

《肥料中多环芳烃的测定 气相色谱-质谱法》

编制说明

一、任务来源

本标准是根据国标委综合【2013】90号《国家标准委关于下达2013年第二批国家标准制修订计划的通知》，由上海出入境检验检疫局工业品与原材料检测技术中心负责组织起草工作，国家化肥质量监督检验中心(上海)、上海交通大学等单位参加。项目名称为《肥料中多环芳烃的测定 气相色谱-质谱法》的国家标准，计划编号为20131359-T-606。本标准为第一次制定。

二、标准编制的背景和意义

多环芳烃类是一大类广泛存在于环境中的持久性有机污染物(POPs)，也是最早被发现和研究的化学致癌物，由于多环芳烃的毒性、生物蓄积性和半挥发性，对人类健康危害极大。美国EPA已将萘、蒽、苊、芘、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、屈、苯并[b]荧蒽、苯并[k]蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,h]蒽、苯并[g,h,i]花和茚并[1,2,3,-cd]芘16种多环芳烃列入优先污染物名单。

肥料是重要的农用物资，对提高作物产量具有重要的作用，近年来，随着全球经济的高速发展、人口膨胀和人类生活水平的提高，人们对农产品的需求量不断增加，这要求农业生产高度现代化和集约化，致使农业生产中大量使用各种有机和无机肥料。然而，肥料来源十分广泛，相当一部分存在着不可忽视的安全问题，MO et al (2008)在我国21种肥料中分别检测出了2-15种有机污染物，绝大部分肥料检出5种以上有机污染物，其中包膜尿素、磷铵、复合肥、蓝宝复肥和芭田金复肥检出10种以上有机污染物，约一半的肥料中检出1种以上多环芳烃类化合物，其中包膜尿素、蓝宝复肥、芭田金复肥和肥宝宝中检出5~8种多环芳烃类化合物，主要是3环以上的化合物。肥料中的这些PAHs施入土壤后，存在着降低土壤肥力和被农作物吸收而污染农产品的极大风险。

我国肥料行业相关的标准中以产品标准较多，而涉及肥料中有机污染物检测的标准严重缺乏。目前我国出台的PAHs检测标准大多涉及水体、土壤和固体废物中PAHs检测方法标准，尚无肥料中PAHs的检测方法标准。因此建立肥

料中多环芳烃检测方法标准是对现有的国标方法体系的重要补充，有利于提高我国国标方法的技术先进水平，同时，为肥料的安全使用以及有害因子限量设置和监管提供强有力的技术支撑和科学依据。

三、国内外相关分析方法的研究

目前，国内外 PAHs 的监测技术应用最广的分析方法是色谱法。其中，GC、GC-MS 和 HPLC 是检测 PAHs 最常用的方法。HPLC 分析多环芳烃类主要使用紫外检测器、荧光检测器或二极管阵列检测器，随着串接液相色谱质谱的发展，复杂样品中多环芳烃类物质也有用串接液相质谱检测的，其技术优势是不需要高温汽化，化合物在进样口不会被分解破坏，特别是四环以上多环芳烃化合物在荧光检测器上有很灵敏的反应，检出限可达 ppt 级；缺点是干扰存在时定性不准确。GC 具有高选择性、高分辨率和高灵敏度的特性，而且由于多环芳烃的热稳定性，用质谱(如 EI 源)作为检测器时，能够得到大的分子离子峰和很少的碎片离子，所以用 GC-MS 测定时能够得到很高的灵敏度，与 GC 相比，GC-MS 在定性方面更准确，可以在不能完全将干扰物分离的情况下仍可以准确定量，扫描可以用全扫描和选择离子两种方式，抗干扰较强；GC/MS 在同时分析多组份多环芳烃方面定性准确度具有明显优势，已经成为一种重要的检测手段。

四、标准制定的基本原则和主要工作过程

(一) 基本原则

1. 方法的检出限和测定范围满足相关标准和检测工作的要求；
2. 方法准确可靠，满足各项方法特性指标的要求；
3. 方法具有普遍适用性，易于推广使用。

(二) 标准的适用范围和主要技术内容

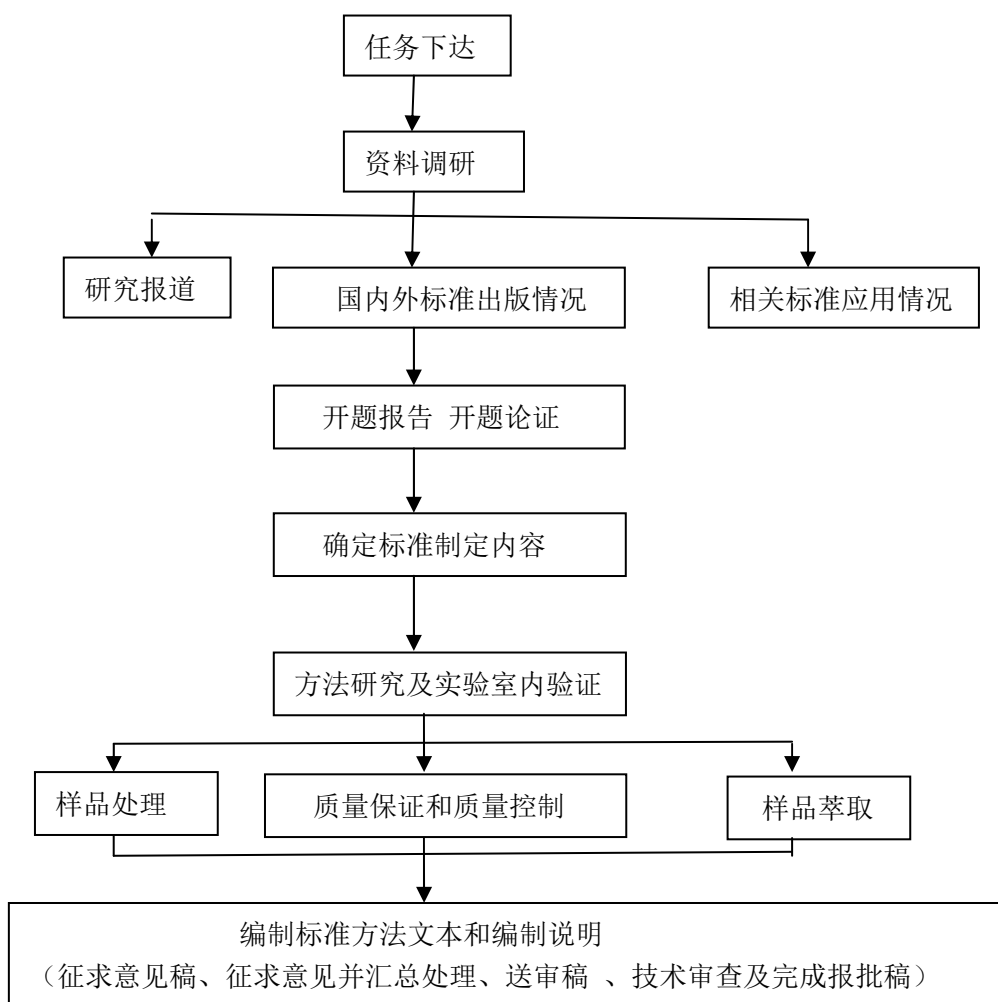
1. 标准的适用范围

本标准适用于肥料中 PAHs 的测定，目标化合物选择目前国内外普遍关注 16 种 PAHs，均属于环境优控污染物。包括：萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、屈、苯并[b]荧蒽、苯并[k]蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,h]蒽、苯并[g,h,i]花和茚并[1,2,3,-cd]芘。

2. 标准的主要技术内容

本标准基于 GC-MS 分析的技术路线，侧重净化方法的研究、仪器分析条件的建立以及质量保证和质量控制，同时兼顾便捷、准确的可操作性

（三）主要工作过程



五、方法研究报告

5.1 方法研究目标

1. 研究一种适合定性、定量检测肥料中 16 种 PAHs 的气相色谱-质谱法。
2. 编制易于实行的标准方法文本。
3. 进行方法验证，得到方法的检出限、测定下限、精密度和准确度等性能参数。

5.2 仪器检测参考条件及其优化

5.2.1 GC-MS参考条件

由于测试结果取决于所使用仪器，因此不可能给出气相色谱-质谱联用仪的通用参数。设定的参数应保证色谱测定时被测组分与其他组分能够得到有效的分离，下列给出的参数经实验证明是可行的：

- a) 色谱柱：(5%-苯基)-甲基聚硅氧烷，DB-5ms毛细管柱 30.0 m×0.25 mm(I.D.)×0.25 μm ，或相当者；
- b) 色谱柱程序升温条件：初始柱温50 $^{\circ}\text{C}$ ，保持1 min，以20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至200 $^{\circ}\text{C}$ ，再以5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至315 $^{\circ}\text{C}$ 保留5 min；
- c) 进样口温度：300 $^{\circ}\text{C}$ ；
- d) 载气：氦气，纯度 $\geq 99.999\%$ ；流速：1.5 mL/min；
- e) 进样模式：脉冲无分流进样，1 min后开阀；
- f) 进样量：1 μL 。

质谱条件：

- a) 电子轰击电离源 (EI)，电子能量：70 eV；
- b) 离子源温度：300 $^{\circ}\text{C}$ ，四极杆温度：150 $^{\circ}\text{C}$ ；接口温度：300 $^{\circ}\text{C}$ ；
- c) 溶剂延迟时间：3.00 min；
- d) 质量扫描方式（全扫描模式），SCAN扫描范围 (m/z)：30~450；

质量扫描方式 (SIM 扫描模式)，SIM 监测离子 (m/z)、定量离子 (m/z)，见表 1。

5.2.2 色谱条件的优化

(1) 脉冲不分流进样：对于痕量分析，可以实现较大体积的进样，峰型更加尖锐。

(2) 超高惰性不分流衬管：不分流衬管较一般的不分流衬管或分流/不分流衬管，可以减少多环芳烃的吸附，提高灵敏度。

(3) 离子源温度的选择：提高离子源温度可以提高灵敏度，特别是高温区物质的灵敏度。对于新型离子源最高可以使用到 350 $^{\circ}\text{C}$ ，但在 325 $^{\circ}\text{C}$ 以上灵敏度提高不大，考虑使用寿命和灵敏度选择 300 $^{\circ}\text{C}$ 。

5.2.3 线性范围试验

5.2.3.1 仪器检测条件

采用 5.2.1 的色谱条件，全扫描离子范围： $m/z = 30 \sim 450$ ；选择离子检测模式（SIM），定量离子和参考离子见表 1。

表 1 16 种 PAHs 和 2 种内标的特征离子

序号	名称	CAS	定量离子	定性离子
1	萘	91-20-3	128	127、128、129
2	蒽烯	208-96-8	152	151、152、153
3	蒽-D10（内标）	15067-26-2	162	164、162、160
4	蒽	83-32-9	153	152、152、154
5	芴	86-73-7	165	165、166、167
6	菲	85-01-8	178	176、178、179
7	蒽	120-12-7	178	176、178、179
8	荧蒽	206-44-0	202	101、202、203
9	芘	129-00-0	202	101、202、203
10	苯并[a]蒽	56-55-3	228	226、228、229
11	屈	218-01-9	228	226、228、229
12	苯并[b]荧蒽	205-99-2	252	126、252、253
13	苯并[k]荧蒽	207-08-9	252	126、252、253
14	苯并[a]芘	50-32-8	252	126、252、253
15	芘-D12（内标）	1520-96-3	264	260、264、265
16	茚并[1,2,3-cd]芘	193-39-5	276	138、227、276
17	二苯并[a,h]蒽	53-70-3	278	139、278、279
18	苯并[g,h,i]芘	191-24-2	276	138、276、277

5.2.3.2 线性范围

选取浓度为 0.1mg/L，1mg/L，5mg/L，10mg/L，20mg/L，30mg/L 的 16 种混合多环芳烃标准品，按照 5.2.1 的方法进行 GC-MS 检测。结果表明，在本实验条件下，16 种 PAHs 彼此之间均具有很好的分离度。依据在相同的色谱条件下相同物质一定具有相同保留时间的色谱原理，采用表 1 中 PAHs 各组分对应

的特征离子，列出 16 种多环芳烃的总离子色谱图及其定性结果（图 1）。以峰面积定量，进行线性回归结果表明，标准曲线的相关系数均大于 0.9960，表明在 0.1~30 mg/L 浓度范围内，PAHs 溶液浓度与响应值有良好的线性关系（表 2）。

表 2 16 种 PAHs 标准溶液线性回归方程

化合物名称	环数	编号	线性回归方程	R ²
萘	2	NAP	$Y = 2.711 \times 10^5 X + 1.074 \times 10^4$	0.997415
苊烯	3	ACY	$Y = 2.961 \times 10^5 X - 1.516 \times 10^4$	0.997164
苊	3	ANA	$Y = 1.907 \times 10^5 X + 2.718 \times 10^4$	0.996431
芴	3	FLU	$Y = 2.172 \times 10^5 X - 1.187 \times 10^3$	0.997101
菲	3	PHE	$Y = 6.431 \times 10^5 X - 8.493 \times 10^4$	0.997511
蒽	3	ANT	$Y = 6.440 \times 10^5 X - 8.419 \times 10^4$	0.997526
荧蒽	4	FLT	$Y = 3.753 \times 10^5 X - 7.355 \times 10^4$	0.997660
芘	4	PYR	$Y = 3.860 \times 10^5 X - 5.867 \times 10^4$	0.997623
苯并[a]蒽	4	BaR	$Y = 7.093 \times 10^5 X - 2.836 \times 10^5$	0.997691
屈	4	CHR	$Y = 7.121 \times 10^5 X - 2.797 \times 10^5$	0.997715
苯并[b]荧蒽	5	BbF	$Y = 7.907 \times 10^5 X - 3.485 \times 10^5$	0.997673
苯并[k]荧蒽	5	BkF	$Y = 7.948 \times 10^5 X - 3.416 \times 10^5$	0.997713
苯并[a]芘	5	BaP	$Y = 3.778 \times 10^5 X - 2.005 \times 10^5$	0.997625
茚并[1,2,3-cd]芘	5	IPY	$Y = 4.590 \times 10^5 X - 3.268 \times 10^5$	0.996690
二苯并[a,h]蒽	6	DBA	$Y = 3.758 \times 10^5 X - 2.619 \times 10^5$	0.996902
苯并[g,h,i]花	6	BPE	$Y = 3.951 \times 10^5 X - 1.514 \times 10^5$	0.997900

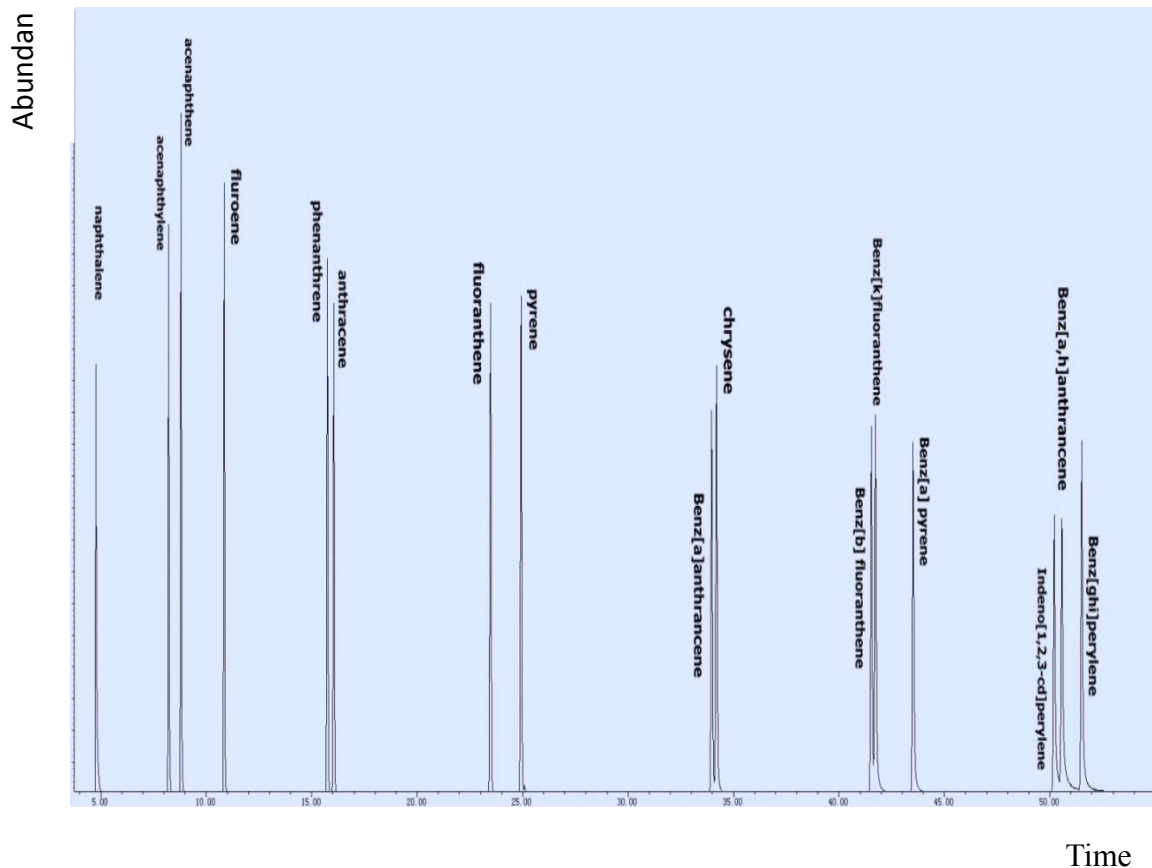


图 1 16 种 PAHs 标准溶液的 GC-MS 总离子流色谱图

5.3 样品前处理

经查阅资料和实验研究，并考虑中国国情，本方法采用加速溶剂和超声萃取两种前处理方式。两种方法均在单因素试验的基础上，采用响应面分析法来优化确定样品前处理方法。

5.3.1 萃取溶剂的选择

参考 Fabbri (2012) 和 Hilber (2012)，选择甲醇-正己烷、二氯甲烷、丙酮-正己烷、二氯甲烷-丙酮、甲醇-环己烷、丙酮-环己烷、正己烷、正己烷-丙酮-甲苯、甲苯、甲醇-甲苯、环己烷、甲醇-二氯甲烷 12 种不同溶剂，50℃，超声 30min，研究不同溶剂对肥料样品中多环芳烃提取效果的影响。结果表明，溶剂对提取效果具有显著的影响，12 种溶剂对 PAHs 的回收率为 123.61~10.86%，其中，丙酮-环己烷 (1:1) 对 PAHs 总提取效率优于其它溶剂。

表 3 溶剂对肥料中多环芳烃提取效果的影响

	MeOH/Hex	DCM	Ac/Hex	DCM/Ac	MeOH/Chex	Ac/Chex	Hex	Hex/Ac/Tol	Tol	MeOH/Tol	Chex	MeOH/DCM
NAP	67.40±2.25	106.84±5.41	85.65±5.38	97.02±7.97	66.96±3.01	81.82±5.68	47.68±2.07	90.89±6.81	98.03±8.61	103.11±8.55	31.46±0.99	123.61±8.61
ACY	60.93±1.55	79.81±2.44	66.35±2.12	76.82±2.29	60.67±1.02	81.77±5.68	66.82±1.01	67.99±1.27	68.40±1.50	66.60±1.21	65.52±0.96	69.38±1.21
ANA	65.01±1.32	90.52±3.92	73.22±2.23	80.71±3.16	72.91±2.10	82.38±5.72	60.48±0.77	70.44±1.94	72.78±2.48	72.60±2.30	55.75±0.48	85.64±2.94
FLU	36.23±1.07	85.20±4.09	58.96±3.55	67.40±3.78	65.73±4.10	80.78±5.61	34.93±2.48	57.46±4.33	58.08±4.19	53.03±2.24	29.64±2.47	77.14±6.24
PHE	13.40±1.01	41.69±2.73	44.49±2.18	42.75±1.78	31.32±2.03	33.99±2.36	15.38±1.09	17.86±1.09	14.36±0.62	34.95±1.70	36.07±1.99	19.01±1.53
ANT	28.81±1.43	116.64±10.02	27.96±1.46	114.43±5.85	31.73±1.21	42.13±2.93	31.41±1.40	33.52±1.98	35.49±2.49	29.92±1.75	28.46±1.40	33.94±1.75
FLT	13.91±1.03	10.70±0.82	33.91±1.57	10.60±0.67	66.74±3.52	67.10±4.66	17.72±1.09	58.00±4.09	54.89±2.77	99.06±5.47	12.49±0.57	47.14±3.75
PYR	11.40±0.82	27.63±2.12	39.95±2.50	12.76±1.64	37.79±2.20	74.46±5.17	18.04±1.34	37.53±1.80	10.04±0.90	71.94±4.78	75.22±3.89	23.17±1.93
BaR	20.36±1.74	39.04±2.86	34.09±2.39	36.24±2.95	19.54±1.62	46.48±3.23	23.58±1.39	32.31±2.15	37.65±2.50	26.86±1.94	19.25±3.64	36.92±2.83
CHR	19.99±1.28	17.92±0.90	17.60±1.09	32.52±2.68	17.56±1.26	42.30±2.94	22.21±1.37	32.02±1.23	40.94±2.99	17.55±1.09	18.92±0.71	17.65±1.31
BbF	15.70±0.98	22.06±0.61	28.50±1.20	25.00±2.05	20.96±0.69	36.21±2.52	21.97±0.60	28.68±1.93	32.30±2.32	20.40±1.49	24.74±1.30	28.43±1.93
BkF	42.82±2.91	12.85±1.22	43.09±2.25	42.86±3.50	42.94±2.80	43.10±2.99	45.16±3.46	42.82±2.17	52.16±2.82	44.97±3.68	44.59±3.07	42.90±3.61
BaP	11.40±0.85	11.57±0.65	11.48±0.25	11.44±1.08	19.54±0.99	12.53±0.87	17.38±1.54	11.37±0.18	42.87±3.44	11.35±1.05	11.69±0.88	30.08±1.03
IPY	40.81±2.49	10.86±0.72	47.61±2.69	40.60±2.44	40.72±2.63	61.18±4.25	46.01±2.86	50.78±3.90	41.20±3.00	47.09±3.07	40.99±3.52	41.40±3.03
DBA	85.19±4.84	48.08±2.67	80.80±3.97	84.97±5.85	84.10±5.82	80.19±5.57	82.99±6.59	84.33±5.23	95.28±5.51	83.91±5.68	79.90±6.37	88.47±6.58
BPE	27.64±1.20	19.87±1.01	10.93±1.09	24.47±1.02	24.01±1.81	59.87±4.16	11.69±0.81	21.31±1.95	18.56±1.04	35.98±2.23	17.75±1.09	51.13±2.52

注：MeOH/Hex=甲醇：正己烷=6:1，DCM=二氯甲烷，Ac/Hex=丙酮：正己烷=1:1，DCM/Ac=二氯甲烷：丙酮=1:1，MeOH/Chex=甲醇：环己烷=1:6，Ac/Chex=丙酮：环己烷=1:1，Hex =正己烷，Hex/Ac/Tol=正己烷：丙酮：甲苯=10:5:1，Tol=甲苯，MeOH/Tol=甲醇：甲苯=6:1，Chex=环己烷，MeOH/DCM=甲醇：二氯甲烷=1:6

MeOH/Hex = methanol/ hexane;1:6;v/v,DCM= dichloromethane 100%,Ac/Hex= acetone/ hexane; 1:1; v/v, DCM/Ac= dichloromethane/ acetone; 1:1; v/v,MeOH/Chex=methanol/cyclohexane; 1:6; v/v, Ac/Chex= acetone/cyclohexane; 1:1; v/v, Hex = hexane100%,Hex/Ac/Tol= hexane/ acetone/ toluene;10:5:1, v/v/v,Tol= toluene100%;MeOH/Tol= methanol/ toluene;6:1; v/v,Chex= cyclohexane100%;MeOH/DCM= methanol/ dichloromethane; 1:6;v/v

5.3.2 加速溶剂萃取 (ASE) 方法

5.3.2.1 提取温度的选择

采用 Dionex ASE 300 加速溶剂萃取仪, 分别设定提取次数为 2 次, 提取时间为 10min, 提取温度为 50℃、80℃、100℃和 150℃, 研究加速溶剂萃取中提取温度对肥料中多环芳烃提取效果的影响。结果表明, 50℃的提取效果好于其他 4 种萃取温度, 可能是由于该温度低于提取溶剂的沸点, 溶剂性质稳定, 有利于加速溶剂萃取 (表 4 和图 6)

表 4 ASE 提取温度对肥料中多环芳烃提取效果的影响

PAHs	50℃	80℃	100℃	120℃	150℃
NAP	82.67±5.95	82.88±3.95	82.84±3.37	74.61±5.02	76.50±5.19
ACY	90.52±6.80	89.37±4.81	89.07±4.93	80.84±5.44	77.96±5.33
ANA	86.90±6.41	89.09±5.77	87.34±4.77	79.11±5.32	80.78±6.60
FLU	89.65±6.71	89.68±4.85	82.42±4.34	74.20±4.99	81.98±4.71
PHE	58.43±3.33	55.02±2.27	47.52±1.23	46.80±3.15	52.26±2.91
ANT	60.13±3.51	53.25±2.03	51.75±2.61	51.02±3.43	52.23±3.91
FLT	80.58±5.72	85.18±4.25	76.79±2.84	68.57±4.61	80.45±5.56
PYR	78.89±5.54	82.01±4.83	82.01±4.30	73.78±4.96	80.97±4.61
BaR	57.63±3.24	56.26±2.43	48.76±2.34	48.04±3.23	48.04±2.52
CHR	76.10±5.24	66.49±2.78	64.90±3.78	56.68±3.81	72.01±3.77
BbF	54.73±2.93	51.92±2.86	50.98±3.54	50.26±3.38	45.12±2.24
BkF	57.24±3.20	57.71±2.62	57.00±3.07	48.77±3.28	49.00±2.61
BaP	82.97±5.98	89.48±4.82	88.89±4.91	80.67±5.43	79.67±3.49
IPY	72.73±4.87	61.61±4.14	76.58±4.82	68.35±4.60	77.64±3.30
DBA	81.68±5.84	74.80±3.88	80.82±3.19	72.59±4.88	78.21±4.35
BPE	74.06±5.02	81.86±5.81	79.78±4.10	71.55±4.81	61.21±3.75
平均	75.58	74.83	74.25	67.37	69.69

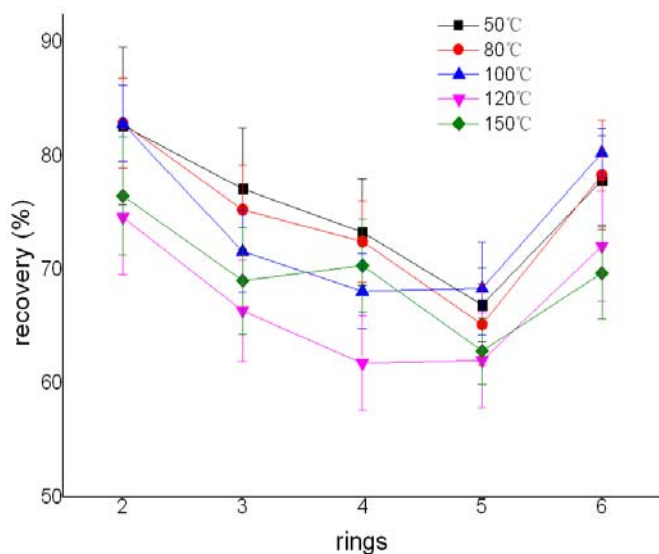


图 6 ASE 提取温度对肥料中不同环数多环芳烃提取效果的影响

5.3.2.2 提取时间的选择

固定提取次数为 1 次、温度为 50℃ 条件下，设定提取时间为 5min、10min、15min、20min 和 25min，研究加速溶剂萃取中提取时间对肥料中多环芳烃提取效果的影响。结果表明，15min 的提取效果好于其他 4 种提取时间（图 7），平均回收率为 83.1%（表 5）。提取时间对 PAHs 提取效果的影响与 PAHs 的挥发性有关，挥发性强的 PAHs，长时间萃取，可造成回收率下降。

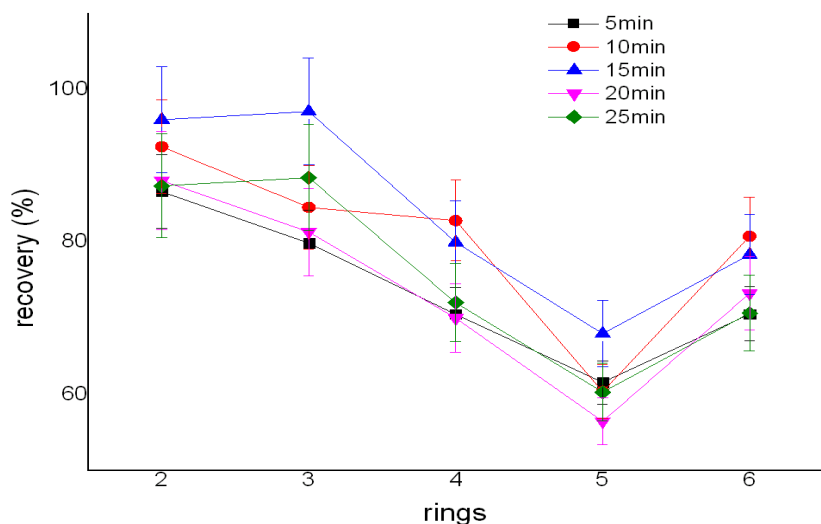


图 7 ASE 提取时间对肥料中不同环数多环芳烃提取效果的影响

表 5 ASE 提取时间对肥料中 16 种 PAHs 提取效果的影响

PAHs	5min	10min	15min	20min	25min
NAP	86.56±4.82	92.47±6.14	96.01±6.92	88.02±6.44	87.34±6.83
ACY	89.44±5.04	98.86±6.71	106.69±7.91	90.90±6.75	98.02±8.03
ANA	91.37±5.20	94.24±6.30	108.6±8.09	92.82±6.95	99.95±8.25
FLU	104.82±6.26	97.48±6.59	122.06±9.34	106.28±8.39	113.40±9.76
PHE	65.99±3.20	66.61±3.87	83.24±5.73	67.45±4.23	74.57±5.39
ANT	47.55±1.74	65.38±3.76	64.79±4.02	49.00±2.25	56.13±3.32
FLT	78.31±4.17	93.27±6.22	87.76±6.15	79.77±5.55	79.09±5.90
PYR	82.32±4.48	90.92±6.01	91.77±6.53	83.78±5.98	84.11±6.46
BaR	55.11±2.34	63.51±3.59	56.76±3.27	48.77±2.23	49.09±2.52
CHR	66.21±3.22	83.42±5.35	83.46±5.75	67.67±4.26	75.80±5.53
BbF	61.49±2.84	57.92±3.10	63.13±3.87	55.15±2.91	55.47±3.24
BkF	52.92±2.17	23.91±1.11	57.92±3.38	51.46±2.52	50.26±2.66
BaP	68.12±3.37	84.56±5.45	69.76±4.48	53.98±2.79	62.10±3.99
IPY	63.80±3.03	75.01±4.61	81.05±5.53	65.26±4.00	73.39±5.26
DBA	78.29±4.17	83.40±5.35	87.73±6.15	79.75±5.55	80.07±6.01
BPE	62.78±2.94	78.07±4.88	68.93±4.40	66.78±4.16	61.27±3.89
平均	73.8	80.17	83.86	73.81	75.75

5.3.2.3 提取次数的选择

根据表 5 和表 6，在萃取温度 50℃、时间 10min 条件下，分别设定 1、2、3、4、5 个不同萃取次数，研究加速溶剂萃取中提取次数对肥料中 PAHs 提取效果的影响。结果表明，提取次数达到 4 次以上，ASE 的萃取效果显著下降（图 8），其中提取 4 次和 5 次对肥料中 16 种 PAHs 的平均回收率仅为 33.4 和 21.2%。而提

取 1-3 次的平均回收率分别为 78.06、74.06 和 65.02%（表 6）。方法选择提取 1 次。

表 6 ASE 提取次数对肥料中 16 种 PAHs 提取效果的影响

PAHs	1 次	2 次	3 次	4 次	5 次
NAP	92.47±6.14	82.67±5.95	62.08±2.90	56.38±3.61	49.20±3.56
ACY	98.86±6.71	90.52±6.80	65.81±3.25	24.39±1.56	24.44±1.77
ANA	94.24±6.30	86.90±6.41	60.54±2.75	45.22±2.89	36.29±2.62
FLU	97.48±6.59	89.65±6.71	66.65±3.33	51.25±3.28	41.94±3.03
PHE	66.61±3.87	58.43±3.33	66.84±3.35	31.35±2.00	18.25±1.32
ANT	65.38±3.76	60.13±3.51	68.92±3.55	33.34±2.13	17.39±1.26
FLT	93.27±6.22	80.58±5.72	66.18±3.29	40.99±2.62	15.29±1.11
PYR	90.92±6.01	78.89±5.54	61.18±2.81	26.89±1.72	4.42±0.32
BaR	63.51±3.59	57.63±3.24	68.42±3.50	16.91±1.08	8.67±0.63
CHR	83.42±5.35	76.10±5.24	63.48±3.03	23.73±1.52	19.99±1.45
BbF	57.92±3.10	54.73±2.93	43.14±1.10	16.20±1.04	6.38±0.46
BkF	23.91±1.11	57.24±3.20	87.86±5.35	18.19±1.16	7.50±0.54
BaP	84.56±5.45	82.97±5.98	63.42±3.03	48.84±3.12	21.47±1.55
IPY	75.01±4.61	72.73±4.87	58.88±2.59	31.33±2.00	28.67±2.07
DBA	83.40±5.35	81.68±5.84	71.88±3.83	36.55±2.34	17.90±1.29
BPE	78.07±4.88	74.06±5.02	65.02±3.18	33.44±2.14	21.19±1.53
平均	66.98	63.31	54.57	31.38	21.58

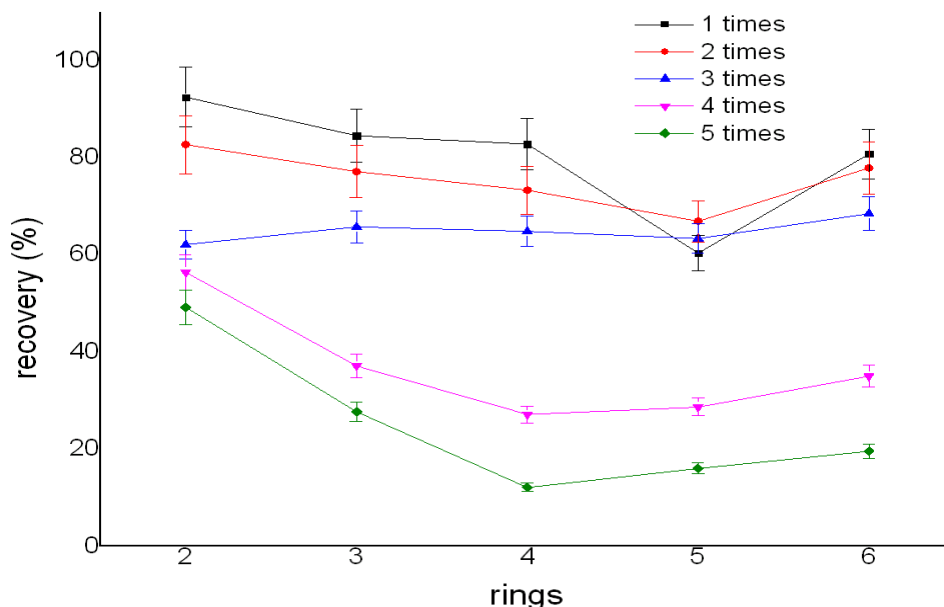


图 8 ASE 提取次数对肥料中 PAHs 提取效果的影响

5.3.2.4 ASE 萃取条件响应面法优化

响应面分析法 (Response Surface Methodology, RSM) ,是一种将数学与统计学相结合的优化方法。根据以上单因素试验结果,以多元回归方法作为函数估计的工具,对提取温度、提取时间和提取次数与回收率响应值之间的函数关系进行拟合,得到如下方程

$$Y = -28.43238 + 0.50990X_1 + 2.06739X_2 + 7.20641X_3 - 1.73333 \times 10^{-3}X_1 \cdot X_2 - 0.038167 \cdot X_2 \cdot X_3 - 0.017 \cdot X_1 X_3 - 2.495 \times 10^{-3}X_1^2 - 0.077658 \cdot X_2^2 - 0.90962X_3^2$$

依此对函数的响应面和等高线进行最佳提取条件分析。结果表明,当提取温度为 75℃,提取时间为 13min,提取次数为 1 次的时候,获得较优的回收率为 89.3%,通过实际试验验证获得的回收率为 87.9%。

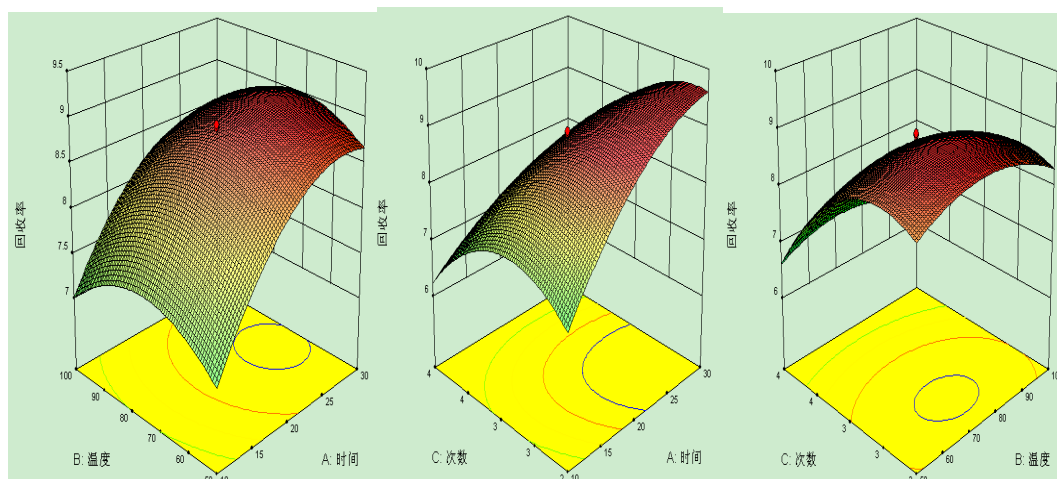


图9 ASE 萃取条件优化响应面图

表7 最优化条件下 ASE 对肥料中 PAHs 的回收率

序号	化合物名称	回收率 (%)
1	NAP	97.69±5.07
2	ACY	98.45±6.63
3	ANA	99.57±4.22
4	FLU	102.99±6.51
5	PHE	85.37±3.82
6	ANT	79.08±3.71
7	FLT	98.54±6.14
8	PYR	96.06±5.93
9	BaR	71.10±3.55
10	CHR	88.14±5.28
11	BbF	71.19±3.06
12	BkF	70.26±1.10
13	BaP	90.34±5.38
14	IPY	85.25±4.55
15	DBA	89.12±5.28
16	BPE	83.48±4.82

5.3.3 超声萃取方法

5.3.3.1 超声时间的选择

设定超声仪的温度为 30℃，超声时间分别设为 10min、20min、30min、60min、120min，研究不同的超声时间对肥料中多环芳烃提取效果的影响。

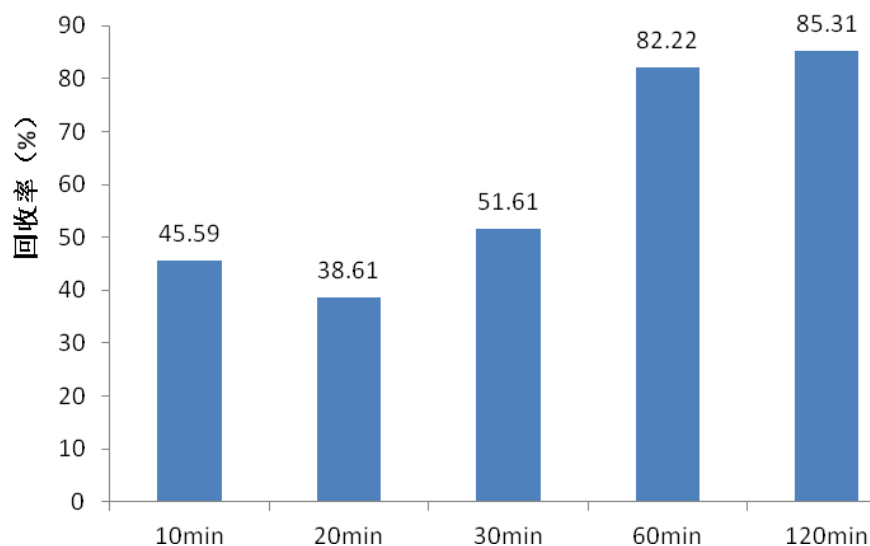


图 10 超声时间对肥料中 16 种 PAHs 的影响

由图 10 可以看出，随着超声时间的增加，多环芳烃的提取效果增加。超声时间增加到 60min 与 120min 时，超声对肥料中 16 种多环芳烃总的回收率分别为 82.22%和 85.31%。综合考虑时间成本和提取效率，选择超声时间为 60min。

5.3.3.2 超声温度的选择

设定超声仪的时间设为 60min，提取温度分别设为 20℃、30℃、40℃、50℃、60℃，考察不同的超声温度对肥料中多环芳烃提取效果的影响。

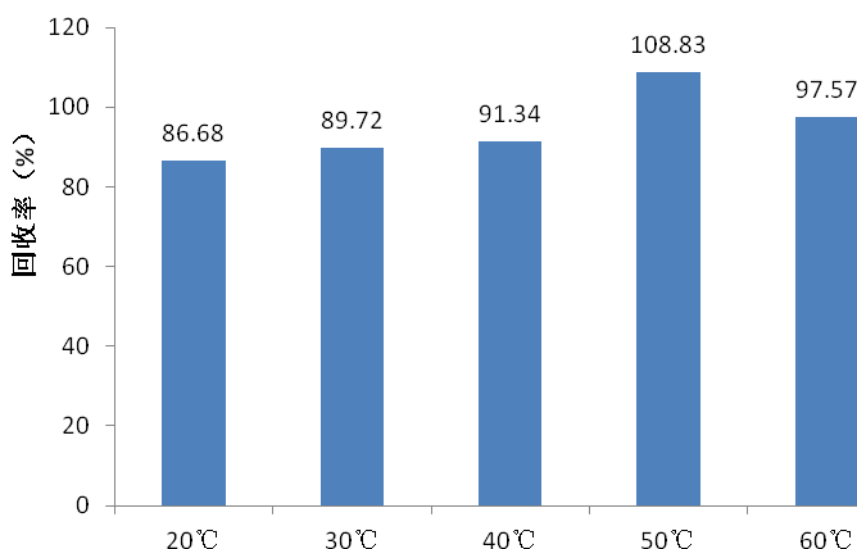


图 11 提取温度对肥料 16 种 PAHs 的平均回收率

由图 11 可见，随着温度提高，提取效率提高，但超过 50℃后，由于多环芳

烃的挥发损失，造成回收率下降。因此选择 50℃作为提取温度。

5.3.3.3 料液比确定

设定超声的时间设为 60min，提取温度为 50℃，考察不同的料液比对肥料中多环芳烃提取效果的影响。由图 12 可见，1:10、1:15、1:20、1:30 和 1:40 不同料液配比条件下，超声对多环芳烃的总回收率为分别为 89.06%、91.07%、83.22%、86.59%和 88.73%，其中，料液比为 1g: 15mL~40mL 时，超声提取的效率差别不大，从节约试剂的角度出发，料液比选择 1g: 15mL。1g: 15mL 时，16 种多环芳烃的回收率达到 73.28~109.78%。

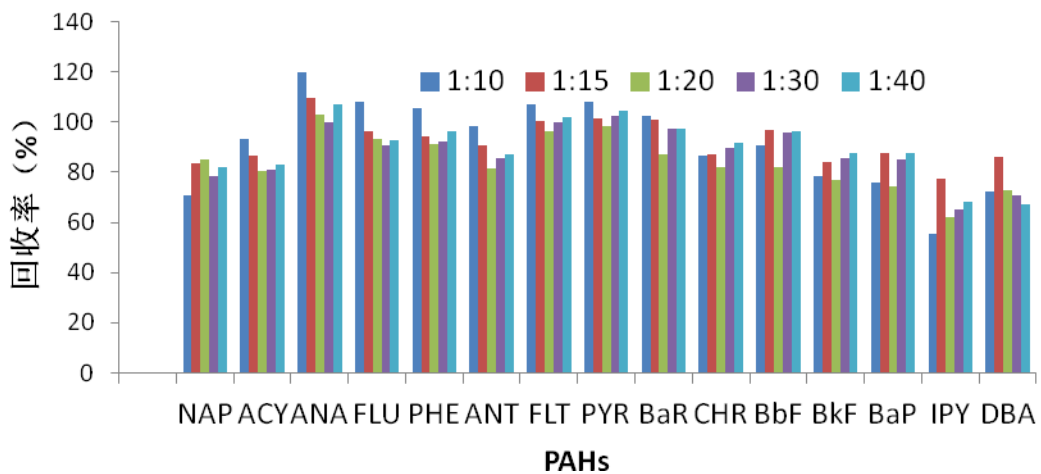


图 12 料液比对肥料 16 种 PAHs 的影响

5.3.3.4 提取方式的选择

分别设置不同超声次数和时间组合的 4 种提取方式，结果表明，增加提取次数和时间均能提高超声对肥料中多环芳烃的提取效率。相同条件下，提取 2 次的效果比提取 1 次提高了 21.4~28.4%，提取 2 小时的效率比提取 1 小时提高 86.9~97.9%。

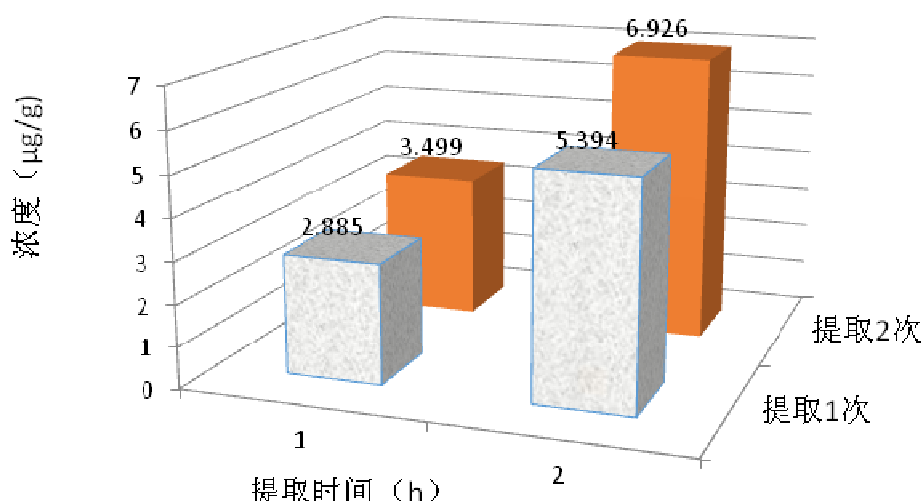


图 13 超声提取次数与时间对肥料中多环芳烃提取效果的影响

优化后提取方式为：1g 样品先用 15mL 丙酮-环己烷的提取溶剂 50℃下超声提取 60min，离心冷却后移出上清液；将残渣另用 15 mL 提取溶剂重复超声提取 30 min，离心冷却后合并上清液。

5.3.4 净化和浓缩

目前实验室分析中对多环芳烃的净化主要是硅胶玻璃层析柱、商品化固相萃取小柱，为适应不同实验室的情况并增加标准的可操作及应用范围，本方法在研究比较不同品牌的硅胶固相萃取小柱、多环芳烃专用固相萃取小柱的净化方法的基础上，提出适合肥料中 PAHs 检测的最佳净化技术。

(1) 活化：：用 5mL 二氯甲烷、5mL 正己烷对固相萃取柱进行活化，保持有机溶剂浸没填料的时间至少 5min。然后缓慢打开固相萃取装置的活塞放出多余的有机溶剂，且保持溶剂液面高出填料层 1mm。如固相萃取柱填料变干，则需重新活化固相萃取柱。

(2) 上样：将浓缩后萃取液全部移至上述固相萃取柱中，用2mL正己烷清洗浓缩管，一并转入固相萃取柱。然后缓慢打开装置阀门使萃取液进入填料，当萃取液全部浸入填料（不能流出），且没有使填料暴露于空气中时，关闭活塞。

(3) 过柱：在固相萃取装置的相应位置放入 15mL 氮吹管，准备 10ml 二氯甲烷/正己烷（50/50，v/v）混合液洗脱上述固相萃取柱，开始加入少量洗脱液使溶剂浸没填料层约 1min，然后缓缓打开萃取柱活塞，逐渐加入洗脱液并收集

全部洗脱液。

(4) 浓缩： 净化后的试液采用30℃水浴中氮吹浓缩，将提取液浓缩至2mL；移至2mL样品瓶中，待测。

表 8 固相萃取技术对肥料中 16 种多环芳烃提取效果的影响

序号	硅胶柱回收率 (%)	专用柱回收率 (%)
NAP	100.28	95.18
ACY	88.84	86.51
ANA	97.34	96.20
FLU	99.17	97.76
PHE	98.21	97.00
ANT	98.46	98.04
FLT	105.99	104.37
PYR	105.12	105.28
BaR	110.03	112.32
CHR	106.04	107.29
BbF	92.51	99.09
BkF	74.10	87.35
BaP	92.72	101.25
IPY	92.54	102.89
DBA	111.54	113.86
BPE	111.22	115.74
Σ PAHs	99.01	101.26

由表 8 可见，使用硅胶柱和专用柱对肥料中多环芳烃提取效果没有产生显著的影响，16 种多环芳烃的回收率达到了 74.10~115.74%，总的回收率分别为 99.01%和 101.26%。考虑硅胶小柱更加普遍、经济，本方法选择硅胶固相萃取小柱进行净化。

六、方法验证

6.1 验证过程

6.1.1 内部验证试验：检出限和回收率.

6.1.2 外部验证试验：

(1) 确定方法验证单位；(2) 按照方法验证方案准备实验用品，并与验证单位确定验证时间。(3) 在方法验证前，参加验证的操作人员应熟悉和掌握方法原理、操作步骤及流程。(4) 方法验证过程中所用的试剂和材料、仪器和设备及分析步骤应符合方法相关要求。

6.2 验证方案

根据国家标准制定相关规定，组织 8 家有资质的实验室，进行方法验证，验证单位，根据影响方法精密度和准确度的主要因素和数理统计学的要求，编制方法验证报告，验证数据主要包括检出限、精密度和准确度等，在此基础上，对实际样品进行验证。

(目前验证试验正在进行中，2014 年 10 月完成。)

6.3. 检出限和回收率试验

6.3.1 方法检出限

在空白样品加入多环芳烃的混合标准溶液，使得 16 种多环芳烃含量均为 $0.1 \mu\text{g/g}$ ，经过提取—浓缩—净化—浓缩—仪器分析全程序过程，剔除离群值后，根据 6 次的测定结果，计算其标准偏差 S 和检出限 $\text{MDL}=3S$ 。

6.3.2 回收率

选取 6 个实际肥料样品，每一个样品平行测定 2 次取其平均值作为空白值；在样品加入多环芳烃的混合标准溶液，使得 16 种多环芳烃的加标含量为 $2 \mu\text{g/g}$ ，试验结果扣除空白值，剔除离群值后将 6 次测定结果，分别计算平均值和加标回收率。

表 9 实际样品添加回收率试验

化合物名称	样品 1 回收率 (%)	样品 3 回收率 (%)	样品 5 回收率 (%)	样品 33 回收率 (%)	样品 11 回收率 (%)	样品 21 回收率 (%)
-------	--------------------	--------------------	--------------------	---------------------	---------------------	---------------------

萘	80.90	82.37	80.20	81.21	81.96	80.57
萘烯	82.10	98.38	82.60	90.42	86.45	82.91
萘	81.36	107.49	81.13	89.19	85.60	82.51
芴	81.74	108.74	82.41	94.88	87.91	85.91
菲	86.01	108.63	85.09	93.47	104.50	108.73
蒽	84.50	109.48	86.31	97.94	103.51	105.54
荧蒽	103.80	106.88	92.56	96.86	115.15	103.27
芘	108.99	106.65	112.55	96.75	115.32	98.35
苯并（a）蒽	96.17	86.11	91.81	94.07	109.73	84.98
屈（chrysene）	102.97	85.58	91.63	93.36	108.45	87.55
苯并（b）荧蒽	96.82	102.91	94.77	92.37	104.87	91.97
苯并（k）荧蒽	90.55	87.82	91.88	89.65	102.47	96.49
苯并（a）芘	105.04	88.20	90.93	89.30	107.28	95.16
二苯并（a, h）蒽	100.17	89.07	91.43	98.96	107.99	100.10
苯并（ghi）芘	102.03	91.03	90.02	101.88	107.98	89.46
茚并（1,2,3-cd）芘	104.34	94.48	108.76	108.17	107.35	92.48

表：10-1 实际样品普查（ $\mu\text{g/g}$ ）

样品号： 1

化合物	第一次	第二次	第三次	第四次	第五次	均值	方差
萘	ND	ND	ND	ND	ND		
萘烯	0.13	0.13	0.14	0.13	0.14	0.13	0.00
萘	ND	ND	ND	ND	ND		

芴	ND	ND	ND	ND	ND		
菲	ND	ND	ND	ND	ND		
蒽	ND	ND	ND	ND	ND		
荧蒽	ND	ND	ND	ND	ND		
芘	ND	ND	ND	ND	ND		
苯并（a）蒽	0.21	0.21	0.22	0.21	0.22	0.21	0.00
屈（chrysene）	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.00
苯并（b）荧蒽	0.20	0.20	0.21	0.20	0.20	0.20	0.00
苯并（k）荧蒽	0.12	0.12	0.13	0.12	0.12	0.12	0.00
苯并（a）芘	0.33	0.33	0.35	0.32	0.33	0.33	0.01
二苯并（a，h）蒽	0.35	0.35	0.37	0.35	0.36	0.36	0.01
苯并（ghi）芘	0.31	0.31	0.33	0.31	0.32	0.32	0.01
茚并（1,2,3-cd）芘	0.17	0.18	0.19	0.17	0.18	0.18	0.007

表 10-2 实际样品普查（ $\mu\text{g/g}$ ）

样品号：3

化合物	第一次	第二次	第三次	第四次	第五次	均值	方差
萘	0.46	0.49	0.50	0.45	0.47	0.47	0.02
蒎烯	0.52	0.56	0.53	0.56	0.51	0.54	0.02
蒎	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
芴	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
菲	0.60	0.69	0.76	0.78	0.73	0.71	0.06
蒽	0.08	0.09	0.09	0.10	0.09	0.09	0.01

荧蒽	0.62	0.73	0.81	0.84	0.77	0.75	0.08
芘	0.81	0.93	1.03	1.06	0.98	0.96	0.09
苯并（a）蒽	0.25	0.26	0.23	0.27	0.22	0.25	0.02
屈（chrysene）	0.13	0.16	0.17	0.19	0.16	0.16	0.02
苯并（b）荧蒽	0.25	0.27	0.25	0.29	0.24	0.26	0.02
苯并（k）荧蒽	0.17	0.19	0.19	0.21	0.18	0.19	0.01
苯并（a）芘	0.36	0.38	0.33	0.39	0.31	0.35	0.03
二苯并（a，h）蒽	0.38	0.39	0.37	0.41	0.36	0.38	0.02
苯并（ghi）花	0.32	0.32	0.27	0.32	0.25	0.30	0.03
茚并（1,2,3-cd）芘	0.24	0.28	0.33	0.35	0.32	0.30	0.04

表 10-3 实际样品普查（ $\mu\text{g/g}$ ）

样品号：5

化合物	第一次	第二次	第三次	第四次	第五次	均值	方差
萘	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
萘烯	0.14	0.13	0.13	0.13	0.14	0.13	0.00
芘	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
芴	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
菲	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
蒽	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
荧蒽	0.04	0.07	0.07	0.10	0.25	0.11	0.07
芘	0.04	0.06	0.06	0.08	0.21	0.09	0.06
苯并（a）蒽	0.21	0.22	0.22	0.22	0.30	0.23	0.03

屈 (chrysene)	0.05	0.06	0.06	0.07	0.21	0.09	0.06
苯并 (b) 荧蒽	0.20	0.20	0.20	0.21	0.28	0.22	0.03
苯并 (k) 荧蒽	0.12	0.12	0.12	0.13	0.20	0.14	0.03
苯并 (a) 芘	0.33	0.32	0.33	0.33	0.38	0.34	0.02
二苯并 (a, h) 蒽	0.35	0.35	0.35	0.35	0.43	0.37	0.03
苯并 (ghi) 芘	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.31	0.00
茚并 (1,2,3-cd) 芘	0.17	0.17	0.17	0.17	0.24	0.18	0.03

表 10-4 实际样品普查 (μg/g)

样品号: 11

化合物	第一次	第二次	第三次	第四次	第五次	均值	方差
萘	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
苊烯	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.00
苊	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
芴	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
菲	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
蒽	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
荧蒽	0.11	0.06	0.06	0.12	0.06	0.08	0.03
芘	0.11	0.06	0.06	0.11	0.06	0.08	0.02
苯并 (a) 蒽	0.25	0.22	0.23	0.26	0.22	0.24	0.02
屈 (chrysene)	0.12	0.06	0.07	0.12	0.06	0.09	0.03
苯并 (b) 荧蒽	0.23	0.20	0.21	0.23	0.20	0.21	0.01
苯并 (k) 荧蒽	0.15	0.12	0.13	0.16	0.12	0.14	0.02

苯并（a）芘	0.34	0.33	0.34	0.35	0.33	0.34	0.01
二苯并（a, h）蒽	0.38	0.35	0.37	0.39	0.35	0.37	0.02
苯并（ghi）花	0.32	0.31	0.33	0.32	0.31	0.32	0.01
茚并（1,2,3-cd）芘	0.20	0.17	0.18	0.20	0.17	0.18	0.01

表 10-5 实际样品普查（ $\mu\text{g/g}$ ）

样品号：21

化合物	第一次	第二次	第三次	第四次	第五次	均值	方差
萘	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
蒽烯	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.00
蒎	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
芴	0.16	0.14	0.15	0.17	0.14	0.15	0.01
菲	0.78	0.40	0.42	0.78	0.40	0.56	0.18
蒽	0.18	0.10	0.11	0.19	0.11	0.14	0.04
荧蒽	0.17	0.17	0.17	0.18	0.17	0.17	0.00
芘	0.14	0.12	0.12	0.14	0.12	0.13	0.01
苯并（a）蒽	0.22	0.22	0.23	0.22	0.22	0.22	0.00
屈（chrysene）	0.08	0.10	0.10	0.08	0.10	0.09	0.01
苯并（b）荧蒽	0.23	0.23	0.24	0.23	0.23	0.23	0.00
苯并（k）荧蒽	0.16	0.15	0.16	0.16	0.15	0.16	0.00
苯并（a）芘	0.33	0.33	0.35	0.34	0.33	0.34	0.01
二苯并（a, h）蒽	0.38	0.37	0.39	0.38	0.37	0.38	0.01
苯并（ghi）花	0.32	0.32	0.33	0.32	0.32	0.32	0.00

茚并（1,2,3-cd）芘	0.21	0.21	0.22	0.21	0.21	0.21	0.00
---------------	------	------	------	------	------	------	------

表 10-6 实际样品普查（ $\mu\text{g/g}$ ）						样品号：33	
化合物	第一次	第二次	第三次	第四次	第五次	均值	方差
苯	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
萘	0.13	0.13	0.13	0.14	0.13	0.13	0.00
蒽	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
芴	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
菲	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
蒽	ND	ND	ND	ND	ND	/	/
荧蒽	0.05	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.00
芘	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.00
苯并（a）蒽	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.00
屈（chrysene）	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.00
苯并（b）荧蒽	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.20	0.00
苯并（k）荧蒽	0.13	0.13	0.12	0.14	0.13	0.13	0.01
苯并（a）芘	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.00
二苯并（a, h）蒽	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.00
苯并（ghi）花	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.31	0.00
茚并（1,2,3-cd）芘	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.00

七、验证试验数据分析—精密度计算

由 6.2 验证方案确定的 8 家验证单位进行方法比对验证试验。目前正在进行中。（待数据全部完成后进行数理统计分析并求出 R, r ）。