis. The recovery of 16 kinds of PAHs was 79% – 128% , the relative standard deviation was 2% – 13% (1σ , $n=6$) , and the analysis accuracy of the single carbon isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$) was 0.1‰ – 0.75‰.

CONCLUSIONS: The method greatly reduces the interferences of co – outflow and UCM to compound – specific carbon isotope analysis of PAHs, especially the low cyclic PAHs. No significant carbon isotope fractionation of PAHs is observed during purification, which satisfies compound – specific carbon isotope analysis requirements.

KEY WORDS: soil; polycyclic aromatic hydrocarbons; compound – specific carbon isotope; solid – phase extraction; separation; gas isotope ratio mass spectrometry