

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2019062304

田璐, 马英歌, 谭皓新, 等. 超临界流体萃取技术应用于植物叶片中多环芳烃含量测定 [J]. 环境化学, 2020, 39(9): 2450-2458.

TIAN Lu, MA Yingge, TAN Haoxin, et al. Application of supercritical fluid extraction in determination of polycyclic aromatic hydrocarbons content in plant leaves [J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(9): 2450-2458.

## 超临界流体萃取技术应用于植物叶片中多环芳烃含量测定\*

田 璐<sup>1,3,5,6</sup> 马英歌<sup>3,4</sup> 谭皓新<sup>1,2</sup> 刘子桐<sup>1,3,5</sup>  
 孙宁骁<sup>1,2</sup> 殷 杉<sup>1,2,5\*\*</sup>

- (1. 上海交通大学农业与生物学院, 上海, 200240; 2. 国家林业与草原局上海城市森林生态系统国家定位观测研究站, 上海, 200240;  
 3. 上海市环境科学研究院, 上海, 200233; 4. 国家环境保护城市大气复合污染成因与防治重点实验室, 上海, 200233;  
 5. 上海长三角人口密集区生态环境变化和综合治理教育部野外科学观测研究站, 上海, 200240;  
 6. 上海虹桥国际机场, 上海, 200335)

**摘 要** 针对植物叶片中多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 的萃取已有超声萃取技术、快速溶剂萃取技术等传统萃取方法, 不同萃取技术各有优劣, 但已被广泛应用在大气和土壤样品的超临界流体萃取技术鲜见被用于萃取植物叶片中的 PAHs。本文将超临界流体萃取技术应用于萃取植物叶片 PAHs, 探索了适用于超临界流体技术萃取植物叶片 PAHs 的最优实验参数, 并将超临界流体萃取技术与传统常用的萃取方法进行了对比。在此基础上, 利用超临界流体萃取技术测定比较了香樟、广玉兰、雪松和罗汉松等 4 种植物叶片中 PAHs 的含量。结果显示, 针对植物叶片中 PAHs, 超临界流体萃取技术最佳萃取温度为 180 °C, 最佳萃取压力为 350 atm; 利用超临界流体萃取技术萃取植物叶片中的 PAHs, 所测得的叶片中 PAHs 总含量明显高于超声萃取和快速溶剂萃取, 总量分别提升 6.26%—20.64% 及 10.00%—33.42%; 不同环数 PAHs 在不同树种叶片中占比不尽相同, 总体趋势为: 中环>高环>低环, 且中环 PAHs 占比均超过 50%。4 种植物叶片中单体 PAHs 含量表现出明显的种间差异, 叶片中含量最高的单体 PAHs 均为中环 PAHs 的菲+蒽。超临界流体萃取技术在萃取植物叶片中 PAHs 的实验中具有操作简便、自动化程度高、有机溶剂使用量少、萃取效率高等优点, 明显优于其他传统萃取方法。

**关键词** 超临界流体萃取, 多环芳烃, 植物叶片, 超声萃取, 快速溶剂萃取。

## Application of supercritical fluid extraction in determination of polycyclic aromatic hydrocarbons content in plant leaves

TIAN Lu<sup>1,3,5,6</sup> MA Yingge<sup>3,4</sup> TAN Haoxin<sup>1,2</sup> LIU Zitong<sup>1,3,5</sup>  
 SUN Ningxiao<sup>1,2</sup> YIN Shan<sup>1,2,5\*\*</sup>

- (1. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200240, China;  
 2. Shanghai Urban Forest Research Station, National Forestry and Grassland Administration, Shanghai, 200240, China;  
 3. Shanghai Academy of Environmental Sciences, Shanghai, 200233, China;  
 4. State of Environmental Protection Key Laboratory of the Formation and Prevention of Urban Air Complex, Shanghai, 200233, China;  
 5. Yangtze River Delta Ecology & Environmental Change and Control Research Station, Shanghai, 200240, China;  
 6. Hongqiao International Airport, Shanghai, 200335, China)

2019 年 6 月 23 日收稿 (Received: June 23, 2019).

\* 国家重点研发计划 (2016YFC0200104, 2017YFC0505501), 国家自然科学基金 (31971719) 和上海市绿化和市容管理局项目 (G171206) 资助。

Supported by the National Key Research and Development Plan of China (2016YFC0200104, 2017YFC0505501), the National Natural Science Foundation of China (31971719) and Shanghai Landscaping and City Appearance Administrative Bureau (G171206).

\*\* 通讯联系人, Tel: 021-34204780, E-mail: yinshan@sjtu.edu.cn

Corresponding author, Tel: 021-34204780, E-mail: yinshan@sjtu.edu.cn

**Abstract:** Traditional extraction methods including ultrasonic extraction technology and rapid-efficient extraction technology have been widely used to extract the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plant leaves. Different extraction techniques have their advantages and disadvantages. Supercritical fluid extraction (SFE) techniques, which have been widely used in atmosphere and soil sciences, have not been used to extract PAHs from plant leaves. In our study, we explored the optimal experimental parameters for SFE of PAHs from plant leaves, evaluated the differences between SFE and traditional extraction methods, and further measured the content of PAHs in *Cinnamomum camphora*, *Magnolia grandiflora*, *Cedrus deodara*, and *Podocarpus macrophyllus* leaves. The results showed that the optimum temperature and pressure in the SFE technology to extract the PAHs in leaves was 180°C and 350 atm. The extracting efficiency was also respectively enhanced 6.26%—20.64% and 10.00%—33.42% compared to ultrasonic and rapid-efficient extraction methods. The ratio of medium-molecular-weight PAHs was the highest (>50%) in different plants, and the order of different rings PAHs in the plants was medium > high > low molecular weights. Moreover, the content of monomeric PAHs among plants was different. The phenanthrene + pyrene in medium-molecular-weight PAHs was the highest. Our study demonstrated that SFE technique that had the advantages of high extraction efficiency and automation, which was worth popularizing to the determination of PAHs in leaves.

**Keywords:** supercritical fluid extraction (SFE), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), plant leaves, ultrasonic extraction, high performance solvent extraction (HPSE).

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是分子中两个及两个以上苯环共有两个相邻碳原子形成的烃类有机物以及由它们衍生出来的各类化合物的统称,可致畸、致癌、致突变<sup>[1-4]</sup>,对人类健康和生态环境造成了极大威胁<sup>[5-7]</sup>.至今已发现 400 余种 PAHs 及其衍生物,其中有 16 种因其危害性较大被美国环保局(US EPA)列为优先控制的污染物.

植物由于其广泛的表面分布和特异性反应,可以起到污染物生物指示剂和生物累积剂的作用<sup>[8]</sup>.大气中易挥发、低分子量的 PAHs 以气态形式沉降于叶片表面,难挥发、高分子量的 PAHs 则以颗粒物形式被叶片吸附,继而叶片吸收<sup>[9-13]</sup>.

目前,植物叶片中 PAHs 的萃取方法主要有:快速溶剂萃取法(high performance solvent extraction, HPSE)、超声萃取法(ultrasonic extraction)等<sup>[2,10,14-16]</sup>.萃取是测定植物叶片中 PAHs 含量的重要步骤,萃取效果直接影响着含量测定的准确率,因此,一种合适的萃取方法对测定植物叶片中 PAHs 含量至关重要.不同萃取方法各有优劣.比如,快速溶剂萃取是一种较为先进的溶剂萃取技术,具有高效快捷、安全可靠、经济环保等优点,但是,快速溶剂萃取法也存在有机溶剂消耗量过大、低分子量 PAHs 回收率低等问题.超声波提取树叶中的 PAHs 具有提取简单,溶剂用量较小等优点<sup>[17]</sup>.但是超声萃取法也存在有机溶剂扩散严重、共提取物较多等缺点<sup>[18]</sup>.总体而言,萃取方法的发展向萃取效率高、自动化程度高、选择性好以及污染少的方向发展.

超临界流体是一种高压高密度流体,兼具气体与液体的优点,超临界流体扩散系数高、黏度低,同时又像与液体一样,对物质的溶解能力强<sup>[19]</sup>.超临界流体萃取法(supercritical fluid extraction, SFE)具有萃取效率高,速度快,萃取成本低,自动化程度高,减少有机溶剂的使用量等优点.而且常用的超临界流体常压下都为气体,容易与萃取组分完全分离,减少了有机溶剂的使用,并且不干扰下一步的分析.超临界流体萃取技术目前已经广泛应用于土壤、大气等环境介质中<sup>[20-21]</sup>.但由于植物结构复杂且杂质较多,超临界流体萃取技术被用于萃取植物叶片中的 PAHs 存在诸多困难,因此超临界流体萃取法罕见于植物叶片研究中.

基于以上背景及针对现有技术中的缺陷,本文拟建立并优化“超临界流体萃取+气相色谱/质谱联用(GC-MS)”技术测定植物叶片中 PAHs 含量的相关条件;在此基础上,比较超临界流体萃取、快速溶剂萃取、超声萃取 3 种不同的前处理方法对植物叶片中 PAHs 含量测定的影响,论证“超临界流体萃取+气

相色谱/质谱联用”检测植物叶片中 PAHs 方法的可行性,为进一步开展植物和 PAHs 的相关研究提供方法支撑.

## 1 实验方法( Materials and methods)

### 1.1 植物选择及采集

本文选取了典型的 4 种亚热带植物作为实验植物,分别属于 4 个科,4 个属,其中香樟和广玉兰属于常绿阔叶乔木,雪松和罗汉松属于常绿针叶乔木.

表 1 本文选取的植物列表

Table 1 List of plants selected in this paper

中文名 Chinese name	拉丁名 Scientific name	科 Family	属 Genus
香樟	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) Presl.	樟科	樟属
广玉兰	<i>Magnolia grandiflora</i> Linn.	木兰科	木兰属
雪松	<i>Cedrus deodara</i> (Roxb.) G. Don	松科	雪松属
罗汉松	<i>Podocarpus macrophyllus</i> (Thunb.) D. Don	罗汉松科	罗汉松属

本文中的植物样品采集于上海交通大学闵行校区植物园内标本.在采样时,选取 5 棵成熟的(树龄 10—20 年)、大小相似、生长健康且外表无损伤的乔木,且两棵树之间间隔至少 100 m.在离地 2—3 m 处,从东南西北四个方向分别采集健康完整的叶片,每种植物采集 3 个平行组约 50—100 片叶子.样品采集后,迅速放入聚乙烯袋中,避光运回实验室.将每种样品单独粉碎并混合,用锡箔纸包裹,存放于温度为 $-18^{\circ}\text{C}$ 的冰箱.

### 1.2 样品前处理

#### 1.2.1 超临界流体萃取

本研究运用分析型超临界流体萃取仪(Speed SPE-15000,美国),并以超临界流体态的 $\text{CO}_2$ 为基本的萃取剂进行萃取实验.超临界状态下的 $\text{CO}_2$ 具有扩散系数大、黏度小和萃取能力强等优点,有利于提高实验的萃取效率.

称取 5 g 植物样品加入萃取釜,加入 2 g 浓硫酸、5 g 硅胶,250  $\mu\text{L}$  浓度为 $2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的萘-d8 作为内标物质.温度设置为 $180^{\circ}\text{C}$ ,压力设置为 350 atm(探究最优参数的时候,控制温度为 $180^{\circ}\text{C}$ ,设置压力梯度:200 atm—230 atm—260 atm—290 atm—320 atm—350 atm—380 atm,探究萃取效果最好的压力环境;控制压力为 350 atm,设置温度梯度: $80^{\circ}\text{C}$ — $100^{\circ}\text{C}$ — $120^{\circ}\text{C}$ — $140^{\circ}\text{C}$ — $160^{\circ}\text{C}$ — $180^{\circ}\text{C}$ — $200^{\circ}\text{C}$ ,探究萃取效果最好的温度环境).萃取时间为 30—40 min.实验选用的共溶剂为正己烷.在收集萃取液时,用二氯甲烷作为收集溶剂,并将流速控制在 $4\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .氮吹浓缩至 2 mL.

#### 1.2.2 超声萃取

目前已有实验中超声萃取植物叶片中 PAHs 的实验步骤已较为完备,因此借鉴已有研究中的经典超声萃取方法用于萃取叶片中的 PAHs 进行改进综合<sup>[22]</sup>,具体实验步骤如下:

用电子天平准确称量 5 g 新鲜树叶于磨口玻璃容器中.加入 40 mL 正己烷和二氯甲烷(体积比 1:1)混合液,加入 0.5 mg 浓度为 $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的萘-d8 作为内标.加塞封口以防止有机溶剂挥发.在超声波清洗器中超声萃取 40 min(水温低于 $25^{\circ}\text{C}$ ).将萃取液转移至梨形瓶中.重复萃取步骤 3 次,合并提取物.

#### 1.2.3 快速溶剂萃取

目前快速溶剂萃取植物叶片中 PAHs 的方法较为成熟,因此本文借鉴了已有研究中的实验步骤<sup>[23]</sup>,具体如下:

用电子天平准确称量取植物样品 5 g,装填至 22 mL 的萃取罐中,加入 0.5 mg 浓度为 $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的萘-d8 作为内标.将装填好两个萃取罐置于仪器中,萃取溶剂为正己烷和二氯甲烷的混合溶液(体积比为 1:1).设定萃取参数为:萃取温度 $100^{\circ}\text{C}$ 、系统压力 10 MPa,加热时间 3 min,静态提取时间 5 min,冲洗体积 60%,氮气吹扫 60 s,萃取过程循环两次.

### 1.2.4 样品的净化与浓缩

取 5 mL 正己烷加入小柱,对 SPE 小柱(CNWBOND 800 mg 硅胶 & 1200 mg 中性氧化铝小柱 2 g, 6 mL) 进行活化;将 2 mL 萃取液加到柱内,用少量正己烷清洗专用收集容器,将清洗液加入柱内,用真空泵以低于  $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  的流量抽真空;向柱中加入 2 mL 正己烷,以  $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  的流量淋洗,抽空,淋洗液弃去;向柱中加入 5 mL 正己烷/二氯甲烷混合液(体积比为 3:2),以  $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  的流量洗脱柱子,抽空,收集洗脱液,重复洗脱 5 次并将洗脱液混合。

采用高纯氮吹浓缩法,将溶液氮吹至近干,再用正己烷定容至 0.5 mL,将样品转移至小棕瓶内,密封后在  $-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$  的冰箱内冷藏保存,等待上机检测。

### 1.3 GC/MS 上机检测

#### 1.3.1 分析条件

本研究采用气相色谱-质谱联用仪(Agilent 7890A/5975C, Agilent, 美国) 进行上机检测<sup>[24]</sup>。采用电子轰击离子源(EI), 电离电压 70 eV, 扫描范围 50—500 amu。色谱柱选用 30 m Rtx-5MS, 柱内径 0.25 mm, 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ , 载气为氦气, 柱温程序为  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保持 1 min, 然后以  $20 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  的速度升温至  $200 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 并保持 1 min; 再以  $10 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  的速度升温至  $310 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 并在  $310 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保持 10 min。进样采用分流模式, 分流比为 10:1, 恒线速度模式, 柱流量为  $1.12 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

#### 1.4 标准曲线制作

本文采用内标标准曲线法进行定量分析。分别取一定量的 PAHs 标准溶液原液, 加入相同量的内标物蔡-d8, 以正己烷为稀释溶剂, 以原液中菲的浓度  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  为基准, 分别配制溶液中菲浓度为 0.1、0.5、1.0、2.0、4.0  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 PAHs 标准溶液, 且各溶液中内标浓度均为  $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

用 GC-MS 对各标准溶液进行分析检测, 根据检测结果得到各监测离子参数。

以标准溶液中目标化合物与内标物的峰面积之比对目标化合物与内标物浓度之比作图, 得到定量标准曲线。

$$\frac{C_i}{C_s} = k \times \frac{A_i}{A_s} + b \quad (1)$$

其中,  $C_i$  为被测组分浓度,  $C_s$  为内标物浓度,  $A_i$  为被测组分峰面积,  $A_s$  为内标物峰面积。

由于叶片结构复杂, 色素、蜡质等含量较多, 对 PAHs 的束缚也较大。因此, 相比于物理采样器, 叶片中 PAHs 更加难以剥离。某些 PAHs 的特征离子和参考离子相同, 峰杂糅在一起, 出峰时间不易区分, 因此将特征离子相同的 PAHs 视为一种物质, 共用同一标准曲线。

#### 1.5 质量保证与质量控制

整个实验分析按空白加标、样品平行样、样品空白样(方法空白) 进行质量保证和质量控制。在方法空白检测分析中, 并未发现目标物。在测定加标回收率时, 取两份相同的样品, 其中 1 份加入定量的 PAHs 标准液, 两份样品按相同步骤进行处理分析, 按照加标回收率公式计算。

$$\text{加标回收率} = (\text{加标试样测定值} - \text{试样测定值}) / \text{加标量} \times 100\% \quad (2)$$

测得本实验中 16 种 PAHs 加标回收率为 69%—112%, 且实验结果均经过回收率校正。在确定样品检测限时, 将接近检测极限浓度的标准品进样分析 5 次, 检测限按照 3 倍信噪比计算。测得本实验方法最低检出限范围为  $0.005$ — $0.022 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

#### 1.6 数据处理

本实验样品 GC-MS 图谱在分析结束之后, 自动存于 Chemstation 分析软件之中, 通过图谱中各峰值出峰时间、特征离子构成判断该离子峰所对应的目标检测物, 使用 Microsoft EXCEL、WORD 等软件做数据记录与分析。用 SPSS 软件分析数据之间的显著性差异。

## 2 结果与讨论 (Results and discussion)

通常 4 环以下的低分子量 PAHs 以气态形态存在, 5—6 环的高分子量 PAHs 则主要附着在颗粒物上<sup>[25]</sup>, 在分析萃取温度对萃取效率的影响时, 从低分子量和高分子量 PAHs 各选 1 种 PAHs 作为代表

物质.有研究表明菲、蒽等 3—4 环 PAHs 为樟树叶片中主要的 PAHs 组分,且菲的含量最高<sup>[26]</sup>.高分子量 PAHs 中的苯并[a]芘是第一个被发现的环境化学致癌物,而且致癌性很强,极具研究意义.因此,本文选择菲作为低分子量 PAHs 的代表物质,选定苯并[a]芘作为高分子量 PAHs 的代表物质.

### 2.1 超临界流体萃取植物叶片中 PAHs 最适宜温度

温度对 PAHs 的萃取效率具有较为复杂的影响,温度过高或过低都会影响萃取效率.主要原因在于一方面,温度升高,目标物质的蒸汽压增大,目标物质在 CO<sub>2</sub> 中的溶解度增大,提升超临界流体萃取的萃取效率;另一方面,温度升高,超临界状态下的 CO<sub>2</sub> 密度降低,对物质的溶剂能力降低,超临界流体萃取的萃取效率也因此受到影响.因此,探索最适宜的温度是十分必要的.

菲和苯并[a]芘的浓度在不同温度下的变化趋势如图 1 所示.在 80—180 °C 的温度范围内,样品中 PAHs 的浓度随着温度的升高而升高,而当温度升高至 200 °C 时,PAHs 的浓度反而降低.综上所述,180 °C 是超临界流体萃取植物叶片中 PAHs 的最适宜温度,在此萃取温度下超临界流体萃取效率最高.

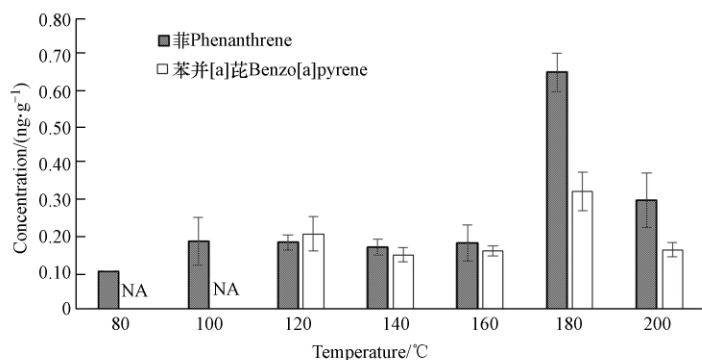


图 1 不同温度下超临界流体萃取样品中菲和苯并[a]芘的浓度

Fig.1 Concentration of phenanthrene and benzo[a]pyrene at different temperatures

### 2.2 压力对超临界流体萃取植物叶片中 PAHs 含量的影响

菲和苯并[a]芘的浓度在不同压力下的变化趋势如图 2 所示.根据图 2 中样品中 PAHs 浓度随压力的变化趋势可得,在 200—290 atm 的压力范围内,不同压力状态下 PAHs 的浓度变化不大,其中菲的浓度变化在 0.10—0.13 ng·g<sup>-1</sup> 之间,苯并[a]芘的浓度变化在 0.11—0.12 ng·g<sup>-1</sup> 之间.即在这个范围内,压力的变化对超临界流体萃取效率并无较大影响.在 290—350 atm 的压力范围内,样品中 PAHs 的浓度较大幅度上升,此时升高压力对提高超临界流体萃取效率具有促进作用.而当压力大于 350 atm 时,压力升高 PAHs 浓度反而会降低.综上所述,350 atm 是超临界流体萃取植物叶片中 PAHs 的最适宜压力,在此萃取压力下超临界流体萃取效率最高.

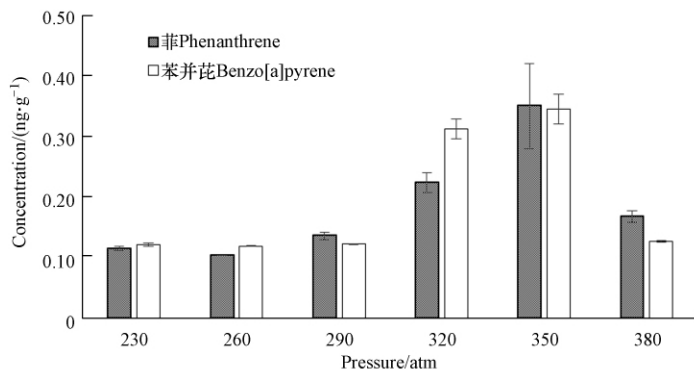


图 2 不同压力下超临界流体萃取样品中菲和苯并[a]芘的浓度

Fig.2 Concentration of phenanthrene and benzo[a]pyrene at different pressure

### 2.3 超临界流体萃取与传统萃取对比

从萃取过程来讲,超临界流体萃取技术具有操作简单、自动化程度高、有机溶剂使用量少等优势.超

临界流体萃取在将样品装入萃取釜, 设定好参数后, 即全为电子化操作流程, 自动化程度高. 超临界流体萃取主要以  $\text{CO}_2$  为基本萃取剂, 仅在收集萃取液时使用了有机溶剂, 减少了有机溶剂的挥发和浪费.

从不同方法测定结果来看, 由图 3(部分 PAHs 具有相同的特征离子, 且峰难以区分, 故分为一组) 对比可得, 利用超临界流体萃取技术萃取植物叶片中的 PAHs, 所测得的叶片中 PAHs 总含量明显高于超声萃取和快速溶剂萃取, 总量分别提升 6.26%—20.64% 及 10.00%—33.42%. 针对不同植物, 超临界流体萃取效果相较于超声萃取和快速溶剂萃取具有不同程度的提升, 其萃取优势在罗汉松叶片上表现得最佳, 在萃取广玉兰叶片中的 PAHs 时优势并不明显. 可能因为广玉兰叶片表层含有较多蜡质, 叶片革质, 不利于各类萃取实验的进行.

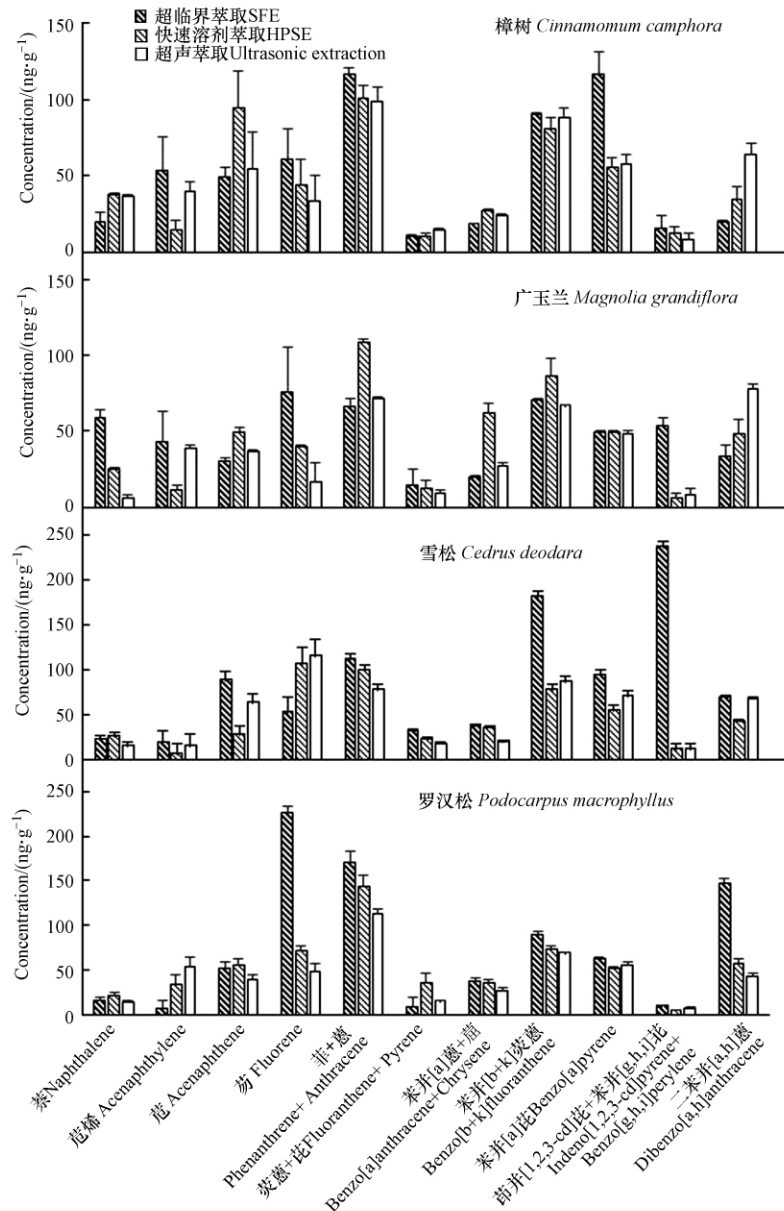


图 3 超临界流体萃取法和传统方法萃取不同植物叶片中 PAHs 含量对比

Fig.3 Comparison of extraction of PAHs in leaves of different plants by SFE and traditional methods

值得注意的是, 超临界流体萃取技术更有利于萃取大多数 PAHs. 在 4 种植物叶片中, 通过超临界流体萃取, 萘、菲+蒽、荧蒽+嵌二萜、苯并 [b] 荧蒽、苯并 [k] 荧蒽、苯并 [a] 芘和茚并 [1,2,3-cd] 芘+苯并 [g,h,i] 芘等 PAHs 单体都表现出了较为明显的优势. 这些 PAHs 多数是以颗粒态或气态与颗粒态过渡态为主. 而超临界流体是一种高压高密度流体, 兼具气体与液体在萃取物质时的优点, 超临界流体扩散系数高、黏度低, 同时又像与液体一样, 对物质的溶解能力强<sup>[19]</sup>. 因此, 可以理解超临界流体在萃取颗粒

态的污染物方面,效果显著.

#### 2.4 不同树种叶片中 PAHs 含量的种间差异

4 种叶片中 PAHs 总浓度在  $516.33\text{--}955.84\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  的范围内(图 4).由图 4 不同树种叶片中各环 PAHs 百分比图可以看出,各树种叶片不同环数 PAHs 含量总趋势均为:中环>高环>低环,且中环 PAHs 含量占比均超过 50%.呈现出这种趋势主要是因为低环 PAHs 在大气中存在不稳定,易于降解;而高环 PAHs 为固态颗粒,较难被植物叶片吸收<sup>[27-28]</sup>.但由于我们在处理植物样品时,并未清洗叶片表面,保留了叶片表面吸附的高环 PAHs,因此检测出的高环 PAHs 含量稍高于前人的研究<sup>[29-31]</sup>.

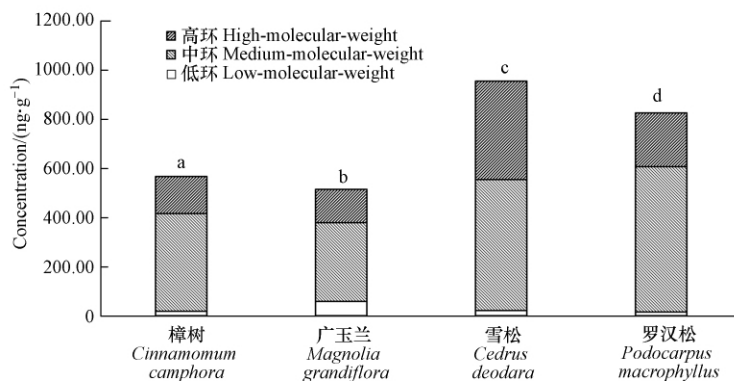


图 4 基于超临界流体萃取的植物叶片中 PAHs 的浓度测定值

注: a, b, c, d 代表具有显著性差异

Fig.4 Determination of concentration of PAHs in plant leaves based on SFE

Note: a, b, c, d indicate significant differences

由图 5 可知,4 种树种叶片中单体 PAHs 含量表现出明显的种间差异.4 种树种叶片中含量最高的 PAHs 均为菲+蒽,这一趋势也与刘营等在 2014 年的研究结果相吻合<sup>[26]</sup>.

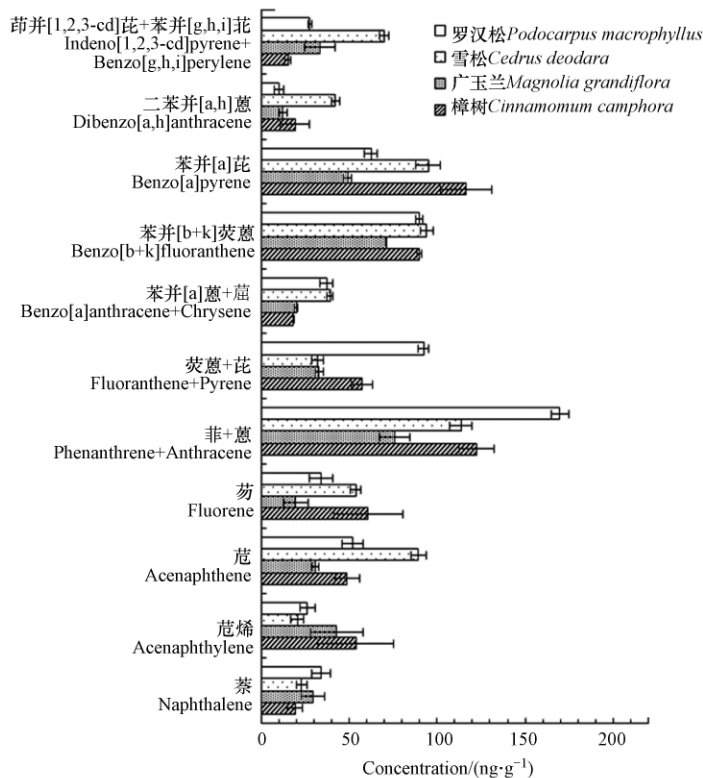


图 5 单体 PAHs 的种间差异

Fig.5 Interspecies differences in monomeric PAHs

但是 4 种树种叶片中含量最低的 PAHs 却不尽相同, 香樟、广玉兰、罗汉松叶片中含量最低的 PAHs 为二苯并 [a, h] 蒽, 而雪松叶片中含量最低的 PAHs 分别为苊烯。此外, 萘、苊烯、芴、苯 [a] 蒽+蒾在不同树种中含量较为接近, 而苊、菲+蒽、苯并 [a] 芘在不同树种中含量相差较大。这主要由不同树种叶片特性所决定, 有研究表明, 中环 PAHs 主要通过植物叶片通过气孔扩散和蜡质物质吸附等作用进入叶片内部, 而高环 PAHs 则只能通过蜡质物质吸附而被叶片所固持<sup>[9,32]</sup>。因此, 广玉兰等蜡质层较厚的植物, 对高环 PAHs 吸附效果较好。而叶片比表面积也是影响叶片吸附 PAHs 的重要因素, 一般而言, 叶片 PAHs 含量同比表面积存在显著负相关性。叶片比表面积决定了叶片厚度, 叶片比表面积越大, 植物叶片越薄, 这会影响叶片蜡质含量, 从而影响植物叶片中 PAHs 的含量及分布<sup>[13,33]</sup>。雪松及罗汉松等针叶植物, 比表面积较小, 对中环 PAHs 吸附效果较好。

### 3 结论( Conclusion)

本研究确立了基于超临界流体萃取技术的植物叶片中 PAHs 的测定方法并确立了最优实验参数。在温度 180 °C, 压力为 350 atm 的实验条件下, 超临界流体萃取植物叶片中的 PAHs 达到最佳效果。在此基础上, 将超临界流体萃取技术与传统萃取技术进行对比, 超临界流体萃取技术萃取植物叶片中的 PAHs 效率明显高于超声萃取和快速溶剂萃取, 总量分别提升 6.26%—20.64% 及 10.00%—33.42%。并利用超临界流体萃取, 测定了香樟、广玉兰、雪松和罗汉松这 4 种植物叶片中 PAHs 的含量, 对比了植物富集 PAHs 的种间差距。各树种叶片中不同环数 PAHs 含量变化趋势均为: 中环>高环>低环, 且中环 PAHs 占比均超过 50%。4 种植物叶片中单体 PAHs 含量表现出明显的种间差异, 叶片中含量最高的单体 PAHs 均为中环 PAHs 的菲+蒽。综上, 超临界流体萃取技术在萃取植物叶片中 PAHs 的实验中具有操作简便、自动化程度高、有机溶剂使用量少、萃取效率高等优点, 明显优于其他传统萃取方法, 对后续实验和科学探索, 具有重大意义。

#### 参考文献( References)

- [1] DI P A, CRESPO P D, SPAGNUOLO V, et al. Molecular and chemical characterization of a Sphagnum palustre clone: Key steps towards a standardized and sustainable moss bag technique [J]. Ecological Indicators, 2016, 71: 388-397.
- [2] CAPOZZI F, DI P A, ADAMO P, et al. Monitoring chronic and acute PAH atmospheric pollution using transplants of the moss *Hypnum cupressiforme* and *Robinia pseudacacia* leaves [J]. Atmospheric Environment, 2017, 150: 45-54.
- [3] KODNIK D, CANDOTTO C F, LICEN S, et al. Seasonal variations of PAHs content and distribution patterns in a mixed land use area: A case study in NE Italy with the transplanted lichen *Pseudevernia furfuracea* [J]. Atmospheric Environment, 2015, 113: 255-263.
- [4] HARMENS H, FOAN L, SIMON V, et al. Terrestrial mosses as biomonitors of atmospheric POPs pollution: A review [J]. Environmental Pollution, 2013, 173: 245-254.
- [5] KESHAVARZIFARD M, MOORE F, KESHAVARZI B, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediment and sea urchin (*Echinometra mathaei*) from the intertidal ecosystem of the northern Persian Gulf: Distribution, sources, and bioavailability [J]. Marine Pollution Bulletin, 2017, 123(1/2): 373-380.
- [6] MACASKILL N D, WALKER T R, OAKES K, et al. Forensic assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons at the former Sydney Tar Ponds and surrounding environment using fingerprint techniques [J]. Environmental Pollution, 2016, 212: 166-177.
- [7] 李新荣, 赵同科, 张文新, 等. 区域环境中多环芳烃的皮肤接触暴露水平 [J]. 环境化学, 2010, 29(5): 898-903.  
LI X R, ZHAO T K, ZHANG W X, et al. Dermal contact exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in regional environment [J]. Environmental Chemistry, 2010, 29(5): 898-903 (in Chinese).
- [8] MANOUSAKAS M, PAPAETHYMIU H, DIAPOULI E, et al. Assessment of PM<sub>2.5</sub> sources and their corresponding level of uncertainty in a coastal urban area using EPA PMF 5.0 enhanced diagnostics [J]. Science of the Total Environment, 2017, 574: 155-164.
- [9] BARBER J L, THOMAS G O, KERSTIENS G, et al. Current issues and uncertainties in the measurement and modelling of air-vegetation exchange and within-plant processing of POPs [J]. Environmental Pollution, 2004, 128(1/2): 99-138.
- [10] TIAN L, YIN S, MA Y, et al. Impact factor assessment of the uptake and accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by plant leaves: Morphological characteristics have the greatest impact [J]. Science of the Total Environment, 2019, 652: 1149-1155.
- [11] MOECKEL C, THOMAS G O, BARBER J L, et al. Uptake and storage of PCBs by plant cuticles [J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(1): 100-105.
- [12] SRIPRIPAT W, SUKSABYE P, AREEPHAK S, et al. Uptake of toluene and ethylbenzene by plants: Removal of volatile indoor air contaminants [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014, 102: 147-151.
- [13] KIM S J, LEE H, KWON J H. Measurement of partition coefficients for selected polycyclic aromatic hydrocarbons between isolated plant cuticles and water [J]. Science of the Total Environment, 2014, 494-495(10): 113-118.



- [14] PAPA S, BARTOLI G, NACCA F, et al. Trace metals, peroxidase activity, PAHs contents and ecophysiological changes in *Quercus ilex* leaves in the urban area of Caserta ( Italy) [J]. Journal of Environmental Management, 2012, 113: 501-509.
- [15] MURAKAMI M, ABE M, KAKUMOTO Y, et al. Evaluation of ginkgo as a biomonitor of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Atmospheric Environment, 2012, 54: 9-17.
- [16] 董小艳, 王琼, 杨一兵, 等. 2017 年春节期问北京市城区和郊区大气 PM<sub>2.5</sub> 及其中多环芳烃的污染特征 [J]. 环境化学, 2018, 37(10): 2191-2198.  
DONG X Y, WANG Q, YANG Y B, et al. Characterization of ambient PM<sub>2.5</sub> and PAHs during 2017 Spring Festival in urban and suburb areas of Beijing [J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(10): 2191-2198 ( in Chinese) .
- [17] BERSET J D, EJEM M, HOLZER R, et al. Comparison of different drying, extraction and detection techniques for the determination of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in background contaminated soil samples [J]. Analytica Chimica Acta, 1999, 383(3): 263-275.
- [18] 杨萍. 东北地区松针中多环芳烃的污染水平与特征 [D]. 大连: 大连理工大学, 2008.  
YANG P. Levels and characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles from northeastern China [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2008 ( in Chinese) .
- [19] 秦宁, 朱樱, 吴文婧, 等. 多环芳烃在小白洋淀挺水植物中的分布、组成及其影响因素 [J]. 湖泊科学, 2010, 22(1): 49-56.  
QIN N, ZHU Y, WU W J, et al. The distributions, composition and their determining factors of polycyclic aromatic hydrocarbons in emergent macrophytes in Small Baiyangdian Lake [J]. Journal of Lake Sciences, 2010, 22(1): 49-56 ( in Chinese) .
- [20] BARTOLOMÉ ORTEGA A, CALVO GARCIA A, SZEKELY E, et al. Supercritical fluid extraction from saw palmetto berries at a pressure range between 300bar and 450bar [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2017, 120: 132-139.
- [21] ACHTEN C, CHENG S, STRAUB K L, et al. The lack of microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons from coal-rich soils [J]. Environmental Pollution, 2011, 159(2): 623-629.
- [22] 王晓丽, 彭平安, 周国逸. 广州白云山风景区阔叶植物叶片中的多环芳烃 [J]. 生态环境, 2007, 16(6): 1597-1601.  
WANG X L, PENG P A, ZHOU G Y. Polycyclic aromatic hydrocarbons in leaves of broadleaved plants from Baiyun Mountain, Guangzhou [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2007(6): 1597-1601 ( in Chinese) .
- [23] ORECCHIO S. PAHs associated with the leaves of *Quercus ilex* L.: Extraction, GC-MS analysis, distribution and sources Assessment of air quality in the Palermo ( Italy) area [J]. Atmospheric Environment, 2007, 41(38): 8669-8680.
- [24] 马英歌, 孙谦, 景盛翱, 等. 超声萃取结合气相色谱三重四级杆质谱联用法测定 PM<sub>2.5</sub> 大气污染物中多环芳烃含量 [J]. 环境化学, 2015, 34(12): 2327-2329.  
MA Y G, SUN Q, JING S A, et al. Determination of PAHs in PM<sub>2.5</sub> air pollutants by ultrasonic extraction combined with gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry [J]. Environmental Chemistry, 2015, 34(12): 2327-2329 ( in Chinese) .
- [25] 麦麦提斯马义, 帕丽达牙合甫, 韩梦鑫, 等. 2017 年春节前后乌鲁木齐市大气颗粒物中多环芳烃的污染特征、来源分析及健康风险评价 [J]. 环境化学, 2018, 37(11): 2433-2442.  
MAYMAYTI S M Y, PALIDA Y H F, HAN M X, et al. Characteristics, sources apportionment and toxicity assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particulate matters 2017 Chinese New Year in Urumqi [J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(11): 2433-2442 ( in Chinese) .
- [26] 安海龙, 刘庆倩, 曹学慧, 等. 不同 PM<sub>2.5</sub> 污染区常见树种叶片对 PAHs 的吸收特征分析 [J]. 北京林业大学学报, 2016, 38(1): 59-66.  
AN H L, LIU Q Q, CAO X H, et al. Absorption features of PAHs in leaves of common tree species at different PM<sub>2.5</sub> polluted places [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2016, 38(1): 59-66 ( in Chinese) .
- [27] BI X H, SHENG G Y, TAN J H, et al. Phase partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons ( PAHs) in the atmosphere [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2004, 24(1): 101-106.
- [28] TERZAGHI E, ZACCHELLO G, SCACCHI M, et al. Towards more ecologically realistic scenarios of plant uptake modelling for chemicals: PAHs in a small forest [J]. Science of the Total Environment, 2015, 505: 329-337.
- [29] 彭钢, 田大伦, 闫文德, 等. 4 种城市绿化树种叶片 PAHs 含量特征与叶面结构的关系 [J]. 生态学报, 2010, 30(14): 3700-3706.  
PENG G, TIAN D L, YAN W D, et al. Relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons accumulation and surface structure of leaves in four urban street tree species [J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(14): 3700-3706 ( in Chinese) .
- [30] 刘营, 刘敏, 杨毅, 等. 上海市中心城区樟树叶片中多环芳烃的分布及来源辨析 [J]. 中国环境科学, 2014, 34(7): 1855-1862.  
LIU Y, LIU M, YANG Y, et al. Distribution and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Cinnamomum Camphora* leaves in Shanghai urban area [J]. China Environmental Science, 2014, 34(7): 1855-1862 ( in Chinese) .
- [31] DOMINGOS M, BULBOVAS P, CAMARGO C Z, et al. Searching for native tree species and respective potential biomarkers for future assessment of pollution effects on the highly diverse Atlantic Forest in SE-Brazil [J]. Environmental Pollution, 2015, 202: 85-95.
- [32] RIEDERER M, DAISS A, GILBERT N, et al. Semi-volatile organic compounds at the leaf/atmosphere interface: Numerical simulation of dispersal and foliar uptake [J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(375): 1815-1823.
- [33] HOWSAM M, JONES K C, INESON P. PAHs associated with the leaves of three deciduous tree species. II: Uptake during a growing season [J]. Chemosphere, 2001, 44(2): 155-164.