

HPLC-ICP-MS 法测定农业废水中有机砷与无机砷的方法研究

陕红¹, 袁志华², 刘丹丹¹, 刘亚利¹

(1.农业部农业环境重点实验室,中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所,北京 100081; 2.农业部环境保护科研监测所,天津 300191)

摘要:建立了应用高效液相色谱(HPLC)和电感耦合等离子质谱(ICP-MS)联用技术测定农业水环境样品中三价砷(As^{III})、一甲基砷(MMA)、二甲基砷(DMA)、五价砷(As^V)4种砷形态的分析方法。试验表明,4种砷形态的线性范围宽(1~300 μg·L⁻¹),相关系数(*r*)均大于0.999 0,方法检出限低(0.7~0.9 μg·L⁻¹),精密度好,重复测定7次结果的RSD均小于5%。通过计算加标回收率验证方法的准确性,加标回收率为94%~112%。实际样品的测定结果显示,农田废水中砷的主要存在形态为As(V),其次为As(III)。

关键词:农业废水;有机砷;无机砷;HPLC-ICP-MS

中图分类号:X830.2

文献标志码:A

文章编号:2095-6819(2014)02-0197-05

doi: 10.13254/j.jare.2013.0211

Analysis of Organic and Inorganic Arsenic in Waste Water of Agricultural Environment by High Performance Liquid Chromatography and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

SHAN Hong¹, YUAN Zhi-hua², LIU Dan-dan¹, LIU Ya-li¹

(1.Key Laboratory for Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 2. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometric method was established for analyzing 4 arsenic speciations in water of agricultural environment, including As(III), MMA, DMA and As(V). The results showed that the method had a wide linear range(1~300 μg·L⁻¹) and the linear coefficients were more than 0.999 0. The detection limits were very low (0.7~0.9 μg·L⁻¹). All of the relative standard deviations(RSD) were less than 5%. The recoveries were between 94% and 112%. The analysis results showed that As(V) and As(III) were the main arsenic speciations existed in the waste water of agricultural environment.

Keywords: waste water in agricultural environment; organic arsenic; inorganic arsenic; high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometric

砷是自然界中常见的有毒致癌性元素,为农业水环境中重要的污染元素。其含量虽然低,但其生态污染效应非常严重。环境中含有多种砷的化学形态,砷的毒性、环境效应及在生物体中的积累与其化学形态有关^[1-2]。在环境中砷主要以As^{III}、砷酸盐(As^V)、一

甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA)的形态存在^[3]。不同形态的砷毒性相差甚远。研究发现,无机态砷的毒性大于有机态砷,且无机态砷中的三价砷的毒性是五价砷的60倍,是一甲基砷(如一甲基砷酸和二甲基砷酸)毒性的70倍^[4]。因此检测环境样品中不同形态砷含量对了解砷在环境中的行为,正确评价对环境的影响及设计其分析检测方案和治理方法均具有重要的意义^[5]。

近年来,随着分析化学技术的不断发展,砷的化

收稿日期:2013-11-21

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(BSRF201217)

作者简介:陕红(1982—),女,山西临汾人,博士,助理研究员,主要从事农业环境分析技术研究。E-mail: shanhong@caas.cn

学形态分析方法取得了长足的进步。利用高效分离和精确检测的联用技术成为砷形态分析的主要方法。目前常用的分离技术有溶剂萃取法、氢化物发生法、色谱法。其中溶剂萃取法对不同砷化物需要更换试剂,操作复杂^[9]。氢化物发生法的整个分析过程耗时较长^[7]。色谱法是最近发展起来的可以同时分离无机和有机砷化物的强有力工具,其中液相色谱因具有较好且高效的分离能力而被广泛地应用于环境样品中砷形态的分离研究中^[8-10]。不同形态砷经过分离后通常采用紫外光谱(UV)、电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)、石墨炉原子吸收(GF-AAS)、原子荧光光度计(AFS)等检测器进行分析。然而由于UV灵敏度不高,且和GF-AAS检测时均需要加入反应试剂,造成前处理步骤烦琐耗时;AFS虽然是常见的As检测方法,但检测灵敏度不及ICP-MS,ICP-MS已成为形态分析的主要技术^[11]。上述方法中,液相色谱与ICP-MS联用技术具有分离效果好、检测限低、动态线性范围宽等优点而被认为是最有前景的检测方法,且被广泛地应用于各研究领域^[12]。农田水环境中砷的形态分布状况直接影响着农业土壤及农产品的质量安全,测定其砷形态含量具有重要意义。然而将HPLC-ICP-MS用于农田水环境样品测试方法的研究却很少见,因此有必要对其进行系统研究。

1 材料与方法

1.1 仪器及工作参数

ELAN DRC-II型电感耦合等离子体质谱仪(美国Pekin Elmer公司),RF功率为1200W,等离子气、辅助气、雾化器流量分别为15.0、1.20、0.89 L·min⁻¹,扫描方式为跳峰,采样锥与截取锥的材质为镍;Milli-Q超纯水机(美国Millipore公司);高效液相色谱仪K-501(Lumtech公司);分离柱为离子色谱柱IonPac AS19分析柱(250 mm×4 mm),IonPac AG19保护柱(50 mm×4 mm),均为美国Dionex公司产品。

1.2 试剂

砷形态标准溶液:As(III)、As(V)、MMA、DMA分别用三氧化二砷(Aldrich公司,99.995%)、五氧化二砷(Aldrich公司,99.99%)、一甲基砷酸钠(Fluka公司,99.5%)、二甲基砷酸(Fluka公司,99%)配置而成;流动相:氢氧化钾(德国Merck公司,优级纯);ICP-MS调谐液:介质为1%硝酸,内含10 μg·L⁻¹的Mg、Cu、Rh、Cd、In、Ba、Ce、Pb、U,美国Perkin-Elmer公司产品。

1.3 实际水样的采集

从宁夏不同地区的30个农田水渠中采集水样储存于聚乙烯塑料瓶中密封好。具体采样方法为:直接用容器伸入水面下0.3~0.5 m左右处采集水样500 mL,每个水渠采集7个点,充分混匀后分装到500 mL聚乙烯塑料瓶中,并于采样当日运回实验室并迅速保存在4℃冰箱中。采样后第2 d进行砷形态含量的分析。

1.4 实验方法

1.4.1 校准曲线线性范围、检出限与重现性

配制As(III)、As(V)、MMA、DMA标准溶液,范围为1.0、5.0、10、25、50、100、200、300 μg·L⁻¹,分别注入HPLC-ICP-MS系统,用于作工作曲线并估算检测下限(38法)。使用购自中国计量科学研究院的标准物质GBW08668(MMA)、GBW08669(DMA)、GBW08667(As V)、GBW08666(As III)检测实验方法的准确性,并连续7次注入系统,用以测试系统重现性。

1.4.2 加标回收率

选择一实际废水样品,分别向其加入低、中、高3种不同浓度的砷化合物混合标准,按照所建方法进行分析,测定加标回收率,用于验证本研究建立方法分析实际样品的适用性。

1.4.3 实际样本分析

为了确认基于HPLC-ICP-MS系统的实用性,将采集的实际水样进行分析。将水样直接用0.45 μm的滤膜过滤后注入HPLC-ICP-MS系统,定量方式以所得波峰面积算出各样品中砷形态的含量,用3次样品注射所得平均值表示。

2 结果与讨论

2.1 色谱分离条件的选择

选用IonPac AS19阴离子分析色谱柱(250 mm×4 mm),选择组成简单的氢氧化钾为流动相,对色谱分离条件进行优化。结果表明,流动相氢氧化钾溶液浓度的改变,不影响4种形态砷出峰顺序,但影响其在离子交换柱上的保留时间。浓度越大,分析时间越短;反之,分析时间变长。当采用20 mmol·L⁻¹的氢氧化钾为流动相时,砷的4种形态均可明显分离开,但整个分析时间较长,将近30 min。氢氧化钾浓度为30 mmol·L⁻¹时,分离效果也很好,整个分析时间为12 min。氢氧化钾浓度为40 mmol·L⁻¹时,虽然保留时间缩短,但As(III)、DMA、MMA不能完全分离开(表1)。通过实验条件的优化,选择30 mmol·L⁻¹的氢氧化钾

表 1 流动相浓度对各形态砷保留时间的影响
Table 1 The effect of mobile phase on the retention time

氢氧化钾浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	保留时间/min			
	As(III)	DMA	MMA	As(V)
20	2.916	3.833	7.667	25.124
30	1.958	2.449	3.167	11.167
40	2.141	2.656	3.516	10.556

为流动相。砷形态的标准谱图见图 1。

2.2 方法的线性与检出限

分别配制 1.0、5.0、10、25、50、100、200、300 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 4 种形态砷的混合标准溶液,在已确定的实验方法条件下进行分析测定,4 种形态砷在以上浓度范围内呈线性关系,且相关系数均大于 0.999 0(表 2)。但在实际测定样品过程中,根据样品含量,工作曲线范围通常选择 1.0~100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,方法检出限为 0.7~0.9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3 方法的准确性、重复性及加标回收率

使用购自中国计量科学研究院的标准物质 GBW 08668(MMA)、GBW08669(DMA)、GBW08667(As V)、

GBW08666(As III)检测试验方法的准确性。测定结果见表 3,均在参考值范围之内,说明本研究建立的方法适用。

由于农业水环境样品中很难找到 4 种形态砷都存在的样品,因此,本研究在实际样品中分别加入了不同质量浓度的混合标准物质,制备成模拟的高、中、低 3 个不同砷浓度的水样品。按照建立的实验条件分析各形态砷的含量,平行重复测定 7 次,计算其相对标准偏差(RSD)。结果表明,本研究建立的方法测得的 3 个样品中不同形态砷浓度值的精密度较好,RSD 均小于 5%(表 4)。

表 3 方法的准确性
Table 3 The accuracy of the method

砷形态	测定值/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	参考值/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
As(III)	76.5	75.7±1.2
DMA	51.6	52.9±1.8
MMA	24.9	25.1±0.8
As(V)	17.3	17.5±0.4

表 4 方法的精密度($n=7$)
Table 4 The precision of the method($n=7$)

砷形态	低浓度		中浓度		高浓度	
	测定值/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD/%	测定值/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD/%	测定值/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD/%
As(III)	9.00	3.5	17.4	2.8	52.2	1.2
DMA	15.5	2.5	36.5	1.3	49.9	1.4
MMA	15.4	2.8	25.4	2.3	41.9	1.9
As(V)	10.3	2.7	17.0	2.4	33.2	1.9

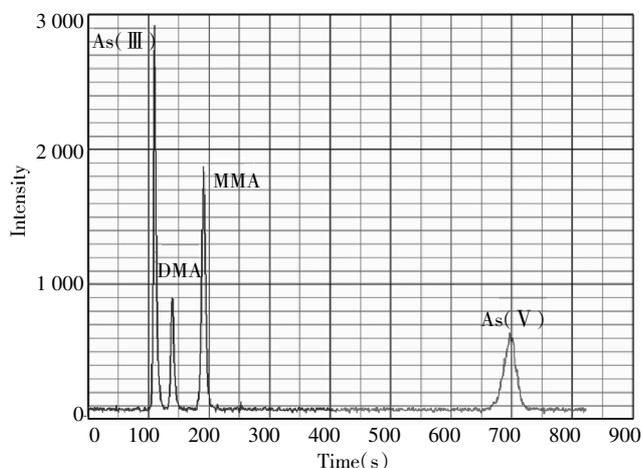


图 1 4 种砷形态的标准色谱图

Figure 1 Standard chromatogram of arsenic species

表 2 方法的线性与检出限
Table 2 The linear and detection limit of the method

砷形态	线性方程	相关系数 r	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
As(III)	$y=1\ 930.639\ 1x-1\ 653.252\ 6$	0.999 8	0.9
DMA	$y=807.891\ 5x-2\ 507.158\ 0$	0.999 4	0.7
MMA	$y=1\ 396.999\ 6x-1\ 604.419\ 6$	0.999 8	0.7
As(V)	$y=1\ 560.269\ 2x-2\ 155.711\ 8$	0.999 3	0.9

注: x 为分析物的浓度, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; y 为分析物的强度值, cps。

选择一份农业废水样品,分别向其加入低、中、高 3 种质量浓度的各形态砷混合标准溶液,按照本研究建立的方法进行测定,计算实际样品的加标回收率。测定结果表明,不同加标水平下 As(III)的加标回收率为 96.1%~112%,DMA 的加标回收率为 95.0%~112%,MMA 的加标回收率为 94.7%~104%,As(V)的加标回收率为 80.0%~109%(表 5)。

2.4 实际样品的测定

采用已建立的方法对实际样品进行测定。结果发现,不同形态砷的出峰时间有一定程度漂移。通过对实际样品加标回收进行 6 次测定,4 种形态砷保留时间的 RSD 均小于 3.5%,且小于 0.2 min,说明该方法可用于实际样品砷形态的定性与定量分析。

已有研究表明,氯可与 ICP-MS 等离子体中氩气

表 5 实际水样品的加标回收率

Table 5 The recovery of standard addition in the water sample

砷形态	样品测定值 $\rho_1/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加标量 $\rho_2/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加标样品测定值 $\rho_3/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加标回收率 $R/\%$
As(Ⅲ)	8.97	10,25,50	19.1~20.1,33.0~34.8,57.6~60.0	101~112,96.1~103,97.2~102
DMA	0	10,25,50	10.6~11.2,25.9~26.8,47.5~48.7	106~112,104~107,95.0~97.4
MMA	0	10,25,50	9.47~9.91,23.9~24.9,50.7~52.2	94.7~99.1,95.6~99.5,101~104
As(Ⅴ)	23.8	10,25,50	31.8~33.0,49.1~51.0,69.1~71.5	80.0~92.0,101~109,90.6~95.4

注:回收率 $R(\%) = \frac{\text{加标样品测定值}(\rho_3) - \text{样品测定值}(\rho_1)}{\text{加标量}(\rho_2)} \times 100$ 。

形成 $^{75}\text{ArCl}$ 分子离子,严重干扰 ^{75}As 的测定,因此实际样品中砷测定的主要干扰为氯。但在样品中氯通常以离子形式存在,当样品通过离子色谱柱时,所有离子均有可能与色谱柱作用,且保留时间可能不同。在此条件下含氯物种与 4 种 As 形态的保留时间不同,有效避免氯对 As 形态的影响^[2]。在本研究中亦采用离子色谱柱,且通过比较 DRC 模式(反应池模式,反应气为甲烷)与标准模式下测定加标回收样品的结果,发现无显著性差异。因此表明采用已建立的方法测定实际样品时,氯未对砷形态分析产生显著的干扰。

宁夏不同地区农田水渠中采集废水样品的测定结果见表 6。结果表明该地区水渠中砷的主要存在形态为 As(Ⅴ),其次为 As(Ⅲ)。DMA 和 MMA 均未被检测到。说明该地区农田水渠受污染的时间不长,生物降解作用还不充分,这与安艳等^[8]关于地表水砷形

态的分析结论相一致。

3 结论

(1)本实验使用 HPLC-ICP-MS 系统分析有机砷和无机砷的 4 种形态,确定了以离子色谱柱(IonPac AS19)为分析柱,30 mmol·L⁻¹ KOH 为流动相等分析条件。该分析方法线性范围宽(1~300 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、检出限低(0.7~0.9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、重复性好,RSD 均小于 5%,且准确度高。

(2)通过样品加标回收及实际农业废水样品的测定,表明该方法在实际样品测定中具有良好的精密密度与灵敏度,避免了氯对测定的干扰,在农业废水中有机砷和无机砷形态的定性定量分析中具有良好的应用前景。

(3)实际样品的测定结果显示,农田废水中砷的主要存在形态为 As(Ⅴ),其次为 As(Ⅲ)。

表 6 实际农业废水样品中 4 种形态砷的含量($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

Table 6 The content of arsenic species in the waste water samples of agricultural environment($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

样品编号	As(Ⅲ)	DMA	MMA	As(Ⅴ)	样品编号	As(Ⅲ)	DMA	MMA	As(Ⅴ)
1	3.00	—	—	4.81	16	4.70	—	—	3.59
2	5.35	—	—	—	17	7.55	—	—	6.34
3	6.21	—	—	7.00	18	1.55	—	—	3.22
4	7.52	—	—	8.55	19	12.4	—	—	13.7
5	5.32	—	—	8.75	20	10.5	—	—	13.5
6	9.56	—	—	10.3	21	6.51	—	—	10.5
7	1.05	—	—	9.44	22	4.83	—	—	11.3
8	5.71	—	—	9.25	23	9.44	—	—	—
9	10.4	—	—	13.4	24	7.12	—	—	10.5
10	7.25	—	—	8.96	25	—	—	—	15.6
11	9.12	—	—	13.2	26	—	—	—	8.59
12	10.2	—	—	15.4	27	5.31	—	—	12.1
13	15.4	—	—	17.4	28	7.55	—	—	15.2
14	10.8	—	—	13.2	29	2.42	—	—	9.75
15	5.11	—	—	15.6	30	4.52	—	—	6.54

注:“—”表示未检出。

参考文献:

- [1] 陈邵鹏,顾海东,秦宏兵.高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术用于环境中元素形态分析的最新进展[J].化学分析计量,2011,20(2):96-100.
CHEN Shao-peng, GU Hai-dong, QIN Hong-bing. Latest development of elemental speciation analysis in environment by HPLC-ICP-MS [J]. *Chemical Analysis and Meterage*, 2011, 20(2):96-100. (in Chinese)
- [2] 刘 锋,石志芳,姜 霞,等.HPLC-ICP-MS 法分析太湖沉积物中砷的形态及分布特征[J].质谱学报,2011,32(3):170-175.
LIU Feng, SHI Zhi-fang, JIANG Xia, et al. Speciation analysis of arsenic and their distribution characteristic in sediments of Taihu Lake by HPLC-ICP-MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2011, 32(3):170-175. (in Chinese)
- [3] Yuan C G, Jiang G B, He B. Evaluation of the extraction methods for arsenic speciation in rice straw, *Oryza sativa* L, and analysis by HPLC-HG-AFS[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2005(2):103-110.
- [4] 金鹏飞,吴学军,邹 定,等.HPLC-ICP-MS 研究炮制对中药砷形态的影响[J].光谱学与光谱分析,2011,3(3):816-819.
JIN Peng-fei, WU Xue-jun, ZOU Ding, et al. Study on arsenic speciation changes in crude and processed traditional Chinese medicines by HPLC-ICP-MS [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2011, 3(3):816-819. (in Chinese)
- [5] 张 琢,王 麟,温晓华,等.地下水中砷形态的检测方法研究[J].水文地质工程地质,2008(增刊):197-202.
ZHANG Zhuo, WANG Lin, WEN Xiao-hua, et al. Studies on the method of arsenic speciation in groundwater [J]. *Hydrogeology and Engineering Geology*, 2008(sup):197-202. (in Chinese)
- [6] Karadjova I B, Leonardo L, Massimo O, et al. Continuous flow hydride generation-atomic fluorescence spectrometric determination and speciation of arsenic in wine[J]. *Spectrochimica Acta Part B*, 2005, 60:816-823.
- [7] 刘演兵, 韩恒斌. 砷形态分析方法研究进展 [J]. 环境科学进展, 1994, 2(4):1-12.
LIU Yan-bing, HAN Heng-bin. Development of methods for arsenic speciation[J]. *Advances in Environmental Science*, 1994, 2(4):1-12. (in Chinese)
- [8] 安 艳,李 贞,王三祥,等. HPLC-ICP-MS 在砷形态分析中应用 [J]. 中国公共卫生,2008,24(12):1416-1418.
AN Yan, LI Zhen, WANG San-xiang, et al. The application of HPLC-ICP-MS in the analysis of arsenic species [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2008, 24(12):1416-1418. (in Chinese)
- [9] Xie R, Johnson W, Spayd S, et al. Arsenic speciation in surface waters and sediments in a contaminated waterway: an IC-ICP-MS and XAS based study [J]. *Applied Geochemistry*, 2003, 18: 1387-1397.
- [10] Gallardo M V, Bohari Y, Astruc A, et al. Speciation analysis of arsenic in environmental solids reference materials by high-performance liquid chromatography-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry following orthophosphoric acid extraction[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 441:257-268.
- [11] 干 宁,李榕生,李天华,等.HPLC 分离-氢化物发生-动态反应池-ICP/MS 联用分析废水中砷形态[J].环境科学学报,2009,29(11):2378-2384.
GAN Ning, LI Rong-sheng, LI Tian-hua, et al. Fractionation of arsenic in waste water samples by HPLC-hydride generation-dynamic reaction cell-inductively couple plasma mass spectrometry[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(11):2378-2384. (in Chinese)
- [12] 高俊海,马迎春,秦延文,等.大伙房水库水体及沉积物砷总量及形态分布特征[J].环境科学学报,2013,33(9):2573-2578.
GAO Jun-hai, MA Ying-chun, QIN Yan-wen, et al. Speciation and distribution characteristics of arsenic in overlying water, pore water and sediments of Dahuofang reservoir [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, 33(9):2573-2578. (in Chinese)