thermoscientific

应用指南

AN_C_GCMS-77

通过加速溶剂萃取和 GC-FID 测定碎石和土壤中的总石油烃

Fabrizio Galbiati,[1] Luca Teli2

[1]Thermo Fisher Scientific (Schweiz) AG, Reinach, Switzerland
赛默飞世尔科技（中国）有限公司

[2]Consulenze Ambientali SpA, Scanzorosciate, Italy

关键词

加速溶剂萃取、UNI EN 14039:2005、烃类 >C_{12}、烃类 C_{10}-C_{40}、在线净化、Rocket 蒸发器、气相色谱法、火焰离子化检测

目标

展示加速溶剂萃取和 GC-FID 法检测受污染土壤和碎石中的总石油烃 (TPH)。

简介

汽油、柴油或润滑油的溢出或泄漏是导致的土壤烃污染最常见的环境污染形式之一。使用卤化溶剂如 1,1,2- 三氟 -1,2,2- 三氯乙烷 (Freon® 113) 或四氯甲烷萃取后，通常用红外光谱法测定烃类。由于臭氧消耗问题，许多国家已经禁止或严格限制使用氯氟烃。目前索氏萃取（美国环保局 (U.S. EPA) 方法 3540）和超声萃取（U.S. EPA 方法 3550）等替代方法用于在分析测定前从土壤中萃取烃类。这些技术为劳动密集型并且溶剂消耗高，通常每个样品需要耗费 18 小时和 500mL 的溶剂。

人们开发出加速溶剂萃取，以此来减少从固体样品中萃取有机污染物所需的溶剂量和时间。通过加速溶剂萃取，每个样品的萃取可以在短短 20 分钟内完成并使用少于 50mL 的溶剂。加速溶剂萃取采用升高萃取温的方法来提高固体样品中有机污染物的萃取效率。此项技术还使用升高压力的方法来使溶剂在萃取温度高于溶剂沸点的情况下仍保持液体状态，从而实现快速萃取和重复萃取。由于温度升高，常规萃取过程中可能会萃取到所需分析物之外的干扰物。这些不需要的共萃取物可能会干扰分析物检测或降低仪器性能。

传统上使用色谱技术如凝胶渗透色谱法 (GPC) 或填充特定吸附剂的玻璃柱来清洗样品萃取物，然后进行分离和分析。例如，根据 UNI EN 14039:2005 确定固体废物中的烃含量需要使用 Florisil® 在玻璃柱中进行萃取后净化

如多个出版物 [1-18] 中所述，使用加速溶剂萃取系统的最新进展包括：在样品萃取过程中选择性去除干扰物的方法，从而将萃取和净化合并成一个步骤。这一进展除去了使用 GC 分

ThermoFisher SCIENTIFIC

析前执行离线样品净化程序并减少了样品制备上花费的时间量的需要。

本文报道的方法适用于在烃含量 (>C_{12}) 25 到 4000mg/kg 的土壤和烃含量 (C_{10}-C_{40}) 50 到 8000mg/kg 的废物（干重）。总石油烃 (TPH) 为沸点约为 175℃ 至 525℃ 的所有烃类，例如 $C_{10}H_{22}$ 至 $C_{40}H_{82}$ 的正烷烃、异烷烃、环烷烃、烷基苯、烷基萘，和多环芳族化合物。

实验

设备

使用 Binder™ 的 ED53 烘箱干燥样品。使用 Sartorius™ 分析天平称取干燥的土壤样品和标准品。使用 Fritsch™ Pulverisette™ 行星式球磨机研磨样品。使用配备 34mL 不锈钢萃取池 (P/N 068089) 的 Thermo Scientific™ Dionex™ ASE™ 350 加速溶剂萃取仪（P/N 083114, 120V 或 P/N 083146, 240V）（图 1）进行萃取。将萃取物收集在 60mL 双头 Thermo Scientific™ Rocket™ Flip-Flap 管 (P/N 076360)（图 2）中，并使用 Thermo Scientific Rocket 蒸发器（P/N 075904, 120 V 或 082766, 240 V）（图 3）直接在 2mL 自动进样器玻璃小瓶 (Thermo Scientific™ Chromacol™ VAGK ISP: GC 2-SVW + 9-SCK(B)-ST1) 中浓缩。

图 1. Dionex ASE™ 350 加速溶剂萃取仪

图 2. Rocket Flip-Flap 小瓶

图 3. Rocket 蒸发器

使用配备分流 / 不分流进样口的 Thermo Scientific™ TRACE1310™ GC 气相色谱仪、Thermo Scientific™ TRACE™ TR-5 GC 柱 (30m × 0.25mm × 0.25μm, P/N 260E142P) 和火焰离子化检测器 (FID) 分析样品。

溶剂和标准品

农残级己烷 (Fluka™, P/N 34484) 是 ASE 的萃取溶剂。使用 Thermo Scientific™ Dionex™ ASE™ Prep 硅藻土 (DE) (P/N 062819)。从 Carlo Erba Reagents™ 购买硅胶（70-230 目，用于柱色谱法，P/N 453337）。从 Sigma-Aldrich® 购买正癸烷 (P/N D901)、正十二烷 (P/N D221104) 和正四十烷 (P/N 87087)。从 Fluka 购买正十八烷酸十八烷基酯 (P/N 46408)。从 Dr. Ehrenstorfer GmbH 购买柴油标准品（无添

加剂，DIN H53，P/N CA03009000）和矿物油标准品（无添加剂，DIN H53，P/N CA03009010）。从 Fluka 购买庚烷（P/N 69246，确切含量见标签）中浓度约为 8000mg/mL 的矿物油标准品混合物 A 和 B。从 Sigma-Aldrich 购买硫酸钠 (P/N 31481)。

由 8000mg/L 的柴油和矿物油标准品贮备液制备浓度为 4000.0、2000.0、1000.0、500.0、200.0 和 100.0mg/L 的标准溶液。通过以 550℃ 加热至少 4 小时来活化硅胶。通过将 100mg 正十八烷酸十八烷基酯溶于 100mL 正己烷中来制备正十八烷酸十八烷基酯 ($C_{36}H_{72}O_2$) 的试液。通过向填充了 2.0g 硅胶和 2g 硫酸钠的净化柱中加入 10mL 试液来检查每批硅胶的净化效率。对洗脱液进行色谱分析后，正十八烷酸十八烷基酯的回收百分比不得超过 5%。称取 30mg 正四十烷放入 1L 容量瓶中，然后加入正己烷和 30μL（约 21mg）正癸烷制备 C_{10}-C_{40} 的保留时间窗 (RTW) 标准溶液。称取 30mg 正四十烷放入 1L 容量瓶中，然后加入正己烷和 35μL（约 26mg）正十二烷制备 $>C_{12}$ 的保留时间窗 (RTW1) 标准溶液。

萃取、浓缩和测量

将纤维素过滤膜 (Thermo Scientific, P/N 056780) 置于 34mL 萃取池的底部，然后加入 5g 活化的硅胶和另一个纤维素过滤膜。将 4g 住宅区土壤样品、2g 工业区土壤样品或 2g 碎石在玻璃烧杯中与足量的 Dionex ASE Prep DE 混合并将所得混合物小心倒入萃取池中。使用 Dionex ASE Prep DE 填充所有空的容积。根据表 1 中报告的条件对加速溶剂萃取系统进行方法编辑。

表 1. 加速溶剂萃取的条件。

溶剂	正己烷
温度	100℃
循环次数	1
萃取时间	5min
冲洗体积	60%
吹扫时间	90s
每个样品的总萃取时间	20min
每个样品的总溶剂容积	40mL

将萃取物直接收集到 Flip-Flap 小瓶中，并使用预编程的低沸点法在 Rocket 蒸发器上蒸发至几乎干燥。根据所要求 分析的类型并将其注入到 GC 中，将残留物与 1mL 的 RTW 或 RTW1 溶液复溶。表 2 中总结了 GC 条件。

表 2. 气相色谱仪条件。

载气	氦气
流速	2.0mL/min，恒流模式
烘箱温度	45℃（保持 1min），25℃ /min 到 340℃（保持 2min）
进样口温度 (SSL)	300℃
进样模式	不分流
不分流时间	0.80min
分流流速	50mL/min
检测器温度 (FID)	340℃
进样量	2μl

结果和讨论

土壤是一个非常复杂的分析基质，尤其是它们来自受污染的场所时。土壤的性质和组成对萃取效率和方法的灵敏度有显著影响。典型土壤由约 45% 的矿物质、5% 的有机物质、20-30% 的水和 20-30% 的空气组成。特别是有机物质含有可保留在 GC 系统中的高分子量的非挥发性物质，从而导致分析性能不佳。许多分析人员使用大量的样品制备技术从这种不需要的非挥发性物质中萃取和浓缩目标化合物。然而，这些萃取和浓缩技术耗时且昂贵。建筑和拆迁碎石样品也受到关注，因为它们可能被烃类和其他化合物污染，如多环芳烃 (PAH) 和多氯联苯 (PCB)。

根据 UNI EN 14039:2005，使用丙酮 - 正庚烷混合物萃取土壤样品。然后用水从萃取液中除去丙酮。使用 Florisil 对所得有机相进行固相萃取以除去腐殖质和腐殖质化合物等有机物质，并通过 GC-FID 分析洗脱液。同样的标准也提到将加速溶剂萃取作为替代萃取方法；然而，仍然需要使用 Florisil 手动净化。最近多个出版物描述了加速溶剂萃取选择性去除干扰的方法，从而将萃取和净化合并成一个步骤。

由于石油产品的组分复杂性，不可能通过分别测量每种烃污染物的浓度来评估石油烃污染的程度。目前广泛用于表达土壤中非极性石油烃总浓度的一个指标称为 TPH。它是由 GC-FID 测定的非特定的、方法明确的指标。正癸烷和正四十烷的保留时间界定的色谱图范围内集成了分离和未分离组分的总峰面积（图 4）。因此，TPH 参数中仅包含半挥发性和非挥发性烃类。

第一个萃取过程使用加标土壤进行（为了完全除去土壤中的有机物，使用之前以 800℃ 加热 4 小时）。TPH 加标水平为 25、50 和 750mg/kg。平行萃取了二十个样品用于馏分 $>C_{12}$、二十个样品用于馏分 C_{10}-C_{40} 的样品。试验结果表明，$>C_{12}$ 的加标回收率在 84.0% 和 101% 之间，C_{10}-C_{40} 则在 79.0% 和 96.6% 之间。UNI EN 14039:2005 另外规定了低污染土壤的最大 RSD 为 9.14%，高度污染土壤的最大 RSD 为 8.13%（分别对应 697mg/kg 和 1818mg/kg）。对于碎石，最大 RSD 为 6.05%，对应 7841mg/kg。$>C_{12}$ 的最大 RSD 为 5.7%，C_{10}-C_{40} 的最大 RSD 为 5.5%，这两个参数都完全符合欧洲标准的要求。750mg/kg 加标样品的典型色谱图如图 4 所示。表 3 和表 4 中总结了所有结果。

如图 5 所示，受污染土壤的浓度约为 4000mg/kg。根据“萃取、浓缩和测量”章节中描述的程序处理样品。可以清楚地将柴油馏分（大概对应 C_{11}-C_{18}）认定为本样品中的主要污染物。

表 3>C_{12} 的平均回收率和 RSD

浓度 mg/kg		
25	50	750
88.9	105.0	99.3
81.8	106.8	101.3
84.4	105.0	100.5
87.6	99.1	101.2
90.8	99.8	99.4
85.2	94.7	102.2
81.9	101.6	97.8
79.9	107.2	99.4
87.8	95.5	103.7
78.1	106.2	102.2
76.1	101.2	100.0
90.1	98.4	100.0
89.8	89.7	101.6
81.5	103.3	100.0
90.8	102.1	104.7
75.4	91.3	103.6
84.2	92.7	99.8
85.9	95.2	95.8
79.0	109.3	100.4
80.9	95.9	98.2
平均回收率 %		
84.0	100.0	100.5
RSD		
5.8	5.7	2.1

表 4. C_{10}-C_{40} 的平均回收率和 RSD

浓度 mg/kg		
25	50	750
77.9	101.6	102.0
80.3	101.3	100.7
80.9	90.2	95.9
82.7	98.6	98.0
88.8	101.5	93.5
81.1	90.6	93.7
78.6	96.6	86.8
77.6	104.5	94.9
76.5	95.3	96.3
73.5	98.9	93.4
72.7	91.8	97.9
84.2	94.9	86.7
85.6	87.1	93.9
73.1	99.0	100.3
78.8	103.5	98.6
75.5	89.0	104.3
81.4	94.1	102.0
83.4	89.1	94.1
70.2	103.3	89.3
77.3	100.8	105.0
平均回收率 %		
79.0	96.6	96.4
RSD		
6.0	5.7	5.4

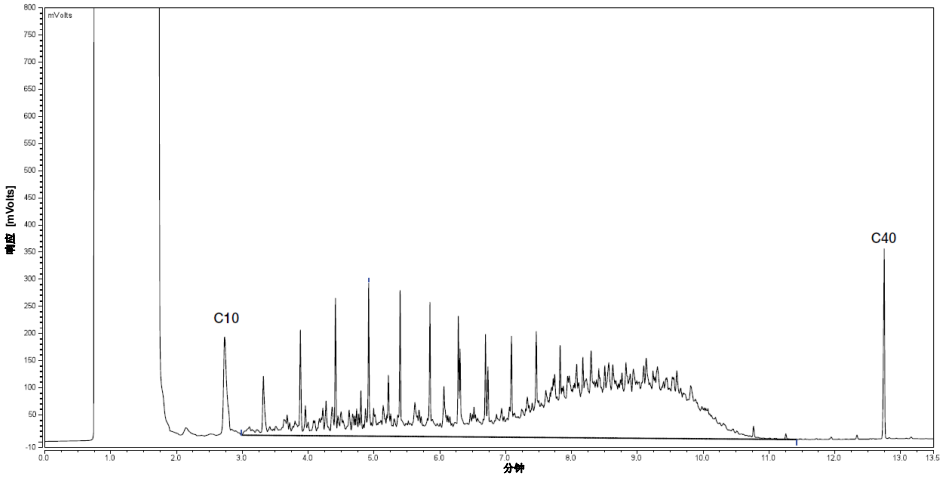

图 4. ASE 萃取浓缩后 750mg/kg 加标土壤样品的色谱图。

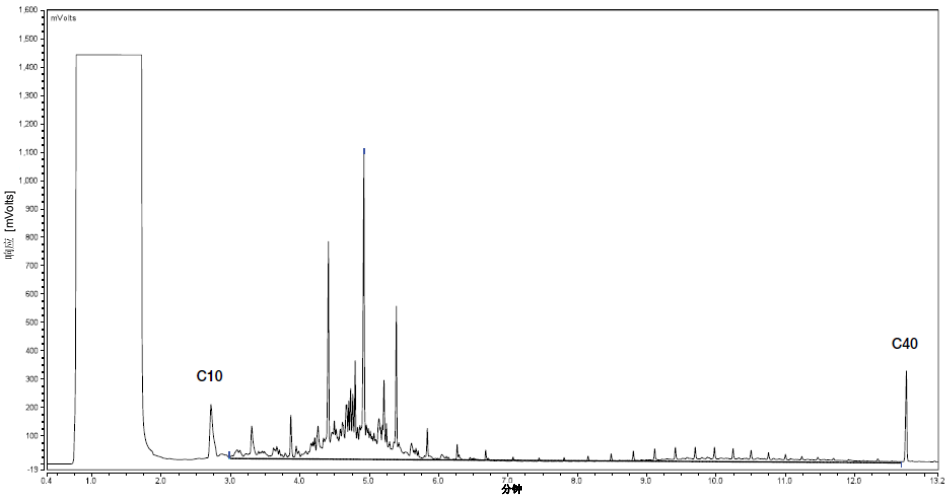

图 5. ASE 和浓缩后严重污染土壤样品的色谱图。

结论

使用加速溶剂萃取以及在线净化来萃取受污染土壤中的烃类物时，加标回收率在 84.0% 至 100.5% 之间。使用在线净化选择性地消除干扰避免了耗时和昂贵的萃取后手动净化程序。使用加速溶剂萃取处理样品仅需 20 分钟并且只需 40mL 溶剂。Rocket 蒸发器不需要繁琐的氮吹浓缩。通过使用 Flip-Flop 系统，可以直接将样品浓缩到 GC 小瓶中。

致谢

特别感谢意大利 Scanzorosciate 的 Consulenze Ambientali SpA（UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005 认证公司）的 Luca Teli，他进行了土壤样品工作，并感谢他的主管 Raffaella Gibellini 批准使用此客户应用说明数据。

参考文献：

1. Ezzell, J.; Richter, B.; Francis, E. Selective Extraction of Polychlorinated Biphenyls from Fish Tissue Using Accelerated Solvent Extraction, American Environmental Laboratory, 1996, 8(12), 12-13.
2. Thermo Fisher Scientific Inc., Selective Extraction of PCBs from Fish Tissue Using Accelerated Solvent Extraction (ASE), Application Note 322, LPN 0764, Sunnyvale, CA, 1996.
3. Thermo Fisher Scientific Inc., Determination of PCBs in Large-Volume Fish Tissue Samples Using Accelerated Solvent Extraction (ASE), Application Note 342, LPN 1204, Sunnyvale, CA, 2000.
4. Björklund, E.; Muller, A.; von Holst, C. Comparison of Fat Retainers in Accelerated Solvent Extraction for the Selective Extraction of PCBs from Fat-Containing Samples, Anal.Chem., 2001, 73, 4050-4053.
5. Sporring, S.; Björklund, E. Selective Pressurized Liquid Extraction of Polychlorinated Biphenyls from Fat-Containing Food and Feed Samples:Influence of Cell Dimensions, Solvent Type, Temperature and Flush Volume, J. Chromatogr., A., 2004, 1040, 155-161.
6. Haglund, P.; Sporring, S.; Wiberg, K.; Björklund, E. Shape-Selective Extraction of PCBs and Dioxins from Fish and Fish Oil Using In-Cell Carbon Fractionation Pressurized Liquid Extraction, Anal.Chem., 2007, 79, 2945-2951.
7. Thermo Fisher Scientific Inc., Determination of Perchlorate in Vegetation Samples Using Accelerated Solvent Extraction (ASE) and Ion Chromatography, Application Note 356, LPN 1830, Sunnyvale, CA, 2006.

thermoscientific

8. Gentili, A.; Perret, D.; Marchese, S.; Sergi, M.; Olmi, C.; Curini, R. Accelerated Solvent Extraction and Confirmatory Analysis of Sulfonamide Residues in Raw Meat and Infant Foods by Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry, J. Agric.Food Chem., 2004, 52, 4614-4624.
9. Björklund, E.; Sporring, S.; Wiberg, K.; Haglund, P.; von Holst, C. New Strategies for Extraction and Clean-up of Persistent Organic Pollutants from Food and Feed Samples Using Selective Pressurized Liquid Extraction, Trends in Anal.Chem., 2006, 25(4), 318-325
10. Hussen, A.; Westbom, R.; Megersa, N.; Retta, N.; Mathiasson, L.; Björklund, E. Optimisation of Pressurized Liquid Extraction for the Determination of p,p'-DDT and p,p'-DDE in Aged Contaminated Ethiopian Soils, Anal.Bioanal.Chem., 2006, 386(5), 1525-1533.
11. Hussen, A.; Westbom, R.; Megersa, N.; Mathiasson, L.; Björklund, E. Development of a Pressurized Liquid Extraction and Clean-up Procedure for the Determination of Alpha-Endosulfan, Beta-Endosulfan and Endosulfan Sulfate in Aged Contaminated Ethiopian Soils, J. Chromatogr.A, 2006, 1103, 202-210.
12. Sporring, S.; von Holst, C.; Björklund, E. Selective Pressurized Liquid Extraction of PCB's from Food and Feed Samples:Effects of High Lipid Amounts and Lipid Type on Fat Retention, Chromatograpia, 2006, 64(9-10), 553-557.
13. Wiberg, K.; Sporring, S.; Haglund, P.; Björklund, E. Selective Pressurized Liquid Extraction of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls from Food and Feed Samples, J.Chromatogr.A, 2007, 1138, 55-64.
14. Hussen, A.; Westbom, R.; Megersa, N.; Mathiasson, L.; Björklund, E. Selective Pressurized Liquid Extraction for Multi-residue Analysis of Organochlorine Pesticides in Soil, J.Chromatogr.A, 2007, 1152, 247-253.
15. Thermo Fisher Scientific Inc., Fast Determination of Acrylamide in Food Samples Using Accelerated Solvent Extraction (ASE) Followed by Ion Chromatography with UV or MS Detection, Application Note 409, LPN 1497, Sunnyvale, CA, 2003.
16. Thermo Fisher Scientific Inc., Extraction and Cleanup of Acrylamide in Complex Matrices Using Accelerated Solvent Extraction (ASE) Followed by Liquid Chromatography, Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS), Application Note 358, LPN 1922, Sunnyvale, CA, 2007.
17. Poerschmann, J.; Carlson, R. New Fractionation Scheme for Lipid Classes Based on 'In-Cell Fractionation' Using Sequential Pressurized Liquid Extraction, J. Chromatogr.A, 2006, 1127, 18-25.
18. Poerschmann, J.; Trommler, U.; Biedermann, W.; Truyen, U.; Lucker, E. Sequential Pressurized Liquid Extraction to Determine Brain-Originating Fatty Acids in Meat Products as Markers in Bovine Spongiform Encephalopathy Risk Assessment Studies, J. Chromatogr.A, 2006, 1127, 26-33.

赛默飞 官方微信

赛默飞色谱与 痕量元素分析

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher SCIENTIFIC