

两种前处理方法对液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定土壤中有机汞的比对研究

王晓雯¹, 王炜²

(1. 辽宁省大连生态环境监测中心, 辽宁 大连 116023; 2. 大连市生态环境事务服务中心, 辽宁 大连 116023)

摘要: 分别采用酸浸提法和碱消解法作为前处理方法, 以液相色谱-电感耦合等离子体质谱法 (HPLC-ICP-MS) 作为测定方法测定土壤中的有机汞 (甲基汞、乙基汞和苯基汞), 对 2 种前处理方法进行比对分析。结果表明, 采用酸浸提法, 3 种有机汞的方法检出限为 0.5 ~ 0.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 甲基汞和乙基汞的加标回收率为 72.4% ~ 86.4%, 相对标准偏差 (RSD) 均 < 9.3%, 苯基汞的回收率均 < 40%, RSD 为 7.4% ~ 10.2%; 采用碱消解法, 3 种有机汞的方法检出限为 0.3 ~ 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 加标回收率为 60.4% ~ 106%, RSD 均 < 8.6%。碱消解法相较于酸浸提法, 具有更高的萃取效率, 更好的回收率和重复性。

关键词: 液相色谱-电感耦合等离子体质谱法; 土壤; 甲基汞; 乙基汞; 苯基汞; 酸浸提法; 碱消解法

中图分类号: X833

文献标志码: B

文章编号: 1674-6732(2023)03-0063-05

Comparison of Two Pretreatment Methods for the Determination of Organic Mercury in Soil by HPLC-ICP-MS

WANG Xiaowen¹, WANG Wei²

(1. Dalian Ecological Environment Monitoring Center of Liaoning Province, Dalian, Liaoning 116023, China; 2. Dalian Ecological Environment Affairs Service Center, Dalian, Liaoning 116023, China)

Abstract: Acid leaching and alkali digestion were used as pretreatment methods, and high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS) was used for determination of organic mercury (methyl mercury, ethyl mercury and phenyl mercury) in soil. The two pretreatment methods were compared and analyzed. The results showed that the detection limits of methyl mercury, ethyl mercury and phenyl mercury by acid leaching were from 0.5 to 0.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the recoveries of methyl mercury and ethyl mercury ranged from 72.4% to 86.4%, the relative standard deviations were all less than 9.3%. The recoveries of phenyl mercury were below 40%, the relative standard deviations ranged from 7.4% to 10.2%. The detection limits of three kinds of organic mercury by alkali digestion were from 0.3 to 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the recoveries ranged from 60.4% to 106%, the relative standard deviations were all less than 8.6%. Compared with acid leaching, alkali digestion shows higher extraction efficiency, better recovery and repeatability.

Key words: HPLC-ICP-MS; Soil; Methyl mercury (MeHg); Ethyl mercury (EtHg); Phenyl mercury (PhHg); Acid leaching; Alkali digestion

汞是一种熔点低、易挥发、毒性较大的金属元素, 随着近代工业的发展, 汞在生产和生活中得到广泛应用。汞主要以无机汞和有机汞 2 种形态存在。无机汞进入水体中的沉积物和土壤时, 在微生物的作用下生成甲基汞、乙基汞和苯基汞等有机

汞, 有机汞具有亲脂性、生物放大效应和生物积累效应, 其毒性往往是无机汞的几百倍。有机汞会通过食物链富集, 可对人体中枢神经系统造成不可逆的损害^[1]。

目前有机汞的分析主要采用气相色谱-质谱

收稿日期: 2022-07-11; 修订日期: 2022-08-11

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项课题 (2011YQ060100)

作者简介: 王晓雯 (1982—), 女, 工程师, 本科, 从事环境监测工作。

法(GC-MS)、液相色谱-原子荧光光谱法(LC-AFS)、高效液相色谱-紫外检测器联用法(HPLC-UV)、高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法(HPLC-ICP-MS)等^[2-4]。其中 HPLC-ICP-MS 法具有检出限低、线性范围宽、干扰较少、前处理简单等优点^[5-6],因此在有机汞分析中被广泛应用。

由于土壤中甲基汞和乙基汞的质量分数较低,通常<总汞质量分数的 1%^[7],导致分析更为困难,所以对前处理方法的灵敏度要求很高。土壤中有机汞常用的前处理方法主要有酸浸提法、碱消解法、微波辅助萃取法、超临界流体萃取法、固相微萃取法、蒸馏法和液液萃取法等^[8]。其中,快速简便的酸浸提法是土壤和沉积物中有机汞分析的主要前处理方法;碱消解法因其可获得较高的萃取效率且用色谱分离时不会出现干扰峰,也成为汞形态分析的一种常用前处理方法^[9]。现采用酸浸提法和碱消解法这 2 种前处理方法,使用 HPLC-ICP-MS 法分析土壤中的有机汞,对比其检出限、准确度与消解效果等,比较 2 种前处理方法对测定结果的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

1.1.1 仪器

7500ce 电感耦合等离子体质谱仪,配备加氧装置(美国安捷伦公司);1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);Zorbax Plus C18 色谱柱(4.6 mm×150 mm×5 μm,美国安捷伦公司);Millipore-Q 超纯水仪(美国密理博公司);FreeZone-2.5 冷冻干燥机(美国 Labconco 公司);CENCE L550 低速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);0.45 μm 醋酸纤维滤膜(杭州特种纸业有限公司)。

1.1.2 试剂与材料

L-半胱氨酸(优级纯)、乙酸铵(优级纯)、氨水(优级纯)、溴化钾(优级纯)、硫酸铜溶液(0.01 g/mL)、硫代硫酸钠(分析纯)、氢氧化钾(优级纯)、盐酸溶液(2 mol/L,优级纯),均购自天津科密欧化学试剂有限公司;甲醇(色谱纯)、二氯甲烷(色谱纯),均购自德国默克公司;甲基汞、乙基汞、苯基汞 3 种标准贮备液(10 μg/mL,爱尔兰 Reagecon 公司);辽宁棕壤[GBW07412(ASA-

1)]、河南黄潮土[GBW07413a(ASA-2a)]、黑龙江黑土[GBW07458(ASA-7)],均购自中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所。

1.2 仪器工作参数

1.2.1 HPLC 参数设置

流动相:A 相为乙酸铵(0.01 mol/L)/L-半胱氨酸(0.12%),氨水调节 pH 值=7.5,经 0.45 μm 滤膜过滤;B 相为甲醇。流动相流速为 1.0 mL/min,进样量为 50 μL。梯度洗脱:0~6 min,A、B 洗脱相比比例为 92%、8%,6~11 min,A、B 洗脱相比比例为 55%、45%,11 min 后,A、B 洗脱相比比例为 92%、8%,总时间为 20 min。

1.2.2 ICP-MS 参数设置

入射功率为 1 500 W;采样深度为 10.0 mm;玻璃同心雾化器;石英雾化室与炬管;雾化室采用半导体控温于-5℃;铂(Pt)采样锥和截取锥;采样模式为时间程序(Time program);同位素为 Hg²⁰²;积分时间为 0.5 s。氧氩混合气比例随洗脱条件变化,A、B 洗脱相比比例为 92%、8%时,氧氩混合气比例为 5%,A、B 洗脱相比比例为 55%、45%时,氧氩混合气比例为 10%。

1.3 前处理方法原理

1.3.1 酸浸提法

试样通过酸性溴化钾溶液浸提,二氯甲烷萃取,乙酸铵/L-半胱氨酸溶液反萃取后,以液相色谱柱分离,电感耦合等离子体质谱仪检测,以保留时间定性,外标法定量。

1.3.2 碱消解法

试样通过氢氧化钾水溶液消解,二氯甲烷萃取,硫代硫酸钠溶液反萃取后,以液相色谱柱分离,电感耦合等离子体质谱仪检测,以保留时间定性,外标法定量。

2 结果与讨论

2.1 校准曲线的绘制

质量浓度为 10 μg/L 的 3 种形态的有机汞色谱图见图 1。由图 1 可见,甲基汞、乙基汞和苯基汞的保留时间依次为 2.260,4.270,9.340 min。用流动相 A 配制质量浓度为 0.50,1.00,5.00,10.0,50.0 μg/L 的混合标准溶液,进行测定。对不同质量浓度的甲基汞、乙基汞和苯基汞所对应的峰面积作图,线性范围和回归方程见表 1。由表 1 可见,甲基汞、乙基汞和苯基汞在 0.50~50.0 μg/L 范围

内呈现良好的线性关系,线性相关系数(r) > 0.999 5。

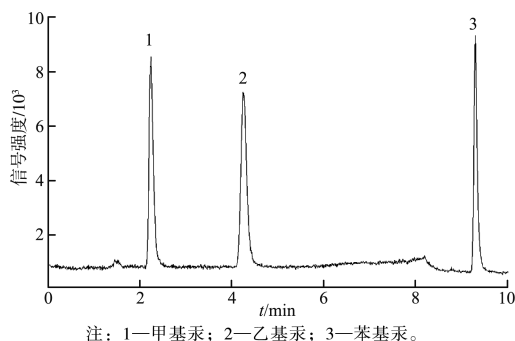


图 1 3 种形态的有机汞色谱图

表 1 3 种有机汞的线性范围和回归方程

汞形态	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	回归方程	相关系数(r)
甲基汞	0.50 ~ 50.0	$y = 45\,681x + 16\,028$	0.999 8
乙基汞	0.50 ~ 50.0	$y = 49\,011x + 21\,903$	0.999 6
苯基汞	0.50 ~ 50.0	$y = 49\,647x - 9\,209.3$	0.999 8

2.2 土壤样品前处理

2.2.1 酸浸提法优化

参考高尔乐等^[10]的研究,采用酸浸提法进行前处理。样品经 $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻干燥并混匀后于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。称取 2.00 g 土壤样品于 50 mL 玻璃离心管中,用 5 mL 去离子水润湿,加入 3 mL 酸性溴化钾溶液 (0.18 g/mL), 1 mL 硫酸铜溶液 (1 mol/L), 振荡过夜。然后加入 6 mL 二氯甲烷, 振荡 60 min, 使得有机汞进入二氯甲烷相。3 500 r/min 低速离心 20 min 后,取出 3 mL 有机相于 10 mL 玻璃离心管中。再加入 1 mL 硫代硫酸钠溶液 (0.01 mol/L), 3 500 r/min 离心 60 min, 使有机汞从二氯甲烷相进入到水相。取 0.6 ~ 0.8 mL 水相于 1 mL 塑料离心管中,采用高速离心机以 12 000 r/min 离心 30 min, 然后直接进样检测。

在实验过程中,发现以下问题:(1) 离心管条件达不到要求。方法要求使用 50 和 10 mL 的玻璃离心管,以及 1 mL 的塑料离心管,且离心管必须具塞。实验室内没有符合要求的离心管。通过实际操作发现,采用 10 mL 的具塞玻璃采样管和 1 mL 的具塞试剂瓶,通过减小样品量的方式同样可以完成前处理。(2) 离心机转速达不到要求。方法要求采用高速离心机以 12 000 r/min 离心 30 min,实

验室内离心机最大转速为 5 800 r/min,为达到更好的消解效果,将离心时间加长至 1 h。(3) 采用振荡萃取法需要振荡过夜,实验用时较长。参考张少庆等^[11]的研究,采用超声萃取法替代振荡萃取法,可大大缩短实验时间。

根据以上问题,对酸浸提法进行优化,样品量从 2.0 g 减少到 0.5 g,使用 10 mL 具塞玻璃采样管替代 50 mL 玻璃离心管,1 mL 的具塞试剂瓶替代塑料离心管;低速离心机 5 000 r/min 离心 60 min 替代高速离心机 12 000 r/min 离心 30 min;采用超声萃取 2 h 替代振荡过夜,超声萃取 30 min 替代振荡 60 min。

2.2.2 碱消解法优化

参考高尔乐等^[6]的研究,采用碱消解法进行前处理。样品均经 $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻干燥并混匀后于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。称取 0.2 g 土壤样品于 50 mL 玻璃离心管中,加入 2 mL 25% 的氢氧化钾水溶液,振荡过夜;然后用移液管 (5 mL) 取 1.5 mL 浓盐酸逐滴加入玻璃离心管中和过量的碱,使 pH 值为 6 ~ 8, 加入 6 mL 二氯甲烷,振荡 60 min,使得有机汞进入有机相。3 500 r/min 离心 20 min 后,取出约 3 mL 二氯甲烷于 10 mL 玻璃离心管中。加入 1 mL 硫代硫酸钠溶液 (0.01 mol/L), 振荡 1 h, 3 500 r/min 离心 30 min, 使有机汞从二氯甲烷相进入到水相。取 0.6 ~ 0.8 mL 水相于 1 mL 塑料离心管中,采用高速离心机 12 000 r/min 离心 30 min, 然后直接进样检测。

由于土壤中有机汞质量分数较低,同时为了便于将 2 种前处理方法进行比较,因此将碱消解法土壤样品的取样量也定为 0.5 g,其他前处理条件的优化方法参考酸浸提法。

2.3 2 种前处理方法的性能指标比对

分批准确称取 0.5 g 不含有机汞的辽宁棕壤样品,按优化后的 2 种方法进行前处理。分 3 个批次进行加标,加标量分别为 0.5, 5.0 和 10.0 ng,每批次对 7 个样品进行分析,计算方法检出限、加标回收率和相对标准偏差 (RSD), 结果见表 2。

由表 2 可见,采用酸浸提法,甲基汞、乙基汞和苯基汞的方法检出限分别为 0.5, 0.6 和 0.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 甲基汞和乙基汞的加标回收率为 72.4% ~ 86.4%, RSD 均 < 9.3%; 苯基汞的加标回收率偏低,均 < 40%, RSD 为 7.4% ~ 10.2%。采用碱消解法,甲基汞、乙基汞和苯基汞的方法检出

限分别为 0.4、0.4 和 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，加标回收率为 61.2% ~ 106%，RSD 均 < 8.6%。说明碱消解法相 较于酸浸提法，具有更高的萃取效率，更好的回收率和重复性。

表 2 土壤中有有机汞的测定与加标回收实验结果 (n = 7)

加标量/ng	有机汞	酸浸提法				碱消解法			
		$\rho(\text{加标})/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率/%	RSD/%	方法检出限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$\rho(\text{加标})/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率/%	RSD/%	方法检出限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
0.5	甲基汞	0.216	86.4	8.9	0.5	0.265	106	8.2	0.4
	乙基汞	0.207	82.8	9.3	0.6	0.245	98.0	8.6	0.4
	苯基汞	0.092	36.8	10.2	0.9	0.185	74.0	6.7	0.3
5.0	甲基汞	1.97	78.8	7.8		2.13	85.2	6.1	
	乙基汞	1.81	72.4	6.7		2.08	83.2	5.6	
	苯基汞	0.816	32.6	9.2		1.62	64.8	5.1	
10.0	甲基汞	3.82	76.4	8.2		4.39	87.8	6.8	
	乙基汞	4.07	81.4	7.4		3.97	79.4	6.6	
	苯基汞	1.76	35.2	9.8		3.06	61.2	7.3	

2.4 不同土壤样品的测定结果比对

选取辽宁棕壤、河南黄潮土和黑龙江黑土 3 种具有代表性的土壤样品，测得所有土样中均不含有甲基汞、乙基汞和苯基汞。对 3 种土壤进行加标，加标量为 5.0 ng，计算加标回收率和 RSD，结果见表 3。由表 3 可见，采用酸浸提法，3 种土壤样品中甲基汞和乙基汞的加标回收率为 72.4% ~

83.7%，RSD 均 < 7.8%，苯基汞的加标回收率均 < 40%，RSD 为 8.5% ~ 9.2%；采用碱消解法，3 种土壤样品中甲基汞、乙基汞和苯基汞的加标回收率为 60.4% ~ 90.4%，RSD 均 < 6.9%。说明碱消解法相较于酸浸提法，具有更高的萃取效率，更好的回收率和重复性。

表 3 不同类型土壤中有有机汞的测定结果

土壤	有机汞	加标量/ ng	酸浸提法			碱消解法		
			$\rho(\text{加标})/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率/%	RSD/%	$\rho(\text{加标})/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率/%	RSD/%
辽宁棕壤	甲基汞	5.0	1.97	78.8	7.8	2.13	85.2	6.1
	乙基汞	5.0	1.81	72.4	6.7	2.08	83.2	5.6
	苯基汞	5.0	0.816	32.6	9.2	1.62	64.8	5.1
河南黄潮土	甲基汞	5.0	0.561	79.6	7.8	2.26	90.4	4.9
	乙基汞	5.0	0.529	83.7	6.2	2.06	82.4	6.7
	苯基汞	5.0	0.788	31.5	8.5	1.63	65.2	6.4
黑龙江黑土	甲基汞	5.0	0.496	74.8	6.9	1.96	78.4	5.3
	乙基汞	5.0	0.546	77.9	7.3	2.18	87.2	6.2
	苯基汞	5.0	0.743	29.7	8.6	1.51	60.4	6.9

3 结语

采用 HPLC-ICP-MS 法测定土壤中的甲基汞、乙基汞和苯基汞。对比不同的前处理方法和土壤样品，采用酸浸提法，甲基汞、乙基汞和苯基汞的方法检出限分别为 0.5、0.6 和 0.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，甲基汞和乙基汞的加标回收率为 72.4% ~ 86.4%，RSD 均 < 9.3%；苯基汞的回收率偏低，均 < 40%，RSD 为 7.4% ~ 10.2%；采用碱消解法，甲基汞、乙基汞和苯基汞的方法检出限分别为 0.4、0.4 和

0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，加标回收率为 61.2% ~ 106%，RSD 均 < 8.6%。用酸浸提法进行前处理，土壤样品中的苯基汞由于强酸的作用，形态发生转化；而用碱消解法进行前处理，土壤样品中汞的稳定性相对较好。碱消解法相较于酸浸提法，具有更高的萃取效率，更好的回收率和重复性。酸浸提法可以作为测定甲基汞和乙基汞的前处理方法，但是在测定苯基汞时，推荐使用碱消解法。

[参考文献]

- [1] 王云,魏复盛,吴燕玉,等. 土壤环境元素化学[M]. 北京:中国环境科学出版社,1995.
- [2] 赵欣,刘贺,武中波. 国内外有关水、土壤、沉积物和食品中烷基汞监测方法的研究进展[J]. 科技创新与应用, 2020(36):107-109,111.
- [3] 许秀艳,朱红霞,于建钊,等. 环境中汞化学形态分析研究进展[J]. 环境化学, 2015, 34(6):1086-1094.
- [4] 史伟玲,杨静,李飞鹏,等. 环境样品中甲基汞测定方法的研究进展[J]. 环境科学与技术,2014,37(120):312-315.
- [5] 王伟,刘景泰,王晓雯. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用测水中有机汞[J]. 中国环境监测,2014,30(6):148-152.
- [6] 高尔乐,何滨,江桂斌,等. 利用碱消解-HPLC-ICP-MS系统测定生物样品中的甲基汞与乙基汞[J]. 环境化学,2009,28(2):310-312.
- [7] 中国环境监测总站,江苏省环境监测中心.《土壤和沉积物甲基汞和乙基汞的测定 吹扫捕集/气相色谱-冷原子荧光光谱法(征求意见稿)》编制说明[Z]. 2020.
- [8] 何滨,江桂斌. 汞形态分析中的前处理技术[J]. 分析测试学报,2002,21(1):89-93.
- [9] 刘景泰,王伟. HPLC-ICP/MS 联用技术在环境有机汞分析中的应用[J]. 环境监测管理与技术,2013,25(3):58-61.
- [10] 高尔乐,何滨,江桂斌,等. 酸浸提-HPLC-ICP-MS系统测定土壤与底泥样品中的甲基汞、乙基汞[J]. 环境化学,2008,27(5):698-700.
- [11] 张少庆,王起超,崔俊涛,等. 超声萃取-冷蒸气-原子荧光光谱法测定沉积物和土壤样品中甲基汞[J]. 理化检验(化学分册),2009,45(11):1273-1275.
- 栏目编辑 周立平
-
- (上接第 47 页)
- [5] 王玉祥,丁金美,杨文武,等. 突发性水环境应急监测中快速定性未知有机污染物及案例分析[J]. 环境监控与预警, 2019,11(3):23-26.
- [6] IRANIFAM M. Analytical applications of chemiluminescence systems assisted by carbon nanostructures[J]. Trends in Analytical Chemistry,2016,80:387-415.
- [7] ZHANG C, LIU Z, LI Y, et al. High sensitivity chemiluminescence enzyme immunoassay for detecting staphylococcal enterotoxin A in multi-matrices[J]. Analytica Chimica Acta, 2013, 796:14-19.
- [8] ZHANG Z. Peroxidase-catalyzed chemiluminescence system and its application in immunoassay[J]. Talanta, 2018, 180: 260-270.
- [9] LIU L R, LIU L Q, CHEN X Q, et al. Development of a highly sensitive chemiluminescence enzyme immunoassay for the determination of Bisphenol A[J]. Advanced Materials Research, 2013,726-731;1283-1286.
- [10] VERDIAN A, FOOLADI E, ROUHBAKHSH Z. Recent progress in the development of recognition bioelements for polychlorinated biphenyls detection: Antibodies and Aptamers[J]. Talanta, 2019,202:123-135.
- [11] KANG J H, KONDO F, KATAYAMA Y. Human exposure to Bisphenol A[J]. Toxicology,2006,226(2-3):79-89.
- [12] CORRALES J, KRISTOFKO L A, STEELE W B, et al. Global assessment of Bisphenol A in the environment: Review and analysis of its occurrence and bioaccumulation[J]. Dose Response, 2015, 13(3):1-29.
- [13] MIAO W, WEI B, YANG R, et al. Highly specific and sensitive detection of bisphenol A in water samples using an enzyme-linked immunosorbent assay employing a novel synthetic antigen[J]. New Journal of Chemistry,2014,38(2):669-675.
- [14] MORENO M J, D'ARIENZO P, MANCLUS J J, et al. Development of monoclonal antibody-based immunoassays for the analysis of bisphenol A in canned vegetables[J]. Journal of Environmental Science and Health Part B,2011,46(6):509-517.
- [15] LONG F, ZHU A, ZHOU X, et al. Highly sensitive and selective optofluidic-based immunosensor for rapid assessment of Bisphenol A leaching risk[J]. Biosensors and Bioelectronics,2014,55:19-25.
- [16] TAJIK S, BEITOLLAHI H, NEJAD F G, et al. Recent advances in electrochemical sensors and biosensors for detecting Bisphenol A[J]. Sensors,2020,20(12):3364.
- [17] YANG Y, LIU S, SHI P, et al. A highly sensitive and selective label-free electrochemical biosensor with a wide range of applications for Bisphenol A detection[J]. Electroanalysis, 2021, 33:1-10.
- [18] WU L, LU X, NIU K, et al. Tyrosinase nanocapsule based nanobiosensor for ultrasensitive and rapid detection of bisphenol A with excellent stability in different application scenarios[J]. Biosensors and Bioelectronics,2020, 165:112407.
- [19] VERMA D, YADAV A K, RATHEE G, et al. Review-prospects of nanomaterial-based biosensors: A smart approach for Bisphenol-A detection in Dental Sealants[J]. Journal of the Electrochemical Society,2022,169(2):027516.
- [20] LI M, HU L, NIU C, et al. A magnetic separation fluorescent aptasensor for highly sensitive detection of Bisphenol A[J]. Sensor Actuators B: Chemical,2018,266:805-811.