

气相色谱-质谱法分段测定土壤中的可提取总石油烃^①

杨慧娟^{1,2}, 刘五星^{2*}, 骆永明², 黄玉娟², 孙剑英^{1,2}, 徐旭士¹

(1 南京师范大学生命科学学院, 江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 江苏省微生物资源产业化工程技术研究中心, 南京 210046;

2 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(南京土壤研究所), 南京 210008)

摘要: 本文建立了用气相色谱-质谱法分段分析土壤中可提取总石油烃的检测方法, 并对该方法进行了质量控制研究。土壤中的总石油烃的检测范围是 C8 (C7.6) ~ C34 (C34.01)。用索氏提取, 柱层析分离方法进行前处理, 用 C8 (C7.6), C10 (C10.1), C12 (C11.7), C16 (C15.5), C21 (C20.8), C34 (C34.01) 标准品分别作为 C8 ~ C10 (C7.6 ~ C10.1), > C10 ~ C12 (> C10.1 ~ C11.7), > C12 ~ C16 (> C11.7 ~ C15.5), > C16 ~ C21 (> C15.5 ~ C20.8), > C21 ~ C34 (> C20.8 ~ C34.01) 每段馏分的“替代物”定量, 将 C8 ~ C34 之间所有波峰面积分段积分, 以“替代物”的线性关系计算每段馏分的浓度。该方法的质控结果: 脂肪烃: 相关系数为 0.990 3 ~ 0.999 8; 最低检出限为 0.011 ~ 0.373 ng/μl; 回收率为 50.3% ~ 109.3%; 相对标准偏差为 1.5% ~ 11.3%; 芳香烃: 相关系数为 0.991 3 ~ 0.997 6; 最低检出限为 0.004 ~ 0.047 ng/μl; 回收率为 53.6% ~ 107.7%; 相对标准偏差为 3.2% ~ 12.2%。本方法检测结果能准确反映土壤的污染程度并有助于生物毒性计算。

关键词: GC-MS; 石油污染土壤; 可提取总石油烃; 分段积分

中图分类号: X833; O657

随着经济的发展, 石油成为了主要的能源之一, 在其开采、运输、加工和产品使用过程中不可避免地会对土壤造成污染^[1-3]。石油类污染物主要是由烷烃和芳香烃组成的混合物, 其中许多组分具有致癌、致畸和致突变的特性。由于石油烃的组分非常复杂, 且不同组分毒性相差很大, 因此采用合适的方法测定土壤中石油类污染物的总量和组分, 是准确评价土壤污染程度及其生物毒性的前提条件。目前石油烃含量的测定方法主要包括重量法、红外光度法、色谱法等^[4-6]。重量法、红外光度法只能测定总的石油烃, 色谱法中的气相色谱法(GC)、气相色谱法-质谱法(GC/MS)则广泛用来测定总石油烃及石油中的正构饱和烷烃和特定种类的多环芳烃等单组分^[7-9]。然而, 石油中除了上述组分外, 还含有很多异构烷烃和环烷烃以及芳香烃的衍生物, 这些成分对环境同样也有很大的危害。因此, 单纯测定土壤环境中的总石油烃、特定饱和烷烃或多环芳烃难以准确评估其环境毒性^[10]。

由于石油是由成千上万种物质组成的复合体, 不可能对其每个单体化合物进行定量分析并测定生物毒性, 美国总石油烃工作组(TPHCWG)依据石油烃中

的碳当量(EC), 在计算了250多种单化合物的淋滤系数和挥发系数等的基础上将石油划分为 13 种馏分, 并利用“替代”化合物的参考剂量(RfDs)和参考浓度(RfCs)描述了每种馏分的阈值毒性特性。因此在对石油污染土壤中石油烃的测定方面可以采用分段积分定量计算石油污染物的每个馏分的浓度, 然后参照相应的“替代”化合物计算出石油污染土壤的毒性^[11]。然而, 目前尚未有相应的针对土壤总石油烃分段测定的方法报道。本实验在参考美国环保署(USEPA) SW-846 8015B, 加拿大环境部 (CCME)、德克萨斯州自然资源保护委员会 (TNRCCM)1005、1006方法基础上, 采用气相色谱法-质谱法(GC/MS)全离子扫描模式(SCAN)建立土壤中的可提取总石油烃的分段测定方法。由于碳当量数 5 ~ 8 的石油烃挥发性强, 属挥发性有机污染物(VOCs)范畴, 其提取和测定方法与针对土壤中半挥发性有机物的总石油烃方法均存在较大差异。因此本方法只测定碳当量数 8 之后(包括 8)的石油烃。本方法不仅能测定 C8 ~ C34 所有结构的烃类, 还能确切地计算出不同馏分化化合物的含量, 准确反映土壤的污染程度和毒性。

基金项目: 国家自然科学基金项目(41001182)、江苏省自然科学基金项目(BK2012891) and 环境保护公益性行业科研专项基金项目(201009015)资助。

* 通讯作者(liuwuxin@issas.ac.cn)

作者简介: 杨慧娟(1987—), 女, 山东菏泽人, 硕士研究生, 主要从事土壤环境生物修复方面研究。E-mail: hjyang@issas.ac.cn

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

索氏提取仪, 旋转蒸发仪(BUSHI 公司, 瑞士), 氮吹仪(北京帅恩科技有限责任公司), 气相色谱-质谱联用仪(7890N-5975B, Agilent, 美国); 甲苯、邻三联苯、萘、蒽、芘、苯并[a]芘 6 种芳香烃的标准品购自美国 Supelco 公司, 正辛烷、正癸烷、正十二烷、正十六烷、正二十一烷、正三十四烷 6 种正构烷烃均购自百灵威公司, 系列浓度的标准储备液用正己烷配置。

1.2 色谱/质谱条件

1.2.1 脂肪烃色谱/质谱条件 色谱条件: 色谱柱: DB-5 石英毛细柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 进样口温度: 300°C; 升温程序: 初始温度 50°C, 保持 5 min, 以 2°C/min 的速率升至 45°C, 然后以 20°C/min 升至 310°C, 保持 15 min; 载气(He)流速 1.4 ml/min, 进样量 1 μl; 不分流进样; 质谱条件: 电子轰击(EI)离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 280°C; 离子源温度 230°C; 总离子扫描模式, 质量扫描范围(m/z) 60 ~ 640 amu。

1.2.2 芳香烃色谱/质谱条件 色谱条件: 色谱柱: DB-5 石英毛细柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 进样口温度: 280°C; 升温程序: 初始温度 50°C, 保持 3 min, 以 2°C/min 的速率升至 40°C, 然后以 25°C/min 升至 300°C, 保持 5 min; 载气(He)流速 1.4 ml/min, 进样量 1 μl; 不分流进样; 质谱条件: 电子轰击(EI)离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 260°C; 离子源温度 230°C; 质量扫描范围(m/z) 60 ~ 640 amu。

1.3 样品的预处理

1.3.1 索氏提取 取 5 g 冷冻干燥后的油泥(60 目), 加入等体积无水硫酸钠(400°C 下 8 h 烘干), 用 70 ml 二氯甲烷, 索氏萃取 16 h, 将萃取后有机溶剂旋转蒸发至干, 添加 3 ml 正己烷溶解^[12]。

1.3.2 柱层析 选内径为 1 cm 的玻璃层析柱, 依次均匀加入 3 g 硅胶、2 g 氧化铝、0.5 g 无水硫酸钠, 轻击柱壁, 填充均匀, 加入 10 ml 正己烷湿润柱子。将萃取液通过层析柱, 并用 30 ml(每次 5 ml)正己烷洗脱脂肪烃组分, 用 15 ml(每次 5 ml)体积比 2:1 的二氯甲烷与正己烷混合溶解洗脱芳香烃组分, 将洗脱液自然挥发干或于氮吹仪上吹干, 上机前用 2 ml 正己烷溶解^[13]。

2 结果与讨论

2.1 标准色谱图及不同分段化合物的分段方式和保留时间

依据石油烃的碳当量(EC)与化合物在环境中的迁

移速率的关系, 参考美国总石油烃工作组(TPHCWG)划分的馏分, 确定每个馏分的“替代”化合物为辛烷、癸烷、十二烷、己烷、二十一烷、三十四烷 6 种脂肪烃和甲苯、1, 2, 3-三甲基苯、萘、蒽、芘、苯并[a]芘 6 种芳香烃。6 种脂肪烃的碳数分别为 8、10、12、16、21、34。6 种芳香烃的碳当量数分别为 7.6、10.1、11.7、15.5、20.8、34.01。利用 GC/MS 的 SCAN 方式对 6 种脂肪烃和 6 种芳香烃进行全扫描, 得到各化合物总离子图谱(图 1、图 2)。

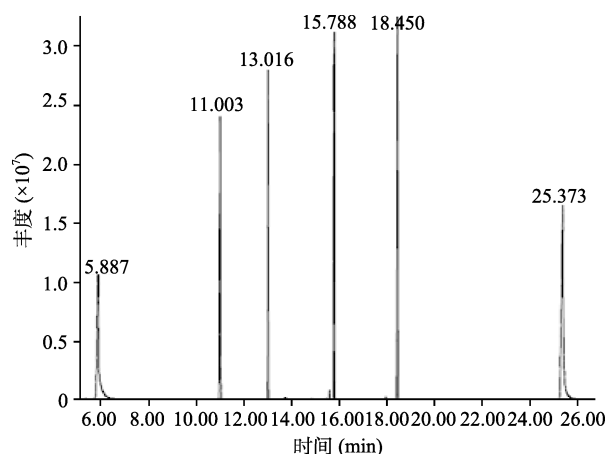


图 1 6 种脂肪烃质谱图

Fig. 1 6 kinds of aliphatic Mass Spectrum

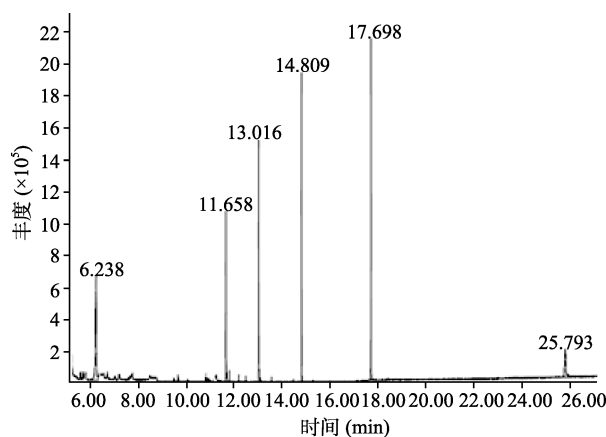


图 2 6 种芳香烃质谱图

Fig. 2 6 kinds of aromatic Mass Spectrum

石油馏分的碳数(碳当量数)的多少和沸点的高低有关, 沸点的高低与质谱图的保留时间有关, 根据“替代物”的保留时间将石油馏分分段积分。脂肪烃的色谱图分 5 组进行积分, 包括 C8 ~ C10, > C10 ~ C12, > C12 ~ C16, > C16 ~ C21, > C21 ~ C34。芳香烃的色谱图分为 5 组进行积分, 包括 C7.6 ~ C10.1, > C10.1 ~ C11.7, > C11.7 ~ C15.5, > C15.5 ~ C20.8, > C20.8 ~ C34.01。相邻两种标准物质的保留时间差表示这一段的保留时间, 若前一段积分包括了一种标准物质, 则

后一段积分中就要把这种物质除去。即除 C8 ~ C10(C7.6 ~ C10.1)这一段的保留时间定义为 C8(C7.6)的保留时间前 0.1 min 开始至 C10(C10.1)的保留时间后 0.1 min 外,其他所有分段积分的保留时间均从开始的标准物保留时间后 0.1 min 开始至结束的标准物的保留时间的后 0.1 min 结束^[14]。

2.2 线性范围

在实验设定的气质条件全扫描模式下,用 7 个浓度脂肪烃、芳香烃标准溶液做标准曲线,脂肪烃标准混合溶液的浓度分别为:2.5、5.0、7.5、10、20、50、100 ng/μl;芳香烃标准混合溶液的浓度分别为:0.1、0.3、0.5、0.8、1.0、1.2、1.5 ng/μl。

实验得到 6 种脂肪烃和 6 种芳香烃的线性方程及各组分校正曲线的相关系数,由表 1 可以看出各物质的相关性均在 0.99 以上。

2.3 精密度和检测限

分别连续分析 2.5 ng/μl、0.1 ng/μl 的脂肪烃、芳香烃标准液 7 次,通过自动积分得出 7 次响应值,用相对标准偏差表示仪器精密度;由于连续分析 7 次 2.5 ng/μl、0.1 ng/μl 的脂肪烃、芳香烃标准液的 RSD% <20%,可以用这 7 次的图谱来计算检测限,根据 Chemstation 的 Signal-to-Noise 方法获得 7 次进样的信噪比,计算这种分析条件的仪器的检测限^[15]($D = 3N \times Q/I$, 其中 Q (ng/μl) 为进样浓度, N 为噪音值, I 为信号值),结果见表 2。

表 1 6 种脂肪烃和 6 种芳香烃标准曲线方程
Table 1 Calibration curve equations of 6 aliphatics and 6 aromatics

脂肪烃	回归方程	相关系数	芳香烃	回归方程	相关系数
C8	$Y = 504\ 800X - 1\ 728\ 000$	0.998 5	C7.6	$Y = 811.9X + 831\ 600$	0.991 3
C10	$Y = 454\ 800X + 842\ 000$	0.999 2	C10.1	$Y = 795.5X - 34\ 590$	0.996 1
C12	$Y = 462\ 700X + 1\ 335\ 000$	0.998 8	C11.7	$Y = 928.6X - 28\ 070$	0.996 0
C16	$Y = 561\ 800X + 2\ 146\ 000$	0.997 2	C15.5	$Y = 1\ 136X - 93\ 140$	0.996 0
C21	$Y = 519\ 800X - 1\ 278\ 000$	0.999 8	C20.8	$Y = 1\ 402X - 150\ 400$	0.995 5
C34	$Y = 772\ 500X - 20\ 560\ 000$	0.990 3	C34.01	$Y = 579.6X - 111\ 200$	0.997 6

表 2 6 种脂肪烃和 6 种芳香烃的相对标准偏差和仪器检测限
Table 2 Relative Standard Deviation(RSD) and Instrument Detection Limit (IDL) of 6 aliphatics and 6 aromatics

脂肪烃	精密度 RSD (%)	仪器检测限 IDL(ng/μl)	芳香烃	精密度 RSD (%)	仪器检测限 IDL (ng/μl)
C8	2.2	0.368	C7.6	3.8	0.006
C10	2.2	0.046	C10.1	3.3	0.006
C12	1.9	0.012	C11.7	6.7	0.006
C16	1.6	0.019	C15.5	6.9	0.012
C21	1.5	0.032	C20.8	3.2	0.004
C34	11.3	0.373	C34.01	12.2	0.048

由表 2 看出实验得到 6 种脂肪烃和 6 种芳香烃的 RSD% <20%; 6 种脂肪烃的仪器检测限在 0.012 ~ 0.373 ng/μl 之间,6 种芳香烃的检测限在 0.004 ~ 0.048 ng/μl 之间。由检测限范围可以看出,仪器对于芳香烃的灵敏度高于脂肪烃。由于是全扫描模式,不能完全消除背景干扰,仪器检测限相对偏高一点,由于直链烃的毒性较低、在环境中的迁移性较大且在石油烃中占的比例较大,芳香烃的毒性较大且在石油烃中的比例较低,虽然脂肪烃的仪器检测限高于芳香烃的,但是这种分析条件能够满足环境中脂肪烃物质的分析要求。

2.4 回收率

取空白土壤,加入 6 种脂肪烃、6 种芳香烃的标准溶液,经过上述前处理过程,上机检测。由表

3 看出标准物的回收率在 50.3% ~ 109.3% 之间。由于 C8、C10 和 C7.6、C10.1 属于挥发性有机物,在旋转蒸发溶剂和氮吹时特别容易损失掉,所以回收率偏低。

表 3 6 种脂肪烃和 6 种芳香烃的平均回收率
Table 3 Average recovery of 6 aliphatics and 6 aromatics

脂肪烃	回收率(%)	芳香烃	回收率(%)
C8	50.3	C7.6	53.6
C10	59.7	C10.1	55.4
C12	80.4	C11.7	73.9
C16	83.5	C15.5	107.7
C21	88.0	C20.8	84.2
C34	109.3	C34.01	105.7

2.5 石油污染土壤样品测定实例

本实验使用标准品定量，定量方式是将分布在 C8(C7.6) ~ C34(C34.01) 之间的所有波峰面积都积分，采用上述的分段方式将化合物分段，分别将不同碳原子数范围的组分积分。由于采用的是全扫描模式测定，不能消除背景干扰，为了检测背景干扰的强度，采用 1-氯-十八烷和邻三联苯两种替代物分

别测量脂肪烃和芳香烃的基质效应^[16]。将两种替代物加入石油污染土壤中，经过上述前处理过程，上机检测，回收率分别是 100.8% 和 109.9%，在 85% ~ 115% 之间，定量计算时可以忽略基质效应^[12]。在该条件下对石油污染土壤样品进行了分析，表 4 中的 S1, S2, S3 和 S4 分别代表同一样品，4 次重复测定的结果。

表 4 重复样品中总石油烃的含量(μg/g)
Table 4 Quantitative analysis of TPHs

石油烃	S1	S2	S3	S4	RSD(%)	
脂肪烃	C8 ~ C10	-	-	-	-	
	>C10 ~ C12	-	-	-	-	
	>C12 ~ C16	26.2	35.5	28.2	29.4	13.4
	>C16 ~ C21	500.0	466.7	493.3	483.5	3.0
	>C21 ~ C34	5 120.0	4 320.0	4 656.7	4 895.6	7.2
芳香烃	C7.6 ~ C10.1	-	-	-	-	
	>C10.1 ~ C11.7	-	-	-	-	
	>C11.7 ~ C15.5	38.0	33.4	32.2	35.7	7.3
	>C15.5 ~ C20.8	82.8	65.8	73.0	72.6	9.5
	>C20.8 ~ C34.0	1 167.8	910.1	992.2	1 128.0	11.4

注：“-”表示未检测出。

由于低碳链的石油烃本来就不稳定，在自然环境中极易挥发和降解，所测的土样是受石油污染时间较长的土壤，分析样品中 C8 ~ C12 这段组分较易挥发和降解，低碳数的化合物没检测出，很可能是已经被降解或挥发了。烃碳数越高，越难被降解，由表 4 的数据可以看出测量结果与该理论一致，随着碳数增多，土壤中的含量增高。样品中脂肪烃和芳香烃含量 4 次重复测定的标准偏差分别在 3.0% ~ 13.4% 和 7.3% ~ 11.4% 之间，表明该方法灵敏、准确、可靠，适用于对土壤中石油烃组分进行分段测定和生物毒性评价。

参考文献：

- [1] Khamchayan M, Charkhabi AH, Tajik M. Effects of crude oil-contamination on geotechnical properties of clayey and sandy soils[J]. Engin. Geology, 2007, 89(3): 220-229
- [2] 刘五星, 骆永明, 滕应, 李振高, 吴龙华. 我国部分油田土壤及油泥的石油污染初步研究[J]. 土壤, 2007, 39(2): 247-251
- [3] 顾廷富, 梁健, 肖红, 晋玉亮. 大庆油田落地原油对土壤污染的研究[J]. 环境科学与管理, 2007, 32(9): 50-52
- [4] Reddy CM, Quinn JG. GC-MS analysis of total petroleum hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater samples after the North Cape oil spill[J]. Marine Pollution Bulletin, 1999, 38(2): 126-135
- [5] Daghbouche Y, Garrigues S, Morales-Rubio A, de la Guardia M. Evaluation of extraction alternatives for

- Fourier transform infrared spectrometric determination of oil and greases in water[J]. Analytica Chimica Acta, 1997, 345(1): 161-171
- [6] Xing L. Identification and remediation of the marine oil-spill[J]. Contemporary Chemical Industry, 2009, 38(5): 530-533
- [7] 李庆玲, 徐晓琴, 黎先春, 王小如. 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
- [8] 许鹏军, 张焱, 任玥, 齐丽, 杨文龙, 黄业茹. ASE-SPE/GC-MS 测定土壤中 16 种 PAHs 质量控制研究[J]. 分析测试学报, 2012, 31(9): 1 126-1 131
- [9] 王如刚, 王敏, 牛晓伟, 唐景春. 超声-索氏萃取-重量法测定土壤中总石油烃含量[J]. 分析化学, 2010, 38(3): 417-420
- [10] Eloy YCD, Miriam OCM, Ana CNC, Miguel ÁDD. Validation of an analytical methodology for the quantitative analysis of petroleum hydrocarbons in marine sediment samples[J]. Quim. Nova, 2009, 32(4): 855-860
- [11] 曹云者, 施烈焰, 李丽和, 李发生. 石油烃污染场地环境风险评价与风险管理[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(3): 255-272
- [12] 毕鸿亮, 张浩原, 孙翠香, 饶勇, 苏流坤. 蔬菜中多环芳烃的 GC-MS 分析[J]. 分析测试学报, 2007, 26(4): 530-532
- [13] 中国石油天然气总公司. 岩石可溶性有机物和原油族组分柱层析分析方法(SYT 5119-1995)[S]. 北京: 中国标准出版社, 1995
- [14] Washington State Department of Ecology Toxics Cleanup Program and the Ecology Environmental Laboratory. Analytical methods for petroleum hydrocarbon[OL]. [2012-12-10].

<http://www.ecy.wa.gov/programs/tcp/cleanup.html>

[15] 环境保护部. 环境监测·分析方法标准制修订技术导则 (HJ 168-2010)[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010

[16] 王金芳, 栾鸾, 王正全, 江树人, 潘灿平. 微液液提取或固相萃取法净化、气相色谱-质谱联用检测葡萄酒中 19 种农药多残留[J]. 分析化学, 2007(10): 1 430-1 434

The Sectional Determination of Extractable Total Petroleum Hydrocarbons in Soil by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

YANG Hui-juan^{1,2}, LIU Wu-xing^{2*}, LUO Yong-ming², HUANG Yu-juan², SUN Jian-ying^{1,2}, XU Xu-shi¹

(1 *Jiangsu Engineering and Technology Research Center for Industrialization of Microbial Resources, Jiangsu Key Laboratory for Biodiversity and Biotechnology, College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China*; 2 *Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China*)

Abstract: A testing method by using gas chromatograph-mass spectrometry has been established, which might be employed to carry out simultaneous analyses of total petroleum hydrocarbons. In addition, quality assurance and quality control (QA/QC) of the analysis method have also been performed. The range of petroleum hydrocarbons determined in the soil by this method covers the range from C8 (C7.6) to C34 (C34.01) for aliphatics (aromatics). Soxhlet extraction and column chromatography separation had been taken as the pretreatment. C8 (C7.6), C10 (C10.1), C12 (C11.7), C16 (C15.5), C21 (C20.8) and C34 (C34.01) substitute C8-C10 (C7.6-C10.1), > C10-C12 (> C10.1-C11.7), > C12-C16 (> C11.7-C15.5), > C16-C21 (> C15.5-C20.8) and > C21-C34 (> C20.8-C34.01), respectively for quantitative determination. Using the "substitute" linear relationship calculate each segment fractions' concentration, then integrate all the peak areas from C8 to C34. The results of linear relationship and precision test of aliphatic petroleum hydrocarbon in this method demonstrate the correlation coefficient (0.990 3 to 0.999 8), the method detection limits (MDLs) (0.011 to 0.373 ng/ μ l), recovery rates (50.3% to 109.3%) and relative standard deviation (1.5% to 11.3%); and those of aromatic petroleum hydrocarbon in this method are the correlation coefficient (0.991 3 to 0.997 6), the method detection limits (MDLs) (0.004 to 0.048 ng/ μ l), recovery rates (53.6% to 107.7%) and relative standard deviation (3.2% to 12.2%). The test results of the method could accurately reflect the degree of soil contamination and toxicity.

Key words: GC-MS, Petroleum contaminated soil, Extractable total petroleum hydrocarbons, Section integral