

宋睿, 宋娟娥, 贞照军. 反相色谱-电感耦合等离子体质谱法快速测定大气颗粒物中的无机砷[J]. 环境化学, 2017, 36(1): 198-200.



反相色谱-电感耦合等离子体质谱法快速测定大气颗粒物中的无机砷

宋睿¹ 宋娟娥² 贞照军²

(1. 山西大同大学, 大同, 037009; 2. 安捷伦科技(中国)有限公司, 北京, 100102)

摘要 建立了反相高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术(HPLC-ICPMS)测定大气颗粒物中可溶性总砷和砷形态(砷酸盐、亚砷酸盐、一甲基砷酸、二甲基砷酸和砷甜菜碱)的分析方法. 本方法结合了安捷伦 Zorbax SB-Aq 反相色谱柱快速分离和 ICP-MS 的高灵敏度的特点, 在 4 min 内完成 5 种砷形态化合物的分离和检测. 通过比较盐酸羟氨和磷酸以及不同提取时间的提取效果, 最终选定 1% 磷酸超声萃取 15 min 的最佳实验方案. 使用该方法, 砷形态的加标回收率介于 85.5%—119.2% 之间. 通过测定真实样品发现, 大气颗粒物中的可溶性砷基本为无机砷, 占可溶性总砷比例的 80%—96%.

关键词 HPLC-ICPMS, 砷形态化合物, 快速分离, 可溶性总砷.

在自然界中, 砷元素以许多不同形态的化合物存在, 空气、土壤、沉积物和水中发现的主要砷化物有亚砷酸盐(As(III))、砷酸盐(As(V))、一甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA), 在海产品中则主要以砷甜菜碱(AsB)和砷胆碱(AsC)形式存在. 主要砷化物对大鼠的半致死量 LD₅₀(mg·kg⁻¹)分别为: 亚砷酸盐(As(III))14, 砷酸盐(As(V))20, 一甲基砷酸(MMA)700—1800, 二甲基砷酸(DMA)700—2600, 砷胆碱(AsC)6500, 砷甜菜碱(AsB)>10000. 由此可见, 无机砷的毒性最大, 甲基化砷的毒性较小, 而 AsB、AsC 和砷糖常被认为是无毒的^[1]. 由于各种不同形态的砷毒性大小不同, 因此砷的形态分析越来越被重视. 近年来, 砷形态分析已经被应用于环境、食品、医药等领域, 成为分析工作者、毒理和健康研究者以及法规制定者关注的焦点.

传统的砷形态分离通常采用阴离子交换柱, 实现常见的 5 种砷形态(As(III)、As(V)、MMA、DMA 和 AsB)分析需要 10 min 左右^[2-3], 且该方法使用的流动相条件中阳离子含量(通常称为盐度)较高, 普通的电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)很难耐受如此高盐度, 导致采用该条件进行大批量样品分析时受到局限.

本文建立了砷形态分析的快速方法, 用反相色谱分离技术替代传统的阴离子交换柱分离技术, 使用 Agilent Zorbax SB-Aq 反相色谱柱, 己烷磺酸钠/柠檬酸体系为流动相, 利用烷基磺酸盐与阴离子形式存在的砷化物形成离子对化合物, 这类化合物表现出疏水性而能被反相柱保留并分离. 通过减小进样量而延长色谱柱使用寿命、结合低盐度的流动相、同时配合 ICP-MS 的高灵敏度, 进而实现进样体积小、灵敏度高、分析速度快、适合大批量样品分析的特点.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪; Milli-Q 超纯水系统(Millipore, Element); Agilent 7800/7900 电感耦合等离子体质谱仪; 超声清洗器; 振荡仪.

柠檬酸、己烷磺酸钠、氢氧化钠均为优级纯; 磷酸和硝酸为优级纯, 购自 Sigma 公司; 砷甜菜碱(AsB)、一甲基砷酸(MMA)、二甲基砷酸(DMA)、亚砷酸盐(As(III))、砷酸盐(As(V))的贮备液购自国家标准物质中心, 砷元素标准购自 Agilent 公司.

1.2 仪器的工作参数

色谱条件: Agilent Zorbax SB-Aq 反相色谱柱(4.6×250 mm, 5 Micron); 流动相: 5 mmol·L⁻¹己烷磺酸钠/20 mmol·L⁻¹柠檬酸, 用氢氧化钠调至 pH=4.3; 等度洗脱; 流速 1.2 mL·min⁻¹; 进样量: 5 μL.

ICP-MS 工作条件: 功率: 1500 W; 雾化器: 玻璃同心雾化器; 蠕动泵速率: 0.5 r·min⁻¹; 载气流量: 0.85 L·min⁻¹; 补偿气流量: 0.25 L·min⁻¹; 采样深度: 8 mm; 氦气碰撞反应池模式, 流量: 5 mL·min⁻¹; 同位素: ⁷⁵As(积分时间 1.0 s), ³⁵Cl(积分时间 0.1 s, 形态分析采集该同位素).

1.3 样品前处理

将采集了 24 h 大气颗粒物的样品膜(流量 $1 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$)放置在玻璃板上,用专用取样装置(0.5 cm^2)取 6 cm^2 置于 15 mL 离心管中并加入 3 mL 1%磷酸溶液,将离心管在室温条件下超声萃取 15 min 后,静置后取上清液,用 $0.22 \text{ }\mu\text{m}$ 水相膜过滤后直接进样.用 ICP-MS 测定可溶性总砷的含量,LC-ICPMS 测定各种砷形态的含量.滤液若不能马上检测则应放入 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内保存,以防止形态物质之间的相互转化.如果大气颗粒物含量较低,可增加取样量.

1.4 数据换算公式

ICP-MS 或 LC-ICPMS 检测浓度值为 $x \text{ (ng} \cdot \text{mL}^{-1}\text{)}$, 萃取液体积 $v \text{ (mL)}$, 样品取样量 $m \text{ (cm}^2\text{)}$, 则大气中 As 的质量浓度 $\text{(ng} \cdot \text{m}^{-3}\text{)}$: $[\text{As}] = (xv/m) \times 414/1440$

2 结果及讨论

2.1 提取介质和时间

考察了文献报道的 2 种提取介质(1%盐酸羟氨和 1%磷酸)的提取效率,发现在相同的提取时间下,二者的提取效率相近,但盐酸羟氨的空白背景较高,不利于分析低含量的样品,故选择 1% 磷酸作为本文的提取液.

用 1% 磷酸超声萃取 15 min、30 min、45 min、1 h 和 2 h,实验发现提取时间在 15 min—1 h 间提取效率接近,但提取 2 h 后砷形态发生转化,三价砷转化为五价砷.综合提取率和形态转化的实验结果,本文最终选定超声萃取 15 min.

2.2 ICP-MS 测定可溶性总砷

用 2% 硝酸配制浓度为 0、0.5、2、10、50、200 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 含砷元素的标准溶液,以 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Rh 元素为内标,绘制标准曲线.以 1% 磷酸为样品空白,计算所得的方法检测限为 $0.01 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$.可溶性总砷的含量见表 1.

2.3 HPLC-ICPMS 测定砷形态

2.3.1 标准曲线及检出限

分别用超纯水将 5 种砷的标准储备溶液逐级稀释,配制浓度为 1.0、5.0、10.0、50.0、100.0 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合标准溶液系列.在优化好的实验条件下,采用 Agilent MassHunter 等离子体质谱软件计算各色谱峰的峰面积并自动绘制校准曲线,所得线性相关系数为 0.9995—1.000.图 1 为 $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 混合标准溶液 HPLC-ICPMS 色谱图.

以 HPLC-ICPMS 色谱峰信噪比 S/N 为 3:1 时所对应的浓度计算检出限,在进样量为 $5 \text{ }\mu\text{L}$ 时,As(V)、MMA、As(III)、DMA 和 AsB 对应的检出限(以砷计)分别为 0.078、0.079、0.100、0.180、0.360 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$.

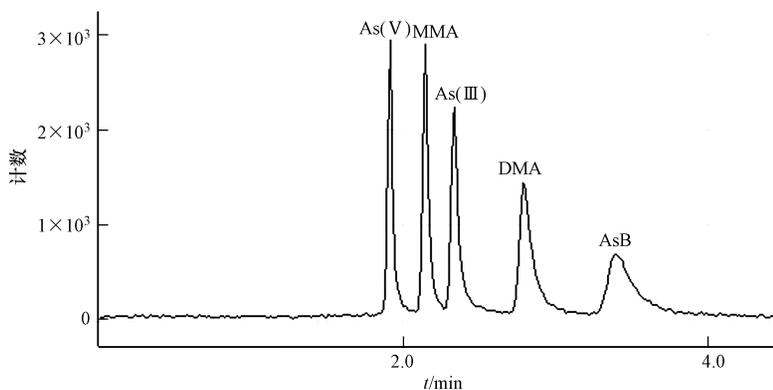


图 1 $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 五种砷形态化合物 HPLC-ICPMS 色谱图

2.3.2 色谱条件的选择与优化

关于色谱条件的选择和优化已在之前的文章中有报道^[4].

2.3.3 实际样品分析

取 18 个实际样品按照本研究给出的方法进行样品前处理和检测,得到原始浓度数据,根据“1.4”节的公式进行换算,得到大气中砷元素和砷形态的质量浓度,结果见表 1.

实验发现,新鲜采集大气颗粒物的样品膜尽快测定,则可以检测到较高含量的三价砷,而当样品膜在 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 长时间保存时(如半年以上),则样品中的部分三价砷将会转化为五价砷(图 2).

2.3.4 加标回收率

选择 2 个样品(13# 和 17#)在样品超声萃取的同时,同步进行加标回收实验,即将样品分成 2 份,一份直接萃取,另一份样品加入相应浓度的砷形态标准溶液后进行超声萃取.从表 2 的加标回收结果可见,三价砷和五价砷的回收率均在 80%—120% 之间,说明该方法稳定,可靠.

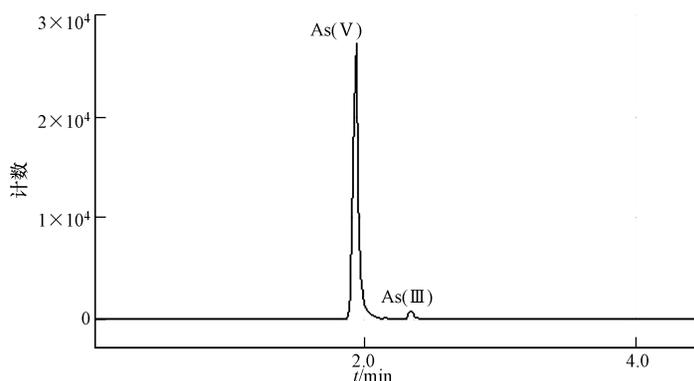


图2 样品砷形态色谱图

表1 样品可溶性总砷和形态砷的测定结果

样品名称	样品提取液浓度/(ng·mL ⁻¹)			大气颗粒物质量浓度/(ng·m ⁻³)			
	As(Ⅲ)	As(V)	总 As	As(Ⅲ)	As(V)	总 As	无机砷/总 As
1#	1.19	118.46	124.11	0.06	5.68	5.95	96%
2#	0.75	37.45	41.21	0.04	1.79	1.97	93%
3#	/	13.82	17.05	/	1.99	2.45	81%
4#	/	19.62	22.01	/	1.88	2.11	89%
5#	/	32.50	40.50	/	4.67	5.82	80%
6#	/	36.29	42.37	/	5.22	6.09	86%
7#	/	48.89	58.06	/	7.03	8.35	84%
8#	/	44.36	52.35	/	6.38	7.52	85%
9#	/	28.86	33.38	/	4.15	4.80	86%
10#	/	37.41	42.61	/	5.38	6.12	88%
11#	/	31.30	37.14	/	4.50	5.34	84%
12#	/	30.00	36.01	/	4.31	5.18	83%
13#	1.54	49.07	57.55	0.22	7.05	8.27	88%
14#	/	36.70	43.14	/	7.91	9.30	85%
15#	/	30.02	35.36	/	4.32	5.08	85%
16#	0.74	70.21	86.94	0.05	5.05	6.25	82%
17#	4.72	102.98	124.68	0.34	7.40	8.96	86%
18#	0.72	60.04	69.93	0.05	4.32	5.03	87%

表2 大气颗粒物砷形态的加标回收结果(ng·mL⁻¹)

	As(Ⅲ)	As(V)		As(Ⅲ)	As(V)
13#	1.54	49.07	17#	4.72	102.98
加标量	2	50	加标量	10	100
加标后测定值	3.92	104.97	加标后测定值	14.0	188.48
回收率%	119.2%	111.8%	回收率%	92.8%	85.5%

3 结论

本实验所测的绝大部分样品大气颗粒物中的砷是毒性较大的无机砷(三价砷和五价砷),以五价砷为主,低毒或无毒的有机砷均未检出.本实验中无机砷占可溶性总砷的比例为80%—96%,可进一步验证该结论.

HPLC-ICPMS方法由于其高选择性、强抗干扰能力等方面优点适合用于可溶性砷形态方面的研究.本文建立了反相色谱的快速砷形态分析方法,与常规的离子交换方法比,将工作效率提高2倍,色谱柱的成本降低一半,为砷形态分析的实验室尤其是大批量样品分析实验室提供了非常好的参考.

参考文献(References)

- [1] 刘桂华,汪丽. HPLC-ICP-MS在紫菜中砷形态分析的应用[J]. 分析测试学报,2002, 21(4):88-90.
- [2] 吕超,刘丽萍,董慧茹,等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术测定水产类膳食中5种砷形态的方法研究[J]. 分析测试学报,2010, 29(5):465-468.
- [3] 林立,陈光,陈玉红. 液相色谱-电感耦合等离子体质谱法联用测定动物性海产品中的无机砷[J]. 环境化学,2009, 28(1):149-152.
- [4] 韩枫,岳兵,米建秋,等. 反相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术快速测定大米中无机砷[J]. 环境化学,2015, 34(1):194-197.