

研究简报

# 加速溶剂萃取用于贝类中多氯联苯的提取

周琳<sup>1</sup> 陈大舟<sup>2</sup> 沈燕华<sup>1</sup> 李蕾<sup>1\*</sup>

(1. 北京化工大学理学院, 北京 100029; 2. 国家标准物质研究中心, 北京 100013)

**摘要:** 针对分析贝类中痕量多氯联苯(PCBs), 采用加速溶剂萃取提取其中的 7 种 PCBs(PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB153, PCB138, PCB180), 讨论了温度和循环次数对加速溶剂萃取提取效率的影响, 并采用凝胶渗透色谱(GPC)和 Florisil 土填充的固相萃取(SPE)小柱联用净化, 去除脂肪和其他杂质, 通过 GC-ECD 分析得到回收率数据。结果表明加速溶剂萃取用于贝类中 PCBs 的提取, 最佳温度条件为 100 °C, 最佳循环次数为 2 次。采用此种前处理方法的回收率和重复性均较好, 具有良好的应用价值。

**关键词:** 加速溶剂萃取; 凝胶渗透色谱; 固相萃取; GC-ECD; 多氯联苯; 贝类

**中图分类号:** O656.31

## 引言

多氯联苯(PCBs)是环境介质中普遍存在的难降解有机污染物之一, 能在环境中稳定的存在, 并通过食物链富集, 具有致癌、致畸、致突变效应<sup>[1-3]</sup>。贝类中常含有多种 PCBs, 因此研究其中 PCBs 含量的测定方法对保障人类健康具有重要的意义。

加速溶剂萃取(Accelerated Solvent Extraction, ASE)是一种新的样品提取方法, 在高温和加压条件下用有机溶剂作为萃取介质<sup>[4]</sup>。其萃取效率与应用范围可与索氏提取相媲美, 而萃取时间和溶剂用量却大大减少。美国 EPA 已将其作为一种标准方法(标准方法编号 3545), 目前其主要用于土壤中 PCBs 的提取; 但是作为贝类中 PCBs 的提取尚鲜见报道, 为此本文研究了 ASE 在贝类中 PCBs 提取的应用, 而提取温度和循环次数是影响 ASE 提取效率的重要因素<sup>[4-7]</sup>。

本文以青岛附近海域的贻贝为样品, 由于经过提取的贝类样品还存在相当量的脂肪和其他杂质, 不能用 GC-ECD 直接分析, 所以采用凝胶渗透色谱

(GPC)去除经过提取的贝类样品中大部分脂肪及其他大分子杂质, 但 GPC 难以一次性去除所有脂肪, 所以使用 Florisil 土填充的固相萃取(SPE)小柱进一步去除剩余脂肪和其他极性的物质, 实验中通过加标方法结合 GPC 和 Florisil 柱联用净化<sup>[8-9]</sup>, 通过 GC-ECD 分析后由回收率结果对 ASE 的提取条件进行了优化。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

ASE 装置, 型号 ASE 100 (Dionex 公司); GPC 装置, 凝胶填料, Bio Beads S-X3 200-400 mesh (Bio-Rad Laboratories); 样品进样阀, 型号 7725I (Rheodyne 公司); 溶剂泵, 型号 590 (Waters Programmable HPLC Pump); 柱子, 3.0 cm × 38 cm 带可调活塞 (Sibata 公司); 紫外检测器, 型号 SPD-6AV (Shimadzu UV-VIS Spectrophotometric Detector); SPE-Florisil 柱, SYFLPR500, Florisil 500 mg 3 mL (Orochem 公司); 固相萃取装置, 型号 14602 (Lida 公司); Agilent 6890 气相色谱仪, 带 ECD 检测器和自动进样器 (Agilent 公司)。

### 1.2 试剂

PCBs 参考溶液(溶剂为异辛烷)由国家标准物质研究中心提供, PCBs 质量分数(*w*)参考值如表 1 所示。

正己烷、异辛烷、丙酮(HPLC 级, Tedia 公司);

收稿日期: 2004-12-02

基金项目: 国家科技部“十五”重点科技攻关项目(2002BA906A28-1B)

第一作者: 女, 1980 年生, 硕士生

\*通讯联系人

E-mail: lilei@mail.buct.edu.cn

表 1 PCBs 参考溶液组成及其质量分数

Table 1 Concentrations of PCBs reference solution

PCB 编号 (IUPAC)	w/ (ng/ g)	PCB 编号 (IUPAC)	w/ (ng/ g)
28	200.0	153	218.2
52	204.0	138	213.2
101	211.6	180	208.8
118	206.2		

环己烷 (HPLC 级, Riedel-de Haën 公司); 乙酸乙酯 (HPLC 级, Scharlau 公司); 硅藻土 (Fluka 公司); 定量分析内标是 PCB103, 质量分数为  $1\mu\text{g/g}$  异辛烷。

### 1.3 样品提取

ASE 提取条件为: 系统压力  $11.9\text{ MPa}$ , 温度  $100^\circ\text{C}$ , 加热时间  $5\text{ min}$ , 稳定时间  $5\text{ min}$ , 清洗体积为萃取池体积的  $60\%$ , 循环 2 次, 氮气吹扫  $90\text{ s}$ 。

称量  $1\text{ g}$  贻贝样品与  $1.5\text{ g}$  硅藻土混和均匀置于  $11\text{ mL}$  萃取池中, 用体积比为  $1:1$  的乙酸乙酯-环己烷混合溶液作为提取试剂。提取液经过旋转蒸发、氮气吹扫至  $200\mu\text{L}$ 。

### 1.4 样品净化

将上述浓缩的提取液进样至 GPC 中, 以体积比为  $1:1$  的乙酸乙酯-环己烷混和溶液作为流动相, 流速为  $3.5\text{ mL/min}$ , 收集  $22\sim 36\text{ min}$  的淋洗液。淋洗液经旋转蒸发、氮气吹扫至  $200\mu\text{L}$ 。上样到 Florisil 柱上, 用  $10\text{ mL}$  体积比为  $95:5$  的正己烷-丙酮混和溶液作为淋洗液, 以  $1\sim 2\text{ 滴/s}$  的速度淋洗小柱, 收集淋洗液氮气吹扫至  $200\mu\text{L}$ 。

### 1.5 色谱条件

毛细管柱: RTX-5MS,  $30\text{ mm}\times 0.25\text{ mm}\times 0.25\mu\text{m}$ ; 色谱柱温: 初始温度  $70^\circ\text{C}$ , 保持  $2\text{ min}$ , 以  $15^\circ\text{C/min}$  升温至  $150^\circ\text{C}$ , 然后以  $5^\circ\text{C/min}$  升温至  $250^\circ\text{C}$ , 保持  $15\text{ min}$ ; 载气为高纯氮气, 流速:  $1\text{ mL/min}$ ; 进样温度:  $230^\circ\text{C}$ ; 检测器: ECD; 检测室温度:  $280^\circ\text{C}$ ; 采用分流进样方式, 分流比为  $20:1$ , 进样量:  $1\mu\text{L}$ 。PCB103 作为内标。

### 1.6 空白实验

称量  $1.5\text{ g}$  硅藻土置于萃取池中, 经过 1.3 和 1.4 步骤, 引入 GC-ECD 中, 按照 1.5 中的条件进行分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 加速溶剂萃取条件选择

**2.1.1 温度的影响** 加入 PCBs 参考溶液的贻贝样品分别在  $50, 75, 100, 125^\circ\text{C}$  下采用 ASE 提取, 提取时采用毒性相对较小的体积比为  $1:1$  的乙酸乙酯-

环己烷混合溶液做为提取液, 在不同温度下重复 3 次实验, 回收率 ( $R$ ) 结果如图 1 所示, 由图 1 可以看出, 随着温度的升高回收率的数值也在增加, 当温度由  $50^\circ\text{C}$  升高至  $100^\circ\text{C}$  时回收率数值明显增加, 但由  $100^\circ\text{C}$  升高至  $125^\circ\text{C}$  时回收率数值已变化不大, 从而得到 ASE 提取的最佳温度为  $100^\circ\text{C}$ 。

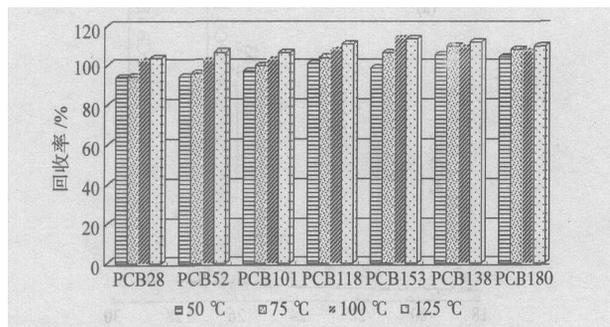


图 1 温度对 ASE 提取效率的影响

Fig. 1 Influence of temperature on extraction efficiency of ASE

**2.1.2 循环次数的影响** 由上面的实验中确定的最佳提取温度为  $100^\circ\text{C}$ , 在此提取温度下讨论循环次数对 ASE 提取效率的影响。加入 PCBs 参考溶液的贻贝样品采用 ASE 提取, 循环次数分别为 1, 2, 3 次, 在不同循环次数下重复 3 次实验, 回收率结果如图 2 所示, 由图 2 以看出 PCB28, PCB52, PCB101 在循环 1 次时的回收率只有  $95\%$  左右, 当循环次数为 2 次和 3 次时 7 种 PCBs 的回收率均在  $100\% \sim 115\%$  范围内, 因此在将待测的 PCBs 有效提取出来的前提下, 为了节省溶剂将 ASE 提取的循环次数定为 2 次。

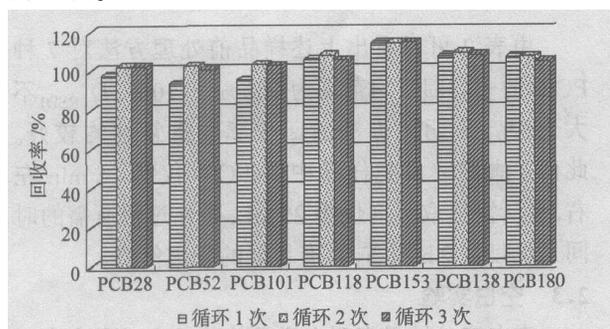


图 2 循环次数对 ASE 提取效率的影响

Fig. 2 Influence of cycle times on extraction efficiency of ASE

综上所述, 选择的 ASE 提取条件为: 系统压力  $11.9\text{ MPa}$ , 温度  $100^\circ\text{C}$ , 加热时间  $5\text{ min}$ , 稳定时间  $5\text{ min}$ , 清洗体积为萃取池体积的  $60\%$ , 循环 2 次, 氮

气吹扫 90 s。

## 2.2 回收率实验结果

加入 PCBs 参考溶液的贻贝样品采用 ASE 提取,提取条件是上述确定的最佳提取条件,提取后采用 GPC 和 Florisil 柱联用净化,净化后所得样品和

未经过处理的参考溶液中均加入 PCB103 做内标,引入 GC-ECD 中,按照 1.5 中的条件进行分析,内标法计算得到回收率数据,所得色谱图如图 3 所示,相应的回收率结果列于表 2。同时表 2 中还列出了方法的检测限及相对标准偏差 ( $D_{(RSD)}$ )。

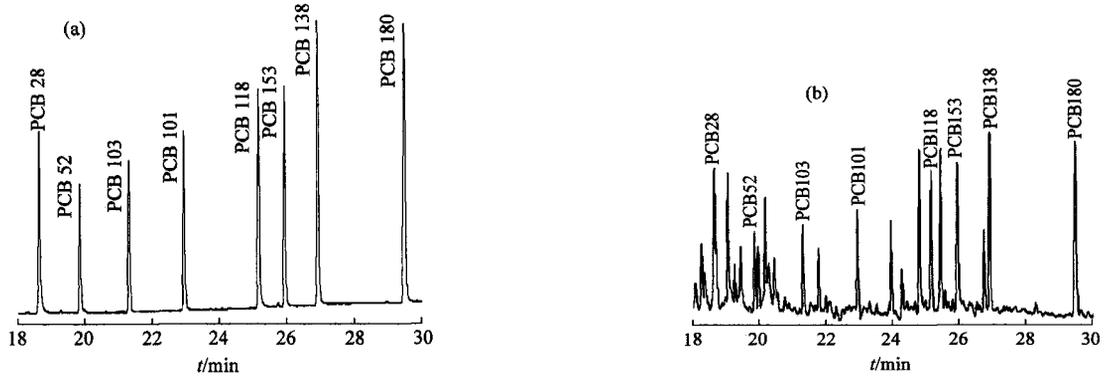


图 3 PCBs 参考溶液色谱图(a)和贻贝中 PCBs 色谱图(b)

Fig. 3 Chromatogram of PCBs reference solution (a) and of PCBs in mussel sample (b)

表 2 前处理回收率结果

Table 2 Recovery results of pretreatment

PCB 编号 (IUPAC)	检测限量 /(ng/g)	R/ %				R/ %	$D_{(RSD)}$ / %
		1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>		
28	0.7	93.4	109.5	106.9	100.0	102.5	7.1
52	0.9	96.4	108.9	103.7	101.8	102.7	5.0
101	0.8	97.1	110.9	106.0	99.1	103.3	6.2
118	0.7	100.5	114.5	111.6	105.2	108.0	5.8
153	0.7	119.8	113.4	111.7	111.8	114.2	3.4
138	0.5	98.6	104.6	118.4	114.9	109.1	8.4
180	0.5	101.7	113.3	111.2	102.8	107.3	5.5

由表 2 可以看出上述样品前处理方法对 7 种 PCBs 的平均回收率范围为 102% ~ 110%,  $D_{(RSD)}$  不大于 9%, 表明此方法的回收率和重复性均较好。此种方法提取贝类样品中的 PCBs 仅需 25 min 左右,且所需提取溶剂仅需 25 mL,净化过程所需的时间是也仅需 2 h 左右,具有良好的应用价值。

## 2.3 空白实验

空白实验结果表明在样品的前处理过程中未引入干扰物质。

## 2.4 实际样品的测量

以国家海洋环境监测中心提供的牡蛎和贻贝样品为分析对象,在上述实验的基础上,以优化的 ASE 提取条件下提取样品,并经过 GPC 和 Florisil 柱联用净化,引入 GC-ECD 进行检测,对 7 种 PCBs

进行了定量分析,结果只检测出 PCB138,其结果如表 3 所示,其他 6 种 PCBs 低于此方法的检测限,未检出。

表 3 贝类中 7 种 PCBs 定量分析结果

Table 3 Quantitative analysis results of seven PCBs in shellfish

PCB 编号 (IUPAC)	w(牡蛎)/(ng/g)	w(贻贝)/(ng/g)
28	nd	nd
52	nd	nd
101	nd	nd
118	nd	nd
153	nd	nd
138	0.92	0.41
180	nd	nd

注:“nd”表示未检出。

### 3 结论

1) 通过实验可知 ASE 是一种用于贝类样品提取的有效方法,其最佳提取温度为 100 ,最佳的循环次数为 2 次。

2) 在优化的 ASE 提取条件下提取贝类样品,结合 GPC 和 Florisil 柱联用净化,采用 GC-ECD 测定贝类中的 PCBs,方法的回收率和重复性均较好,具有良好的应用价值。

### 参 考 文 献

- [1] 周传光,徐恒振,马永安,等. GC-ECD 测定环境样品中的 PCBs[J]. 海洋环境科学,2000,19(4):57-61
- [2] 黄业茹,施钧慧,唐莉. GC/MS 分析环境样品中的多氯联苯(PCBs)[J]. 分析测试技术与仪器,2000,6(4):216-224
- [3] 周传光,徐恒振,马永安,等. 毛细管 GC-ECD 测定环境样品中的 PCBs[J]. 海洋环境科学,2000,19(4):57-61
- [4] Abhra Y, Raghavan D. Polychlorinated biphenyl(PCB) recovery from spiked organic matrix using accelerated solvent extraction(ASE) and Soxhlet extraction[J]. Journal of Hazardous Materials, 2000, 80: 147-157
- [5] Müller A, Björklund E, Holst C. On-line clean-up of pressurized liquid extracts for the determination of polychlorinated biphenyls in feedingstuffs and food matrices using gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 925:197-205
- [6] Björklund E, Bøøwadt S, Nilsson T, *et al.* Pressurized fluid extraction of polychlorinated biphenyls in solid environmental samples[J]. Journal of Chromatography A, 1999, 836: 285-293
- [7] Schantz M, Nichols J, Wise S. Evaluation of pressurized fluid extraction for the extraction of environmental matrix reference materials[J]. Anal Chem, 1997, 69: 4210-4219
- [8] Pirard C. An improved clean-up strategy for simultaneous analysis of polychlorinated dibenzop-dioxins(PCDD), polychlorinated dibenzofurans(PCDF), and polychlorinated biphenyls(PCB) in fatty food samples[J]. Anal Bioanal Chem, 2002, 372: 373-381
- [9] Khaled A, Nemr A, Said T, *et al.* Polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides in mussels from the Egyptian Red Sea coast[J]. Chemosphere, 2004, 54: 1407-1412

## Extraction of PCBs in shellfish by accelerated solvent extraction

ZHOU Lin<sup>1</sup> CHEN Da-zhou<sup>2</sup> SHEN Yan-hua<sup>1</sup> LI Lei<sup>1</sup>

(1. College of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029;

2. National Research Center For CRM 'S, Beijing 100013, China)

**Abstract:** In order to determine trace polychlorinated biphenyls(PCBs) in shellfish, accelerated solvent extraction(ASE) was used to extract seven PCBs(PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB153, PCB138, PCB180) in shellfish. The influence of the extraction temperature and the cycle times on the extraction efficiency of ASE were studied. And the co-cleanup of GPC and SPE(Florisil column) was used to eliminate the fat and other impurities. Finally, GC-ECD was used to get the recovery rate of the sample. The results indicated that the optimum extraction temperature is 100 and the optimum cycle times is 2. The recovery rate is higher and its repetition is better by using ASE for pretreatment of shellfish, and it is worthy of using.

**Key words:** accelerated solvent extraction; GPC; SPE; GC-ECD; polychlorinated biphenyls; shellfish

(责任编辑 曾宪玉)