

doi:10.3969/j.issn.1003-2029.2020.03.009

液相色谱—原子荧光联用测定海水中无机砷和有机砷

李艳苹, 王翠翠, 刘小骥, 高 艾

(自然资源部天津海水淡化与综合利用研究所, 天津 300192)

摘 要: 本文研究并建立了海水中测定砷形态的液相色谱—原子荧光法, 进行了实验参数流动相浓度、pH、流速的优化。在优化的实验条件下, 采用 Hamilton PRP-X100 分析柱在 6 min 内可以完成三价砷、甲基砷和五价砷 3 种形态的分离、检测。在载流 5% HCl, 还原剂 2% KBH_4 和 0.5% KOH, 进样量 100 μL 条件下, 三价砷、甲基砷和五价砷检出限分别为 0.31 $\mu\text{g/L}$ 、0.52 $\mu\text{g/L}$ 和 0.36 $\mu\text{g/L}$ 。在浓度 2~80 $\mu\text{g/L}$ 范围内, 3 种砷形态均有良好的线性关系, 相关系数均优于 0.999。用本文所建立的方法进行了海水样品中无机砷和有机砷形态的测试, 海水中三价砷、甲基砷的含量较低, 五价砷稍高, 说明海水中砷形态主要以五价砷存在, 当加标量为 5~10 $\mu\text{g/L}$ 时, 加标回收率在 73%~104% 之间。该方法操作前处理简单, 灵敏度高、运行费用低廉, 适用于海水中砷形态的测试。

关键词: 砷; 形态; 海水; 液相色谱—原子荧光

中图分类号: X832

文献标志码: A

文章编号: 1003-2029(2020)03-0062-06

重金属污染是危害最大的环境问题之一。砷是有毒且致癌的元素, 对环境和人类健康都十分有害, 是海洋环境污染监测的重要指标。但元素的有效性、毒性不能简单地取决于其总浓度含量, 而是在很大程度上取决于它的化学形态^[1]。砷包括无机砷和有机砷, 无机砷有三价砷 $\text{As}(\text{III})$ 和五价砷 $\text{As}(\text{V})$, 有机砷主要有一甲基砷 (MMA)、二甲基砷 (DMA)、砷甜菜碱 (AsB)、砷胆碱 (AsC) 和砷糖。一般认为, 无机砷的毒性很大, 有机砷的 MMA 和 DMA 的毒性较小, AsB、AsC 和砷糖无毒^[2-3]。也有报道称, 无机砷形态的毒性是有机砷的 100 倍, 三价砷的毒性是五价砷的 60 倍^[4]。砷元素的不同形态的差异比较大, 因此砷形态的研究日益受到多个领域学者们的重视。

元素形态的分析方法有电化学分析法、光谱法、色谱法、质谱法等, 随着痕量元素形态分析技术的发展, 高选择性的分离技术与高灵敏的检测技术联用显示出很大的应用优势。目前在食品、医药、环境样品等多个领域有很多砷形态的研究^[1,5-13]。也有

一些学者进行了自来水、河水、海水等水环境样品的砷形态测定研究, 如方怀防等^[14]、Tupiti W 等^[15]及 Salaün P 等^[16-17]等分别利用金电极伏安法测定了自来水、河水以及海水中无机砷形态, 采用 Na_2SO_3 还原 $\text{As}(\text{V})$ 为更有活性的 $\text{As}(\text{III})$ 来实现总砷的测定, 然后通过总砷与 $\text{As}(\text{III})$ 之差求出 $\text{As}(\text{V})$ 的含量; 有研究在更负的电势条件下直接测定 $\text{As}(\text{V})$, 无需还原为 $\text{As}(\text{III})$, 在任何 pH 条件均可测定 $\text{As}(\text{III})$ 。伏安法有简单、快速、成本低的优点, 但一般只能进行无机砷形态的测定。氢化物发生技术可使离子态砷选择性地还原为砷化氢或有机衍生物, 与样品基体相分离, 能大大降低基体产生的干扰, 近年来常与原子吸收光谱、原子荧光光谱、等离子体质谱等方法联用进行砷的形态分析。Alp O 等^[18]和张桂香^[19]分别报道了原子荧光测定饮用水和海水中的无机砷形态的方法, 分别采用硫代乙醇酸和硫脲、抗坏血酸还原 $\text{As}(\text{V})$ 为 $\text{As}(\text{III})$, $\text{As}(\text{III})$ 可直接测定, 用差减法求得 $\text{As}(\text{V})$ 含量。潘用树等^[20]用氢化物—原子吸收法测定了海水中的总无机砷、有机砷

收稿日期: 2020-03-27

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目 (K-JBYWF-2017-T14); 天津市重点研发计划资助项目 (19YFZCSN01130)

作者简介: 李艳苹 (1978-), 女, 硕士, 高级工程师, 主要从事重金属分析及研究。E-mail: liping171@sohu.com

MMA 和 DMA,需要外加砷测定 As(III) 等操作,但仍不能同时测出几种砷形态。Nakazato T 等^[21] 研究建立了氢化物结合液相色谱-电感耦合等离子体质谱(LC-ICP-MS)技术,用于海水中 As(III)、As(V) 及 MMA 的测定,但需要配置氢化物发生系统,操作相对复杂,成本相对较高。行业标准《海水中三价砷和五价砷形态分析 原子荧光光谱法》(HY/T 152-2013)规定了测定海水中 As(III) 和 As(V) 的原子荧光光谱法,As(III) 与硼氢化钾溶液反应生成氢化物进行测定,加入硫脲-抗坏血酸将 As(V) 转化为 As(III) 后进行总砷的测定,As(V) 由总砷与 As(III) 差值得出,但该标准方法仅能测定海水中无机砷形态。

虽然目前开展了很多水环境样品中砷形态的研究,但海水中砷形态的研究还比较少,测定方法还不完善,尤其是同时测定无机砷和有机砷形态的方法鲜有报道,因此建立海水中砷形态简便且准确的测定方法有着重要的意义。不仅可为海水污染调查、海洋环境保护提供研究基础和手段,还将为砷形态的迁移转化及海水资源综合利用提供重要参考^[13,19]。本文基于液相色谱-原子荧光联用技术的高选择性、高灵敏性、使用成本较低等优点,结合砷形态的毒性及主要存在形式,主要进行了海水中三价砷、五价砷以及甲基砷形态的测定研究。

1 实验与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:LC-AFS6500 液相色谱-原子荧光形态分析仪(北京海光仪器有限公司);KQ3200B 超声波清洗仪(昆山超声仪器有限公司);Milli-Q 型超纯水仪(美国 Millipore 公司);ST3100 型 pH 计(奥豪斯仪器(常州)有限公司);PAL-06S 型海水盐度计(日本 ATAGO)。

试剂:盐酸(优级纯,天津风船化学试剂科技有限公司);氢氧化钾(优级纯,天津市津科精细化工研究所);硼氢化钾(KBH₄, 优级纯,东方化工厂);氯化钠、氯化钾、氯化钙、六水合氯化镁、七水合硫酸镁、磷酸二氢钾(KH₂PO₄)、十二水合磷酸氢二钠(Na₂HPO₄·12H₂O)(均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司);亚砷酸盐(GBW08666)、砷酸盐(GBW08667)、一甲基砷(GBW08668)和二甲基砷(GBW08669)标准物质均购于国家标准物质研究中心,浓度分别为 75.7 μg/mL, 17.5 μg/mL, 25.1 μg/mL,

52.9 μg/mL。砷单标及混合标准储备溶液分别由上述标准物质配制,然后冷藏储存,临用时稀释。

1.2 仪器操作条件

1.2.1 液相色谱条件及参数 液相泵模式:等度 A 泵;蠕动泵转速:60 r/min;采样频率:10 Hz;流速:1.0 mL/min;进样体积:100 μL。色谱柱:Hamilton PRP-X100 分析柱(250 mm×4.1 mm, 10 μm);柱温:25 °C;流动相:称取 0.610 4 g 十二水合磷酸氢二钠、2.063 g 磷酸二氢钾放入 500 mL 烧杯中,用约 200 mL 高纯水溶解,完全溶解后再用高纯水稀释至刻度,摇匀,然后用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,再经超声脱气后方可使用。

1.2.2 原子荧光条件及参数 砷空心阴极灯(北京有色金属研究院);砷灯主电流:60 mA;砷灯辅电流:30 mA;载气流量:300 mL/min;屏蔽气流量:900 mL/min;负高压:300 V;载流:5% HCl;还原剂:0.5% KOH, 2% KBH₄。

1.3 样品采集与处理

采样器皿为聚乙烯材质,使用前器皿均在硝酸溶液(1+3)浸泡 24 h 以上,并用超纯水洗净。海水样品用 0.45 μm 微孔纤维滤膜过滤,加酸至 pH<2,密封冷藏。

2 测量数据与实验结果

2.1 流动相 pH 的影响

流动相 pH 的不同,会影响砷形态的出峰、保留时间及分离效果。流动相的不同 pH 值对砷形态保留时间的影响如图 1 所示。

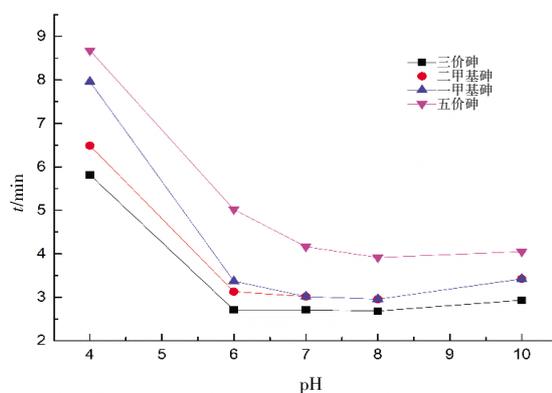


图1 流动相 pH 对砷形态保留时间的影响

从图 1 可以看出,随着 pH 逐渐增大至 7.0 时,三价砷、五价砷、一甲基砷及二甲基砷 4 种形态的保留时间大大缩短,一甲基砷与二甲基砷的保留时间越来越接近;当 pH 从 7.0 增大至 10.0 时,三价砷与

五价砷的保留时间变化不大,但是两种甲基砷的保留时间相吻合,二者色谱峰重叠。综合考虑保留时间、分离效果、流动相 pH 值,以及与无机砷相比,水环境样品中甲基砷含量更低的情况,可选定流动相 pH 为 7.0,进行三价砷、甲基砷(一甲基砷与二甲基砷总量)、五价砷的分离,即可较好地解决海水中无机砷和有机砷的测定问题。

2.2 流动相浓度的影响

采用十二水合磷酸氢二钠和磷酸二氢钾配制流动相,分别配制成含磷酸二氢钾不同浓度的流动相:5 mmol/L,10 mmol/L,15 mmol/L,22 mmol/L,30 mmol/L,在流动相 pH 为 7.0,流速为 1.0 mL/min 条件下,考察流动相的不同浓度对砷形态保留时间的影响,结果如图 2 所示。

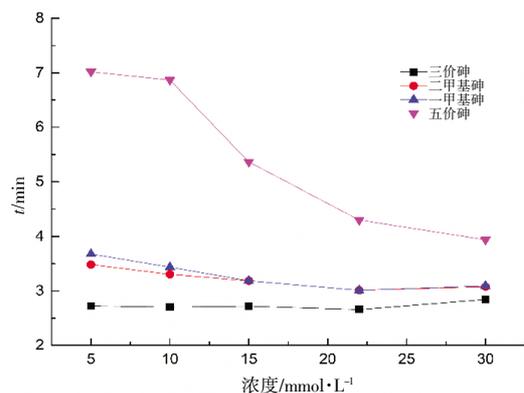


图2 流动相浓度对砷形态保留时间的影响

从图2可以看出,随着流动相浓度逐渐增大,一甲基砷与二甲基砷两种甲基砷的保留时间越来越接近至相吻合,同时甲基砷的保留时间与三价砷、五价砷的保留时间也越来越接近。当流动相浓度为10 mmol/L时,两种甲基砷出峰部分重叠,出现多峰且拖尾严重。当流动相浓度在22~30 mmol/L时,三价砷与甲基砷保留时间越来越接近,两峰不能完全分离。当流动相浓度为22 mmol/L,减小流速至0.4 mL/min时,三价砷才能与甲基砷完全分离。当流动相浓度为15 mmol/L时,三价砷、甲基砷(一甲基砷与二甲基砷总量)及五价砷有较好的分离效果,因此选定流动相浓度为15 mmol/L。

2.3 不同流速的影响

对实际海水加标样品,进行了流速对三价砷、甲基砷以及五价砷的影响研究,如图3所示。

当流速在0.4~1.2 mL/min范围内,随着流速的不断增大,三价砷和甲基砷的保留时间逐渐变小,且二者的保留时间越来越接近,而五价砷的保留时间则大大减小,后略微增大。从保留时间和分离效

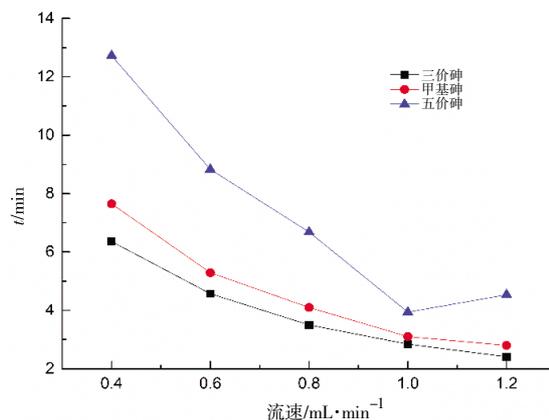


图3 流速对砷形态保留时间的影响

果综合考虑,流速可选择为0.8~1.0 mL/min。

2.4 盐度的影响

为研究海水及浓盐水基体盐度对砷形态测定的影响,配制了砷形态浓度相同,盐度分别为20,30,40,50,60的盐溶液。其中浓盐水的配制如下:称取氯化钠46.94 g、氯化钾1.30 g、氯化钙1.95 g、六水合氯化镁8.71 g、七水合硫酸镁11.88 g,溶于少量纯水中,定容至1000 mL,混匀,相当于每千克海水中的含盐量为60 g,不同盐度的溶液可由此稀释配制,并用盐度计测定。

实验表明,随着盐度的逐渐升高,三价砷的保留时间基本不变,甲基砷与五价砷的保留时间逐渐变小;当盐度在40~60范围内,五价砷的灵敏度随着盐度的升高而下降,峰形变宽,甲基砷与三价砷的峰出现部分重叠,二者分离效果变差,盐度对砷形态分离的影响应该是Cl $^{-}$ 引起的。有文献研究表明,海水中的Na $^{+}$,K $^{+}$,Ca $^{2+}$,Mg $^{2+}$,Mn $^{2+}$,Al $^{3+}$,Cr $^{3+}$,Pb $^{2+}$,Zn $^{2+}$ 和Cu $^{2+}$,均对测定结果无影响,而海水中存在的大量Cl $^{-}$ 对砷形态的分离有干扰,使三价砷、一甲基砷及二甲基砷不能完全分离^[2]。Cl $^{-}$ 在经过阴离子交换色谱柱时,占据了大多离子交换的点位,从而影响砷形态在离子交换柱上的分离。综合考虑灵敏度以及分离效果,测定海水及浓盐水中三价砷、甲基砷以及无机砷时,可将样品适当稀释降低盐度至20~30范围内,采用基体匹配法测定以消除盐度的影响。

2.5 工作曲线及精密度

采用盐度为30的人工海水配制砷形态混合标准系列溶液,浓度分别为2 μ g/L,5 μ g/L,10 μ g/L,20 μ g/L,40 μ g/L,50 μ g/L,80 μ g/L。在上述实验优化的检测条件下,以各浓度色谱峰面积对应标准溶液浓度绘制工作曲线,得到回归方程。砷形态的线性方程、相关系数和检出限见表1。

表1 砷形态的线性方程、相关系数和检出限

砷形态	回归方程	相关系数	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
三价砷	$Y=175.038X+3.34756$	0.9998	0.31
甲基砷	$Y=309.647X-193.859$	0.9998	0.52
五价砷	$Y=73.1173X-16.7833$	0.9994	0.36

由表1可知,在优化的条件下,在2~80 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内,三价砷、甲基砷和五价砷3种砷形态均有良好的线性关系,相关系数均优于0.999,在色谱进样量为100 μL 的条件下,3种砷形态的检出限分别为0.31 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、0.52 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和0.36 $\mu\text{g}/\text{L}$,低于文献报道^[22]的离子色谱—氢化物发生原子荧光法测定海水中砷形态的检出限(1.00~2.34 $\mu\text{g}/\text{L}$),可满足痕量检测的需求。

2.6 海水样品的测定、精密度及加标回收

对实际海水样品(盐度为28~31.6)进行了过滤和精密度及加标回收实验,结果见表2,海水样品及加标样品的砷形态测试谱图见图4。

表2 海水样品中砷形态分析测定结果

砷形态	海水样品	本底值/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加标量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回收率/%	加标量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回收率/%
三价砷	海水1	0.13	5	94.2	10	104.0
	海水2	0.31	5	73.4	10	91.0
	海水3	未检出	5	96.0	10	94.9
甲基砷	海水1	1.34	5	90.4	10	99.2
	海水2	未检出	5	89.6	10	98.3
	海水3	0.97	5	77.8	10	83.4
五价砷	海水1	4.46	5	74.5	10	90.1
	海水2	2.26	5	72.6	10	99.7
	海水3	2.80	5	90.2	10	101.0

从表2中可以看出,海水样品中三价砷、甲基砷的含量较低,五价砷稍高,说明海水中砷形态主要以五价砷存在,与文献报道相一致^[19-20]。对加标前后的海水样品分别进行了测试,并进行了6次重复测定。当加标量为5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时,三价砷、甲基砷和五价

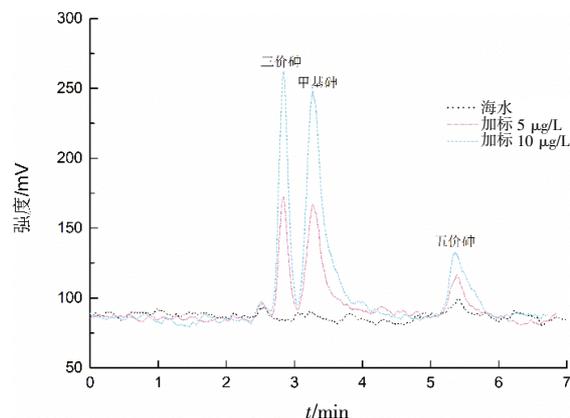


图4 海水及加标样品的测试色谱图

砷的回收率在73%~96%之间,加标量为10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时的回收率在83%~104%之间,加标回收率良好。三价砷、甲基砷和五价砷的保留时间分别为2.837 min, 3.274 min 和 5.347 min,能够在6 min 内得到很好的分离,这与文献报道^[22]的离子色谱—氢化物发生原子荧光法在12 min 内分离测定海水砷形态相比,大大缩短了相应的分离时间,并且相对标准偏差在4.5%~8.6%之间,精密度较好。

3 结论

本文建立了液相色谱—原子荧光联用技术测定海水中无机砷和有机砷形态的方法,在优化的实验条件下,选用Hamilton PRP-X100分析柱,以磷酸氢二钠和磷酸二氢钾为流动相(pH为7.0),采用基体匹配法测定,三价砷、甲基砷和五价砷可在6 min 内得到有效分离。该方法检出限低,精密度高、加标回收率良好,样品不需要复杂的前处理,操作简便,是测定海水及浓盐水中砷形态的有效方法,为开展海洋环境的污染监测及海水中砷形态的迁移转化研究提供了重要手段。

参考文献:

- [1] Xu Z, Hu H Y, Chen D K, et al. Determination of inorganic arsenic speciation in municipal solid waste incineration fly ash by high performance liquid chromatography-hydride generation-atomic fluorescence spectroscopy with phosphoric acid as extracting agent[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, 43(4):490-494.
- [2] Yu H M, Li C H, Tian Y F, et al. Recent developments in determination and speciation of arsenic in environmental and biological samples by atomic spectrometry[J/OL]. Microchemical Journal. 2019, 152:104312.
- [3] Gao Y, Cao X, Yu J J, et al. Determination of arsenic and its species in dry seafood by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2009, 37(12):1738-1742.

- [4] Montoro Leal P, Vereda Alonso E, López Guerrero M M, et al. Speciation analysis of inorganic arsenic by magnetic solid phase extraction on-line with inductively coupled mass spectrometry determination[J]. *Talanta*, 2018, 184:251–259.
- [5] Dos Santos Q O, Silva Junior M M, Lemos V A, et al. An online preconcentration system for speciation analysis of arsenic in seawater by hydride generation flame atomic absorption spectrometry[J]. *Microchemical Journal*, 2018, 143:175–180.
- [6] Cao Y, Duan J N, Guo J M, et al. Pharmacokinetic properties of arsenic species after oral administration of *Sargassum pallidum* extract in rats using an HPLC–HG–AFS method[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014, 96:213–219.
- [7] Yang G D, Zheng J P, Huang H X, et al. Speciation analysis of arsenic in seafood with capillary electrophoresis–UV detection[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2009, 37(4):532–536.
- [8] 林晓娜,戴骐,何卫东,等.微波萃取结合高效液相色谱—电感耦合等离子体串联质谱同步分析水中砷、硒和铬形态[J]. *食品科学*, 2018, 39(14):328–334.
- [9] 刘守廷,蒋天成,李健梅,等. HPLC–AFS 联用测定海产品中砷的形态[J]. *化学分析计量*, 2013, 22(1):11–14.
- [10] Zhang J F, Zhang M M, Zhang S X, et al. Nutrient distribution and structure affect the behavior and speciation of arsenic in coastal waters: A case study in southwestern coast of Laizhou Bay, China[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 146:377–386.
- [11] Akter K F, Chen Z L, Smith L, et al. Speciation of arsenic in ground water samples: A comparative study of CE–UV, HG–AAS and LC–ICP–MS[J]. *Talanta*, 2005, 68(2):406–415.
- [12] Narukawa T, Iwai T, Chiba K. Simultaneous speciation analysis of inorganic arsenic and methylmercury in edible oil by high-performance liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry[J/OL]. *Talanta*. 2020, 210:120646.
- [13] Zhang D Y, Yang S W, Cheng H Y, et al. Speciation of inorganic and organica species of mercury and arsenic in lotus root using high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection in one run [J]. *Talanta*, 2019, 199: 620–627.
- [14] 方怀防,王莎.阳极溶出伏安法测自来水中痕量砷离子的研究[J]. *中南民族大学学报:自然科学版*, 2017, 36(1):16,60.
- [15] Tupiti W, Chandra S, Prasad S. Sensitive inorganic arsenic speciation on a voltammetric platform in environmental water samples[J]. *Microchemical Journal*, 2018, 139:301–305.
- [16] Sala ü n P, Planer–Friedrich B, vanden Berg C M G. Inorganic arsenic speciation in water and seawater by anodic stripping voltammetry with a gold microelectrode[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 585:312–322.
- [17] Salatin P, Gibbon–Walsh K B, Alves G M S, et al. Determination of arsenic and antimony in seawater by voltammetric and chronopotentiometric stripping using a vibrated gold microwire electrode[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 746:53–62.
- [18] Alp O, Tosun G. A rapid on-line non-chromatographic hydride generation atomic fluorescence spectrometry technique for speciation of inorganic arsenic in drinking water[J]. *Food Chemistry*, 2019, 290:10–15.
- [19] 张桂香.原子荧光光谱法测定海水中砷(Ⅲ)和砷(Ⅴ)[J]. *中国井矿盐*, 2004, 35(5):37–40.
- [20] 潘用树,洪华生,庄峙厦.氢化物—原子吸收法测定海水中的有机和无机化学形态[J]. *厦门大学学报*, 1993, 32(4):471–474.
- [21] Nakazato T, Tao H, Taniguchi T, et al. Determination of arsenite, arsenate, and monomethylarsonic acid in seawater by ion-exclusion chromatography combined with inductively coupled plasma mass spectrometry using reaction cell and hydride generation techniques [J]. *Talanta*, 2002, 58:121–132.
- [22] 要志丹,马继平,胡钢强,等.离子色谱—氢化物发生原子荧光法测定海水中 4 种不同形态的砷[J]. *青岛理工大学学报*, 2014, 35(5):58–63.

Determination of Inorganic and Organic Arsenic in Seawater by Liquid Chromatography-Atomic Fluorescence Spectrometry

LI Yan-ping, WANG Cui-cui, LIU Xiao-qi, GAO Ai

Institute of Seawater Desalination and Multipurpose Utilization, MNR, Tianjin, 300192, China

Abstract: A hyphenated technique of liquid chromatography and atomic fluorescence spectrometry was developed for the determination of arsenic species in seawater. The experimental parameters such as mobile phase concentration, pH and flow rate were optimized. Under the optimized experimental conditions, three arsenic species of As (III), As (methyl) and As (V) can be separated and detected in 6 minutes by using Hamilton PRP-X100 analytical column. Under the reaction conditions of carrier flow (5% HCl) and reducer (2% KBH_4 +0.5% KOH), the injection amount was 100 μL , and the detection limits for trivalent arsenic, methyl arsenic and pentavalent arsenic were 0.31 $\mu\text{g/L}$, 0.52 $\mu\text{g/L}$ and 0.36 $\mu\text{g/L}$, respectively. In the range of concentration from 2 $\mu\text{g/L}$ to 80 $\mu\text{g/L}$, there were good linearity among the three arsenic forms, and the linear coefficients were all better than 0.999. The established method was successfully applied to the determination of inorganic and organic arsenic species in seawater samples. The measured concentrations of As (III) and As (methyl) were low relatively, and the concentration of As (V) was slightly higher, which indicated that As (V) was the main form of arsenic in seawater. When the adding standard matter amount were 5 $\mu\text{g/L}$ and 10 $\mu\text{g/L}$, the recoveries were satisfactory (73%~104%). This method proposed has the advantages of simple sample treatment, high sensitivity, and low operation cost. It is suitable for the determination of arsenic species in seawater.

Key words: arsenic; species; seawater; liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry