



AN352 加速溶剂萃取 (ASE) 快速测定持久性有机污染物 (POPs)

介绍

联合国环保署 (UNEP) 正致力于阻止部分的持久性有机污染物 (POPs) 的排放。POPs 存在于许多环境样品中像土壤、淤泥、固体以及半固体废物和沉淀物。POPs 亦存在于生物样品中像母乳以及鱼类组织。UNEP 关注消除环境中的 POPs 是因为这些物质是有毒、致癌、致畸、在环境中降解缓慢, 对全球的环境造成威胁。以下是被 UNEP 列为 POPs 的化合物:

杀虫剂:

艾氏剂, 氯丹, DDT, 狄氏剂, 异狄氏剂, 七氯, 灭蚁灵, 毒杀芬

工业化学品:

六氯苯 (BNA 的一种), 多氯联苯 (PCB)

化学副产物 (二氧 (杂) 芑)

多氯联苯并对二恶英 (PCDD)

加速溶剂萃取 (ASE) 等同于美国 EPA3540, 3541, 3550 以及 8151 中萃取有机氯杀虫剂 (OCPs) 有机磷杀虫剂 (OPPs), 半挥发性物质 (BNAs), 多环芳烃 (PAHs) 以及多氯联苯 (PCBs) 的方法。ASE 符合 EPA3545A 萃取 POPs 的方法。ASE 萃取技术显著地简化了样品前处理过程, 其是通过使萃取溶剂在加温加压来增加萃取过程的动力学。高压使溶剂在高于沸点温度时仍然保持液体的状态, 因此减少从样品基体中提取目标分析物所需的时间和试剂。ASE 与传统的提取技术索氏提取, 超声波萃取以及手动振动相比可以得到相同甚至更好的结果, 因而可以取代这些萃取技术。

这篇应用注释总结了萃取上述 POPs 物质的方法及结果, 并附表比较 ASE 萃取与传统萃取方法。

设备

Dionex ASE200 加速溶剂萃取仪带有溶剂控制器 (P/N048765)

以下是可选的附件:

22ml 不锈钢萃取池 (P/N048764)

11ml 不锈钢萃取池 (P/N048765)

33ml 不锈钢萃取池 (P/N048766)

纤维素滤膜 (P/N049458)

60ml 收集瓶 (P/N048784) 或者 40ml 收集瓶 (P/N048783)

分析天平 (至少精确到 0.0001g)

ASE Prep DE (硅藻土) (P/N062819)

溶剂

正己烷

二氯甲烷

丙酮

甲苯

(所有的试剂均为农残级并且都是购自 fisher 科学)

萃取条件

杀虫剂以及多氯联苯 (8081/8082)

溶剂: 正己烷/丙酮 (1: 1), (v/v)

温度: 100°C

压力: 1500psi

静态时间: 5min

静态循环次数: 1-2

冲洗体积: 60%



吹扫时间：60—120s

六氯苯（8270）

溶剂：二氯甲烷/丙酮（1：1），（v/v）

温度：100℃

压力：1500psi

静态时间：5min

静态循环次数：1—2

冲洗体积：60%

吹扫时间：60—120s

二氧杂芑（PCDD）（8290）

溶剂：甲苯（100%），如果用盐酸预处理则用甲苯/乙酸（5%，v/v）

温度：175—200℃

压力：1500psi

静态时间：5—15min

静态循环次数：2—3

冲洗体积：60—70%

吹扫时间：60—120s

样品信息以及提取过程

杀虫剂样品信息

加标的浓度范围为 5—250 $\mu\text{g/kg}$ 。所有的加标土壤均由 ERA（美国科罗拉多州 Arvada 市环境资源协会）提供及认证。加标的样品同时由 ASE200 系统和 Soxtec 系统（自动索氏）萃取。低浓度的加标样要进行基体空白、基体加标以及重复基体加标的测定，所有的其它浓度都要做基体加标。ASE200 中 11ml 的萃取池中可以得到 13—15ml 的萃取液，从 22ml 的萃取池中可以得到 26—30ml 的萃取液。萃取液可根据干扰物的共萃取程度决定是否要进一步纯化还是直接进行分析。在文献的应用示例中，萃取液是采用 SW—846 方法 8080 分析。所有的萃取以及分析工作都在美国犹他州盐湖的 Mountain、州分析实验室完成。

杀虫剂的萃取过程

将样品特别尤其是混合样混合均匀。干燥的沉积物、土壤以及废弃物样品必须磨碎或者通过其它细分方法使其能过 1mm 的筛子。在研磨机中加入足够的样品确保碾磨后至少能得到 10—20g 的分析样。样品在室温的条件下置于表面皿或者使用正己烷清洗过的铝箔上风干 48 小时或者与硅藻土混合干燥直至没有流体存在。但风干不适合更易挥发有机氯杀虫剂的分析（例如六氯化苯），这是因为在风干过程中样品中的有机氯会存在一定程度的流失。潮湿的沉积物以及土壤尤其是黏土样品也是不能风干否则样品中挥发性分析物会损失，可以取 5—10g 的样品与等量的 ASE Prep DE（硅藻土）置于小烧杯用刮刀混合均匀。采用 ASE 萃取任何固体样品都需要分散样品颗粒以使在萃取过程中样品充分与溶剂接触。

粘性、纤维状或者油性的样品不一定需要采用研磨的方法，可以通过剪、切或者是其它方式粉碎使其在提取过程中能够最大限度地与萃取溶剂接触。如果选择研磨的方式，可以将 ASE Prep DE（硅藻土）与样品 1：1(w/w) 混合后研磨以增加研磨效率。处理这类复杂基体的样品需要专业的手段判断目标分析物。

在萃取池的出口端放置一片纤维素垫片。每个样品分别称取约 10g 到 11ml 的萃取池中，如果是 22ml 的萃取池则称取约 20g。对于与 ASE Prep DE 混合的样品，要将烧杯中的全部混合物转移到萃取池中。可在合适的萃取池中加入内标物以及基体加标物。

将萃取池放置在 ASE200 的自动转盘上并且放置好 60ml 的收集瓶（总共 24 个）。设置方法条件后开始萃取。



PCB 样品信息

污水污泥来自德国 Fresenius 研究所，牡蛎组织样品来自美国华盛顿州西雅图市国家海洋和大气局（NOAA）实验室。作为标准参考物质的河流沉积物来自 SRM1939（美国马里兰州 Gaithersburg 市国家科技研究所）。作为基准参考物质的污染土壤（CRM911—050）购自资源技术公司（美国怀俄明州 Laramie 市）

PCB 样品的提取过程

样品必须干燥并且磨碎。在样品装入萃取池前，放置一片纤维素垫片于萃取池的出口端。如果样品含水量超过 10%，则需与等量的 ASE Prep DE 进行混合。

污水污泥、牡蛎组织样品以及河流沉积物的定量分析

ASE 萃取液通过附聚有硝酸银/硫酸的硅胶或氧化铝柱纯化，将样品浓缩到 1ml 后用 GC 用进行分析。PCB 采用气相色谱-电子捕获检测器进行分析；色谱柱采用 30m×0.25mm 的 Rtx-5（美国宾夕法尼亚州，Bellefonte 市 Restek 公司）或者等效的柱子进行分析。进样口和检测器的温度都保持在 300℃。柱温箱的初始温度为 100℃，以 10℃程序升温至 300℃保持 5min。采用外标法进行校正计算。

土壤的定量分析（CRM911—050）

土壤萃取物中 PCB 的测定参照美国 EPA SW-846 的方法 8080。在 GC 分析之前，ASE 萃取液定容至 25ml。色谱的进样方式是分流/不分流进样，双电子捕获检测器。用两根毛细管柱 DB-608（30m×0.53mm）以及 DB-1701（30m×0.53mm）进行比对实验（美国加利福尼亚州福尔松市 J&W 科学）。两根柱子用 Y 型熔融石英连接器（Restek）连接。Y 型连接器的另一端与一根充当保护柱（5m×0.53mm）的非活性熔融石英毛细管柱连接。5μL 的进样就能使样品同时在两根毛细管柱上分析。进样口的温度保持在 220℃，两个检测器的温度都保持在 320℃。柱温箱的升温程序为：初始温度 60℃，以 28℃/min 的速度升高到 200℃保持 1min，以 10℃/min 的速度升高到 265℃保持 20.5min。载气为氦气，流速恒定在大约 30cm/s。

六氯苯样品信息

对于半挥发性有机物（BNA 化合物）加标的范围为 250 到 12500 μg/kg。所有的加标土壤都由 ERA（环境资源协会）制备及认证。样品研磨到 100—200 目（150—75 μm）。湿样品可以采用与 ASE Prep DE（10g：10g）混合或者风干。样品研磨后称取一定的量到 11 或者是 22ml 的萃取池中。

加标的样品同时由 ASE200 系统以及 Soxtec（自动索氏萃取）萃取。萃取液根据 SW-846 方法 8270A 进行分析。

注：所有的萃取以及分析工作都在 Mountain 州立分析有限公司进行（美国犹他州盐湖城）。对于低浓度的加标样品的分析要做基体空白、基体加标及重复基体加标测定；对于所有的其它浓度要做基体加标。

六氯苯萃取过程

六氯苯的萃取过程是等同采用 U.S.EPA SW-846 3545A。

将样品尤其是混合样混合均匀。干燥的沉积物、土壤以及废弃物样品必须磨碎或者通过其它细分方法使其能过 1mm 的筛子。在研磨机中加入足够的样品确保碾磨后至少能得到 10—20g 的分析样。样品在室温的条件下置于表面皿或者使用正己烷清洗过的铝箔上风干 48 小时或者与硅藻土混合干燥直至没有流体存在。但风干不适合更易挥发有机氯杀虫剂或半的挥发性有机物的分析（例如六氯化苯），这是因为在风干过程中样品中的有机氯会存在一定程度的流失。

粘性、纤维状或者油性的样品不一定需要采用研磨的方法，可以通过剪、切或者是其它方式粉碎使其在提取过程中能够最大限度地与萃取溶剂接触。如果选择研磨的方式，可以将 ASE Prep DE（硅藻土）与样品 1：1(w/w) 混合后研磨以增加研磨效率。

潮湿的沉积物以及土壤尤其是黏土样品也是不能风干否则样品中挥发性分析物会损失，可以取 5—10g 的样品与等量的 ASE Prep DE（硅藻土）置于小烧杯用刮刀混合均匀。采用 ASE 萃取任何固体样品都需要分散样品颗粒以使在萃取过程中样品充分与溶剂接触。



放置一片纤维素垫片于萃取池的出口端。每个样品分别称取约 10g 到 11ml 的萃取池中，如果是 22ml 的萃取池则称取约 20g。对于与 ASE Prep DE 混合的样品，要将烧杯中的全部混合物转移到萃取池中。可在合适的萃取池中加入内标物以及基体加标物。

将萃取池放置到萃取池转盘上；然后将清洗干净、带盖的 40ml 收集瓶放置在收集传输带上，最多可放置 24 个收集瓶。在 ASE200 仪器上设置萃取条件后开始萃取。

从 11ml 萃取池中收集大约 13—15ml 的萃取物或者从 22ml 的萃取池中收集大约 26—30ml 的萃取液。萃取液根据共萃取物对分析物的干扰程度决定是否要进行再处理还是可以直接分析。

二恶英（PCDD）的样品信息

研究两组不同样品：一组来自德国，包括烟囱灰、城市灰尘以及飞尘，而另一组来自加拿大的四个沉积物样品。高浓度 ng/kg (ppt) 的 PCDDs 以及 PCDFs 沉积物 (EC-2) 来自国家水质研究所（加拿大安大略湖州伯灵顿市湖滨路 867 号 5050 信箱）。低含量的沉积物 (HS-2) 来自国家海洋生物科学研究理事会（加拿大新斯科舍省哈利法克斯市牛津大街 1411 号）。以上两个样品都作为标准参照物并且拿到后立即使用。另取自 Parrots 海湾以及 Hamilton 海港的两个沉积物作为萃取样品。这两个样品都具有高浓度的共萃取物质。

二恶英（PCDD）样品的萃取过程

表 1 列出了索氏以及 ASE 萃取烟囱砖灰以及城市灰尘中 PCDD 的萃取条件。

飞尘的萃取过程与其它样品的萃取过程略有不同。飞尘在溶剂萃取之前，用 6M 盐酸浸泡 30min 后用蒸馏水彻底清洗。索氏以及 ASE 萃取样品的条件都列在表 1 中。而对于新鲜灰尘样品，ASE 的萃取是在甲苯中加入 5% (v/v) 的冰醋酸而不是用预盐酸处理，其它所有条件保持不变。

表 1 烟囱砖灰以及城市飞灰中 PCDD 的萃取条件

条件	索氏提取	ASE
样品含量	4—10g	4—10g
试剂	甲苯, 250ml	甲苯, 15ml
温度	小于 111℃	150℃
压力	常压	1500psi
时间	18h	5 分钟加热
循环次数		5min 静态时间, 2-3 次循环
分析手段	GC/MS	GC/MS

定量以及样品纯化

根据德国 VDI3499，烟囱砖灰、城市灰尘以及飞尘样品的萃取液都是使用填装多层硅胶以及铝粉的色谱柱进行纯化。

沉积物样品萃取液是使用填装有改性硅胶和铝粉固定相的两端开口色谱柱进行纯化。

纯化过的萃取液可使用自动化的 HPLC-碳柱去除联苯醚干扰物从而进一步纯化样品。分析的详细过程请见参考文献 1。

GC/MS 以及 GC/MS/MS 分析

烟囱灰、城市灰尘以及飞尘的萃取液都是通过带有 HP5890 系列 II 的气相色谱和 HP 5972 质谱检测器的 GC-LRMS 分析。色谱柱使用 60m(长)× 0.25mm(直径)×0.15 μm(膜厚)的 J&W DB Dioxin 柱。

沉积物样品萃取物是通过 GC/MS/MS (Varian3400 气相色谱, Finnigan MAT TSQ70 三重四级杆质谱检测器以及 ICIS II 的数据处理系统)或者 GC/HRMS(HP5890 系列 II 气相色谱, VG Autospec-10000 质谱仪以及 OPUS 的数据处理系统)。所有样品萃取液的分离都是在 60m(长)× 0.25mm(直径)×0.15 μm(膜厚)的 J&W DB-5 熔融石英毛细管色谱柱。



标物

所有内标溶液都包含十种标物，对于烟囱灰、城市灰尘以及飞尘样品的内标物加入 $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8- T_4CDD 。没有使用清洗标准。样品中加入 100 μL 的回收标准溶液，使得样品中含有 25ng/ml $^{13}\text{C}_{12}$ -2, 3, 7, 8- T_4CDD 。

对于沉积物样品，PCDD/PCDF 的混合标准是由剑桥同位素实验室或者威灵顿实验室购买的贮备液配制获得。内标定量标准使用 15 $^{13}\text{C}_{12}$ -2, 3, 7, 8-取代的PCDDs以及PCDFs。包含的同系物都列于数据表中。在萃取完后，萃取液中加入清洗标准（ $^{37}\text{C}_{14}$ -2,3,7,8- T_4CDD ）来测定在萃取以及清洗过程中的损失。在进样前，样品了加入 10 μL 由壬烷配制、浓度为 100pg/ μL 回收标准溶液 $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4- T_4CDD 以及 $^{13}\text{C}_{12}$ -1, 2, 3, 7, 8, 9- H_6CDD 。

结果与讨论

杀虫剂

表 2 和 3 列出了所选环境样品的萃取结果，包括加标和实物标样。这些样品的测定结果表明 ASE 技术所得到的样品回收率与索氏萃取相当。表 2 和表 3 总括了本研究中三种不同类型土壤样品中有机氯杀虫剂的 3 个不同浓度的加标回收率。

表 2. ASE 与自动索氏萃取三种不同类型土壤样品中杀虫剂的平均回收率对比

杀虫剂	与索氏萃取相比的平均回收率
七氯	88
艾氏剂	94.9
γ 氯丹	99.5
α 氯丹	102.0
狄氏剂	101.2
异狄氏剂	97.2
P, p'-DDT	74.9

平均回收率为沙子、土、性肥料三者萃取液回收率的平均值

表 3 有机氯杀虫剂的平均相对标准偏差

基质	ASE	自动索氏提取
粘土	5.0	9.7
粘性肥土	7.8	6.2
沙子	12.0	10.1

PCBs

表 4-7 是从污水污泥、牡蛎组织、河流沉积物以及土壤中萃取 PCB 的结果。表中列出了从这些基质中萃取 PCB 同系物的平均回收率以及相对标准偏差。除了萃取河流沉积物中的 PCB153 外，所有其它物质的回收率都高于 77%的标定值或索氏萃取回收率值。河流沉积物萃取物中的干扰物质妨碍低分子量 PCB 同系物 PCB28 以及 PCB52 的准确定量。

实验结果证明 ASE 是有效的样品前处理方法。与其它萃取方法相比，ASE 萃取消耗最少量的溶剂而且显著地缩短了萃取时间。ASE 满足美国 EPASW-846 方法 3545A 中分析 PCB 的要求。



表 4. 污水污泥中 PCB 的回收率

PCB 同系物	平均回收率, n=6 (与索氏萃取相比)	相对标准偏差 (%)
PCB28	118.1	2.5
PCB52	114.0	4.7
PCB101	142.9	7.4
PCB153	109.5	5.8
PCB138	109.6	3.9
PCB180	160.4	7.5

每个分析物的浓度范围为 160—200ug/kg

表 5. 牡蛎组织中 PCB 的回收率

PCB 同系物	平均回收率, n=6 (与索氏萃取相比)	相对标准偏差 (%)
PCB28	90.0	7.8
PCB52	86.9	4.0
PCB101	83.3	1.5
PCB153	84.5	3.5
PCB138	76.9	3.0
PCB180	87.0	4.3

每个分析物的浓度范围为 50—150ug/kg

表 6 河流沉积物 (SRM1939) 中 PCB 的回收率

PCB 同系物	平均回收率, n=6 (与索氏萃取相比)	相对标准偏差 (%)
PCB101	89.2	3.7
PCB153	62.3	4.1
PCB138	122.1	2.3
PCB180	111.5	5.9

每个分析物的浓度范围为 170—800ug/kg.

表 7 土壤 (CRM911-050) 中氯化三联苯 1254 的回收率

序号	氯化三联苯含量 (ug/kg)
1	1290.0
2	1365.8
3	1283.4
4	1368.6
平均值	1327.0(99.0%)
相对标准偏差	3.51%

六氯苯

如此应用文献所示 ASE 是种实用的前处理技术, 其萃取样品中六氯苯的回收率与自动索氏萃取相当。表 8 和表 9 总括了本研究中三种不同类型土壤样品中六氯苯的 3 个不同浓度的加标回收率, 其萃取方法如前所示。ASE 的回收率以及相对标准偏差在索氏萃取测定结果的偏差范围内。



表 8 ASE 与自动索氏萃取三种不同类型土壤样品中六氯苯的平均回收率对比

BNA 目标化合物	平均回收率 (与索氏萃取相比)
六氯苯	93.7

平均回收率为沙子、土、性肥料三者萃取液回收率的平均值

表 9. 三种类型土壤中 BNA 的平均相对标准偏差 (%)

基质	ASE	自动索氏提取
粘土	9.1	9.6
粘性肥土	16.1	15.2
沙子	13.4	17.1

二恶英 (PCDD)

烟囱砖灰以及城市灰尘

表 10 列出了触地烟囱砖灰以及城市灰尘部分二恶英同系物的测定结果，其结果是所有同分异构体的总和。其毒性的总和为每种同分异构体毒性的加权计算值。一种是根据北大西洋公约组织 (NAYO) 的公式计算，另一种计算方式是根据德国健康组织 BgVV 提供的方法。结果表明 ASE 萃取这些化合物的回收率与索氏提取一致。

灰尘

表 10 列出了萃取灰尘中二恶英的结果。由于样品测定干扰很大，样品中二恶英的检测限为 $\mu\text{g/kg}$ 。若样品用盐酸/水预处理过则 ASE 萃取灰尘中二恶英的结果与索氏萃取的结果一致。

高浓度的沉积物样品

表 10 比较了索氏萃取以及 ASE 萃取高浓度沉积物样品 (EC-2) 中二恶英的平均结果。两组数据非常相符。

表达 10 样品 HS-2 的数据也显示了一个有利的比较趋势 (表 10)。

表 10. 索氏提取以及 ASE 测定总的聚氯代二苯并-对-二恶英的对比结果

样品基体	索氏提取 (ng/kg)	ASE(ng/kg)
烟囱砖灰	8040	8170
城市灰尘	1110	1159
飞尘 ($\mu\text{g/kg}$)	93200	107900
沉积物 (EC-2)	6750	6840
沉积物 (HS-2)	11731	12783
Hamilton 海港沉积物	4283	4119
Parrots 海湾沉积物	2836	2444

测定结果为四氯、五氯、六氯、七氯以及八氯代联苯-对二恶英的总和

高污染的沉积物样品

两个包含高浓度共萃取物以及油脂的沉积物样品也用来评价 ASE 技术 (表 10)。从大的容器中定量移取沉积物样品但是不要求像制备标准物质那样精确。总的来说 ASE 萃取高污染的沉积物中 PCDDs 的回收率与索氏提取具有可比性。

结论

数据表明 ASE 萃取环境基质中的 POPs 与传统萃取技术像索氏萃取本质上是一样的。此外与索氏萃取相比在得到相同萃取结果的条件下，ASE 能够缩短萃取时间以及减少溶剂消耗。

供应商

agilent 技术

Fisher 科学



国家水质研究所
国家海洋生物科学研究理事会
百灵威化学公司

致谢

感谢来自加拿大安大略湖环境与能源部门的 David S.Waddell, Tereza Gobran 以及 Vin Khurana, 来自德国柏林 GmbH 的 Scheutwinkel 博士 以及 Mattulat 博士对本工作做的贡献。