

高效液相色谱 – 原子荧光光谱联用测定水中形态砷

李昌平, 李月娥, 陈邵鹏, 张旭健

(苏州市环境监测中心站, 江苏 苏州 215004)

摘 要: 采用高效液相色谱 – 氢化物发生 – 原子荧光光谱联用技术测定水中亚砷酸盐 [As(III)]、二甲基砷(DMA)、一甲基砷(MMA) 和砷酸盐 [As(V)] 等 4 种形态砷, 以磷酸盐缓冲溶液为流动相, 硼氢化钾为还原剂, 优化了仪器主要技术参数。As(III)、DMA、MMA 和 As(V) 在 7 min 内实现了良好的基线分离, 在 5.00 $\mu\text{g/L}$ ~ 100 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好, 检出限分别为 0.06 $\mu\text{g/L}$ 、0.12 $\mu\text{g/L}$ 、0.09 $\mu\text{g/L}$ 和 0.15 $\mu\text{g/L}$, 实际水样平行测定的相对偏差为 2.7% ~ 6.6%, 加标回收率为 86.9% ~ 101%。

关键词: 砷; 形态分析; 高效液相色谱; 氢化物发生; 原子荧光光谱; 水质

中图分类号: O657.7⁺2; O657.31

文献标识码: B

文章编号: 1006-2009(2011)06-0061-04

Determination of Arsenic Speciation in Water by HPLC – AFS

LI Chang-ping, LI Yue-e, CHEN Shao-peng, ZHANG Xu-jian

(Center of Suzhou Environmental Monitoring, Suzhou, Jiangsu 215004, China)

Abstract: Arsenide including arsenite [As(III)], dimethyl arsenic (DMA), methyl arsenic (MMA) and arsenate [As(V)] in water were determined by coupled techniques of high performance liquid chromatography (HPLC) -hydride generation-atomic fluorescence spectrum. The phosphate buffer solution as mobile phase and potassium borohydride as reducing agent were used in the test to optimize the experimental condition. A good baseline separation was obtained in 7 minutes for As(III), DMA, MMA and As(V). The linearity ranged from 5.00 $\mu\text{g/L}$ to 100 $\mu\text{g/L}$, detection limits 0.06 $\mu\text{g/L}$, 0.12 $\mu\text{g/L}$, 0.09 $\mu\text{g/L}$ and 0.15 $\mu\text{g/L}$ respectively, relative bias of replicate measurements of samples within 2.7% ~ 6.6%, spiked recoveries within 86.9% ~ 101%.

Key words: Arsenic; Speciation analysis; HPLC; Hydride generation; Atomic fluorescence spectrometry; Water quality

砷是一种对人体和生物有害的毒性元素,也是我国实施排放总量控制的指标之一。砷污染主要来源于采矿、冶金、化工、化学制药、农药生产、纺织、玻璃、制革等部门的工业废水^[1]。近代研究表明,砷的毒性大小不仅与含量有关,而且与其价态和形态有关。元素砷和有机砷毒性较小,无机砷毒性较大,而砷的化合物均有剧毒,三价砷化合物比五价砷化合物毒性更强。砷可被微生物、藻类植物甲基化,形成有机砷。以砷化合物的半数致死量 LD₅₀计,其毒性次序依次为 H₃As > As(III) > As(V) > 甲基砷酸(MMA) > 二甲基砷酸(DMA) > 三甲基砷氧(TAMO) > 砷胆碱(AsC) > 砷甜菜

碱(AsB), AsC 和 AsB 常被认为无毒^[2]。元素形态分析对于评价不同砷化合物的生物功能与毒理作用具有重要意义。

砷的形态分析包括砷的提取、不同形态砷的分离及检测技术等 3 个方面。环境样品基体复杂,且各种形态的砷浓度很低,为了提高检测灵敏度,必须对样品进行前处理。近年来,高效液相色谱(HPLC) 分离技术因在常温下可以有效分离不同形态的砷而得到广泛应用,且可与多种检测器联

收稿日期: 2010-12-20; 修订日期: 2011-08-22

作者简介: 李昌平(1973—), 男, 江苏沛县人, 高级工程师, 本科, 从事环境监测与管理工作。

用,比较常见的有石墨炉原子吸收光谱(GFAAS)、氢化物发生-原子荧光光谱(HG-AFS)、电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)等^[3]。倪张林等^[4]、朱敬萍等^[5]采用AFS法测定了藻类中的总砷与无机砷;潘仁凯等^[6]采用AFS法测定了土壤中的As(Ⅲ)和As(Ⅴ);郝春莉等^[7-8]采用快速溶剂萃取、超声溶剂提取和盐酸浸提等3种前处理方法提取,HPLC与ICP-MS联用,分析了鱿鱼丝和中药材中6种形态砷。HG-AFS法选择性好,与ICP-MS灵敏度相当,被广泛应用于形态砷的分析。今采用HPLC-HG-AFS联用技术同时测定水中4种形态砷,获得了满意结果。

1 试验

1.1 方法原理

样品中不同形态的砷在弱酸性磷酸缓冲液流动相条件下,与PRP-X100色谱柱固定相上的离子交换基团相互作用,按照作用力的大小,As(Ⅲ)、DMA、MMA、As(Ⅴ)依次被洗脱^[7,9],与5%盐酸溶液混合后加入20 g/L碱性硼氢化钾溶液,形成砷化氢气体,由载气(高纯氩气)直接导入石英管原子化器中,进而在氩氢火焰中原子化。基态原子受特种空心阴极灯光源的激发,产生原子荧光,通过检测原子荧光的相对强度,利用荧光强度与溶液中不同形态砷含量成正比的关系,计算样品

溶液中相应形态砷的含量。

1.2 主要仪器与试剂

LC-20AT型液相色谱仪,配PRP-X100阴离子交换柱(10 μm ,250 mm $\times$ 4.1 mm),日本岛津公司;AFS-9800型双道原子荧光光度计,北京科创海光仪器有限公司;D3500S-MT型超声波清洗仪,美国Branson公司;超纯水机、真空泵,美国Millipore公司。

砷标准物质:亚砷酸根 $[\text{AsO}_3^{3-}]$, $(1.011 \pm 0.016) \mu\text{mol/g}$ 、砷酸根 $[\text{AsO}_4^{3-}]$, $(0.233 \pm 0.005) \mu\text{mol/g}$ 、一甲基砷 $[\text{CH}_3\text{AsO}_3^-]$, $(0.335 \pm 0.011) \mu\text{mol/g}$ 、二甲基砷 $[\text{C}_2\text{H}_7\text{AsO}_2]$, $(0.706 \pm 0.024) \mu\text{mol/g}$,中国计量科学研究院;流动相(磷酸盐缓冲溶液):分别准确称取磷酸氢二钠0.8954 g和磷酸二氢钾3.026 g溶解于纯水,置于1000 mL容量瓶中,用纯水稀释至刻度,摇匀,使用前经0.45 μm 微孔滤膜抽滤,超声波脱气;硼氢化钾、盐酸、氢氧化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾,优级纯。

1.3 仪器主要技术参数

对液相色谱仪和原子荧光光度计主要技术参数进行比较和优化,标准溶液测试获得了较为理想的荧光强度和稳定性,并实现了各组分之间的良好分离。仪器联用结构示意图见图1。

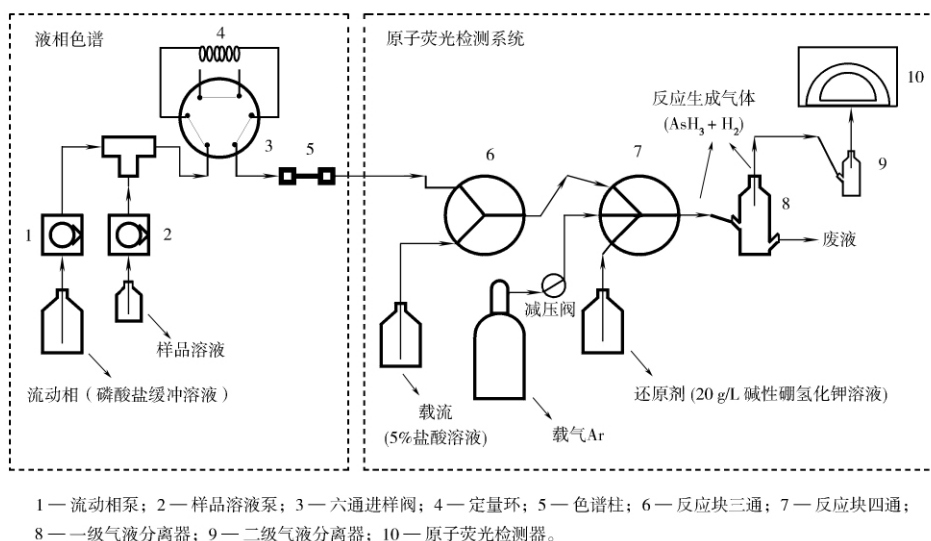


图1 仪器联用结构示意图

Fig.1 Coupled instruments structure

液相色谱分离条件: 流动相为 pH 值 = 5.92 的磷酸盐缓冲溶液, 泵转速 80 r/min, 采用等度洗脱、恒流模式; 样品进样体积 100 μ L; 泵流量 1.0 mL/min。

原子荧光测试条件: 以 5% 盐酸溶液为载流, 加入还原剂 20 g/L 碱性硼氢化钾溶液, 混合产生还原剂 H_2 , 样品分离物与 H_2 生成 AsH_3 气体; 载气流量 300 mL/min; 屏蔽气流量 900 mL/min; 主电流 80 mA; 辅电流 40 mA; 负高压 300 V; 原子化温度 200 $^{\circ}C$; 原子化器高度 10 mm。

2 结果与讨论

2.1 实际样品精密度与加标回收试验

将地下水、地表水和污水样品分别经 0.45 μ m 微孔滤膜抽滤后, 在上述条件下平行测试, 并做加标回收试验, 加标质量浓度为 5.00 μ g/L。结果表明, 平行样相对偏差范围为 2.7% ~ 6.6%; 地下水和地表水样品加标回收率范围为 90.6% ~ 98.8%, 污水样品加标回收率范围为 86.9% ~ 101%, 清洁水样比基体复杂的污水样品加标回收率更为理想。实际样品精密度与加标回收试验结果见表 1。

表 1 实际样品精密度与加标回收试验结果
Table 1 Test results of samples of precision and spiked recovery

样品			As(III)	DMA	MMA	As(V)
地下水	测定值 $\rho/(\mu g \cdot L^{-1})$	1	—	—	—	—
		2	—	—	—	—
	相对偏差 / %		0	0	0	0
	加标回收率 / %		93.3	92.8	95.1	90.6
地表水	测定值 $\rho/(\mu g \cdot L^{-1})$	1	—	—	—	—
		2	—	—	—	—
	相对偏差 / %		0	0	0	0
	加标回收率 / %		98.8	92.6	91.1	95.6
污水 1(设施进口)	测定值 $\rho/(\mu g \cdot L^{-1})$	1	1.83	—	—	2.93
		2	1.77	—	—	2.77
	相对偏差 / %		3.3	0	0	5.6
	加标回收率 / %		96.3	86.9	90.1	87.3
污水 1(设施出口)	测定值 $\rho/(\mu g \cdot L^{-1})$	1	—	—	—	3.98
		2	—	—	—	4.25
	相对偏差 / %		0	0	0	6.6
	加标回收率 / %		101	89.1	88.9	87.4
污水 2(设施出口)	测定值 $\rho/(\mu g \cdot L^{-1})$	1	—	—	—	2.53
		2	—	—	—	2.60
	相对偏差 / %		0	0	0	2.7
	加标回收率 / %		97.1	89.8	90.3	89.3

与水利行业标准^[10]相比, 该方法获得的精密度与准确度测试结果较为良好, 同时也符合地表水和污水监测技术规范要求^[11]。

2.2 校准曲线绘制

分别移取不同体积的 4 种形态砷标准贮备液于 10 mL 容量瓶中, 用超纯水稀释至刻度, 摇匀, 得 1 000 μ g/L 混合标准中间液。

依次移取适量体积的 4 种形态砷混合标准中间液, 配制成 5.00 μ g/L、10.0 μ g/L、20.0 μ g/L、40.0 μ g/L、60.0 μ g/L、80.0 μ g/L、100 μ g/L 混合标准溶液系列, 在上述条件下测试, 以质量浓度为横坐标、峰面积响应值为纵坐标, 绘制校准曲线。4 种形态砷的保留时间与校准曲线见表 2, 分离色谱峰见图 2。

表 2 4 种形态砷的保留时间与校准曲线
Table 2 Retention time and calibration curve
of 4 kinds of arsenide

组分	保留时间 <i>t</i> /min	校准曲线回归方程	相关系数 <i>r</i>
As(Ⅲ)	2.564	$y = 2.44 \times 10^4 x + 8.70 \times 10^4$	0.999 2
DMA	3.150	$y = 2.27 \times 10^4 x + 1.26 \times 10^4$	0.999 9
MMA	3.964	$y = 2.26 \times 10^4 x + 1.79 \times 10^4$	0.999 8
As(Ⅴ)	6.480	$y = 1.47 \times 10^4 x + 801$	0.999 9

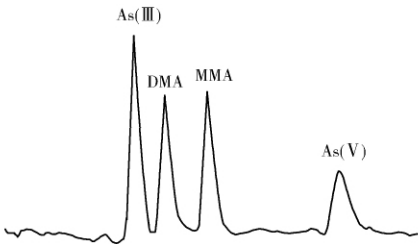


图 2 4 种形态砷的分离色谱峰
Fig. 2 Chromatography of 4 kinds of arsenide

2.3 最低检出限的确定

在上述条件下,将 3.00 μg/L 4 种形态砷混合标准溶液连续进样 7 次,标准偏差(*s*)分别为 As(Ⅲ) 0.02 μg/L、DMA 0.04 μg/L、MMA 0.03 μg/L、As(Ⅴ) 0.05 μg/L。按照公式 $MDL = t_{(n-1,0.99)} \times s$ 计算方法检出限,式中,*n* 为重复样品数; $t_{(n-1,0.99)}$ 为置信度 99%、自由度 (*n* - 1) 时的 *t* 值,当 *n* = 7 时,*t* 值取 3.143。计算得到 4 种形态砷的检出限分别为 As(Ⅲ) 0.06 μg/L、DMA 0.12 μg/L、MMA 0.09 μg/L、As(Ⅴ) 0.15 μg/L。

2.4 空白测试与空白加标试验

采用超纯水进行空白测试,结果表明超纯水中无目标化合物检出。

在超纯水中添加适量混合标准中间液,得 4 种形态砷质量浓度均为 3.00 μg/L 的样品溶液,在上

述条件下测试,空白加标回收率范围为 91.3% ~ 105%,表明准确度良好。

3 结语

采用高效液相色谱 - 氢化物发生 - 原子荧光光谱联用技术测定水中 As(Ⅲ)、DMA、MMA 和 As(Ⅴ),4 种形态砷在 7 min 内实现了良好的基线分离,方法操作简便,灵敏度高,检出限低,稳定性好,精密度与准确度均能满足水质监测要求。

[参考文献]

[1] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版增补版. 北京: 中国环境科学出版社,2002.

[2] 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.

[3] 张华,王英锋,施燕支,等. 高效液相色谱及联用技术在砷形态分析中的应用 [J]. 光谱学与光谱分析,2007,27(2): 386 - 390.

[4] 倪张林,屈明华,丁明. 原子荧光光谱法测定海藻肥中的总砷与无机砷 [J]. 光谱实验室,2010,27(2): 573 - 576.

[5] 朱敬萍,郭远明,顾蓓乔,等. 藻类中砷的形态分析研究 [J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版),2009,28(4): 432 - 434.

[6] 潘仁凯,江映. 原子荧光光谱法测定土壤中的 As(Ⅲ) 和 As(Ⅴ) [J]. 内蒙古石油化工,2010(1): 14 - 15.

[7] 郝春莉,王庚,余晶晶,等. 15 种中药材中砷的形态分析 [J]. 分析测试学报,2009,28(8): 918 - 921.

[8] 郝春莉,曹焯,荆森,等. 鱿鱼丝中砷的形态分析 [J]. 分析科学学报,2007,23(6): 621 - 626.

[9] 徐晶晶,刘淑娟,罗明标,等. 环境样品中砷的形态分析 [J]. 环境监测管理与技术,2009,21(5): 8 - 11.

[10] 中华人民共和国水利部. SL 327.1 - 2005 水质 砷的测定 原子荧光光度法 [S]. 北京: 中国水利水电出版社,2005.

[11] 国家环境保护总局. HJ/T 91 - 2002 地表水和污水监测技术规范 [S]. 北京: 中国环境科学出版社,2002: 27 - 33.

(上接第 60 页)

[参考文献]

[1] EPA 3600C,净化法 [S].

[2] EPA 3620,氟里里柱净化 [S].

[3] EPA 3630,硅胶柱净化 [S].

[4] EPA 3665,硫酸和高锰酸净化 [S].

[5] 解天民. 环境分析化学实验室技术与运营管理 [M]. 北京: 中国环境科学出版社,2008.

[6] 曲健,郑兴宝. 有机氯农药和多氯联苯测定的样品净化方法 [J]. 环境监测管理与技术,2008,20(5): 59 - 61.

[7] 孟凡生,王业耀,陈晶. 我国水环境有机物分析前处理技术 [J]. 环境监测管理与技术,2010,22(4): 15 - 18.