

溶剂萃取—水相乙基化衍生 GC—CVAFS 联用 测定苔藓样品中的甲基汞

仇广乐^{1,2}, 冯新斌¹, 梁 琏³, 商立海^{1,2}, 何天容^{1,2}, 阎海鱼^{1,2},
蒋红梅^{1,2}, 王少锋^{1,2}

(1. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. Cebam Analytical, Inc., Seattle, WA 98103, USA)

摘要: 应用碱消解和溶剂萃取技术, 将苔藓样品中的甲基汞萃取出来并预富集至水相, 而后进行乙基化反应, 最后用气相色谱—冷原子荧光联用系统分离测定。实验结果显示: 方法检出限 0.003 ng/g, 样品加标回收率为 83%~120%, 精密度 RSD 不超过 8.6%。该方法还可以用于其它不同种类的植物和生物样品(例如: 血液、人发等)中痕量甲基汞的分析。

关键词: 苔藓; 甲基汞; 气相色谱—冷原子荧光法

中图分类号: O657.31; O614.243 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2005)01-0029-04

Determination of Methylmercury in Moss by Ethylation—Gas Chromatography— Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry with Solvent Extraction

QIU Guang-le^{1,2}, FENG Xin-bin¹, LIANG Lian³, SHANG Li-hai^{1,2}, HE Tian-rong^{1,2}, YAN Hai-yu^{1,2},
JIANG Hong-mei^{1,2}, WANG Shao-feng^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. Cebam Analytical, Inc., Seattle, WA 98103, USA)

Abstract: An alkaline digestion and a solvent extraction technique were developed for the extraction of methylmercury in moss by aqueous-phase ethylation reaction with sodium tetraethylborate, pre-collection onto a Tenax at room temperature, gas chromatographic separation and cold vapor atomic fluorescence spectrometric detection. The detection limit of this method was below 0.003 ng/g, and matrix spike recoveries of 83%~120% were obtained with relative standard deviations \leq 8.6% for all samples analyzed. This method can also be used to analyze trace methylmercury contents in other biological samples.

Key words: Moss; Methylmercury (MeHg); Gas chromatographic—cold vapor atomic fluorescence spectrometric method (GC—CVAFS)

汞是一种全球污染物^[1], 以无机态和有机态存在于生物圈的各介质中。甲基汞的强亲脂性特点使其具有很强的毒性, 常通过食物链危害人体, 近年来已成为汞污染研究的重点之一。目前国内测定甲基汞的方法很多, 主要有气相色谱—电子捕获法(GC—ECD)^[2~4], 气相色谱—原子吸收法(GC—AAS)^[5~7], 液相色谱—原子荧光法(HPLC—AFS)^[8,9]等。对于痕量甲基汞含量的样品, 如植物样品, 采用这些方法测定时, 往往不能取得理想的效果。因此, 对类似环境样品中甲基汞的测定, 国外多采用水相乙基化衍生法^[10~12], 该方法灵敏度高。目前国内对该方法的应用报道尚少。

苔藓是一种生命力极强的植物, 大多自然条件下都可以生存。同时, 苔藓具有超强的重金属富集能力, 汞矿区苔藓对汞具有很强的富集作用^[13,14], 其总汞含量与周围大气汞浓度呈正相关性^[14], 可以很好地反映大气汞污染程度。矿区苔藓甲基汞分析有助于更加深入认识陆地生态系统汞循环。基于乙基化衍生法分析甲基汞, 本文以苔藓植物为例, 碱消解后, 用有机溶剂萃取分离甲基汞(MeHg), 水相乙基化—Tenax富集, 最后经气相色谱—冷原子荧光法(GC—CVAFS)分离测定。该方法操作简单, 灵敏度高, 大大降低了分析过程中产生的基体干扰。

收稿日期: 2004-01-12 修回日期: 2004-10-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(40173037); 中国科学院海外杰出人才引进计划项目

作者简介: 仇广乐(1971-), 男, 山东沂水人, 博士研究生, Tel: 0851-5891911, E-mail: gk.qiu@163.com

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

气相色谱仪(GC)(15% OV-3, Chromosorb W-AW80/100, 内径 0.5 cm, 长 75 cm, Brooks Rand, 美国); Tenax-TA(Alltech, 20~35 mesh); 石英玻璃管(填充石英棉)、镍铬丝电热线圈; 反应气泡瓶(硼硅玻璃, 体积 200 mL); 冷原子荧光测汞仪(CVAFS)(Tekran 2500 型, 加拿大); 数据处理软件(TL-9900 数据处理工作站)。

氯化甲基汞标准溶液($1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$, Brooks Rand, 美国); $2 \text{ mol}/\text{L}$ HAc-NaAc 缓冲溶液(272 g 醋酸钠和 118 mL 冰醋酸溶于 1.0 L 无汞去离子水中, $\text{pH}=4.9$); $10 \text{ g}/\text{L}$ NaBEt_4 (sodium tetraethyl borate)溶液: 1.0 g NaBEt_4 溶于 100 mL $20 \text{ g}/\text{L}$ KOH 溶液, 摇匀, 分装于 20 个 5 mL 聚四氟乙烯瓶, 冷冻避光保存。

1.2 样品处理

1.2.1 碱消解 准确称取植物样品(干重: 0.1~0.2 g, 湿重: 0.5~0.8 g; m_0)置于 30 mL 聚四氟乙烯瓶中。加入 5 mL $250 \text{ g}/\text{L}$ KOH 甲醇溶液, 置于水浴或烘箱内充分消解 3 h(消解温度约 $75\sim 80^\circ\text{C}$)。消解过程中, 每隔 30 min 摇瓶一次, 使消解液和样品充分作用。消解完成后取出聚四氟乙烯瓶冷却至室温, 缓慢滴加浓 HCl 约 3 mL, 调解溶液至酸性($\text{pH}=1\sim 2$)。同时作空白试验。

1.2.2 有机萃取分离 吸取 10 mL 二氯甲烷并准确称其质量(m_1), 加入瓶中密封充分振荡 30 min; 转移振荡液至离心管离心分离 25 min($3000 \text{ r}/\text{min}$, 20°C); 抽掉上部废液后转移萃取液至 50 mL 聚四氟乙烯瓶内, 准确称出转移量(m_2), 无汞去离子水定容至 45 mL。

1.2.3 反萃取水相富集 置聚四氟乙烯瓶于水浴锅内, 加热气化二氯甲烷; 水温最初控制在 $45\sim 50^\circ\text{C}$, 气化完成后升温至 80°C , 以 $200\sim 300 \text{ mL}/\text{min}$ 的流速吹 N_2 约 8 min, 确保残余的有机相气泡彻底排出, 最后以无汞去离子水定容至 50 mL, 摇匀, 放置备用。此步骤后样品中的甲基汞被抽提富集到水相。

1.3 实验操作

实验操作流程如图 1 所示。首先对样品溶液进行乙基反应, 使溶液中的甲基汞和无机汞转化为易挥发的甲基乙基汞和二乙基汞, 用 Tenax 管富集(图 1 A); 然后加热 Tenax 管释放有机汞进入色谱柱解析分离, 最后高温热解烷基汞为单质汞, 以冷原子荧光测汞仪检测(图 1 B)。

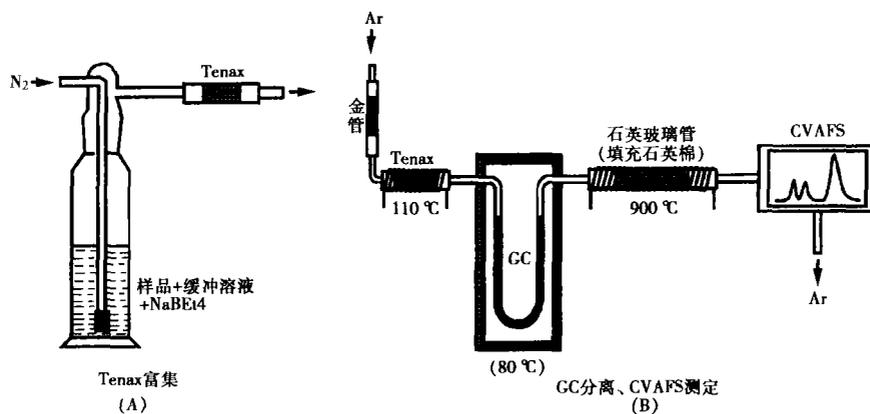


图 1 Tenax 富集、GC-CVAFS 分离测定流程示意图

Fig. 1 Tenax precollection, GC separation, and CVAFS detection system

1.3.1 水相乙基反应 准确称取 15 mL 样品溶液至反应气泡瓶, 以无汞去离子水稀释至 80 mL, 加入 $200 \mu\text{L}$ 缓冲溶液(HAc-NaAc), 使溶液 $\text{pH}=4.3\sim 5$, 随后迅速加入 $100 \mu\text{L}$ 乙基化反应试剂(NaBEt_4), 立即盖上瓶盖, 摇匀, 充分反应 15 min, 反应产物为易挥发的甲基乙基汞和二乙基汞(无机汞乙基化产物)。

1.3.2 Tenax 富集有机汞 水相乙基反应完成后,以 200~300 mL/min 的流速通高纯 N₂ 约 15 min,吹捕反应气泡瓶中的乙基化产物至 Tenax 管;再让 N₂ 通过 Tenax 管 5 min,以去除管内微量水蒸气。

1.3.3 GC-CVAFS 测定 转移 Tenax 管与气相色谱仪连接,以 50 mL/min 的流速通高纯 Ar 后,加热 Tenax 管(20 s 升温至 80~120 °C)释放汞化合物进入 GC 柱,等温色谱解析分离,石英玻璃管内热解甲基乙基汞和二乙基汞为单质汞(热解温度 700~900 °C),最后以 CVAFS 测汞仪检测。

1.3.4 计算结果 分析样品中的甲基汞含量以峰面积计算,公式如下:

$$w(\text{甲基汞, ng/g}) = \frac{\frac{A_s - A_b}{CF \times V_i} \times V_0 \setminus m_2 \times m_1}{m_0 \times 1000} \quad (1)$$

A_s : 分析样品甲基汞峰面积($\mu\text{V} \times \text{s}$); A_b : 空白甲基汞峰面积($\mu\text{V} \times \text{s}$); CF: 校正系数,参见 2.2 节标准曲线方程; m_0 : 称样量(g); V_0 , V_i : 样品定容体积、测定体积(L); m_1 , m_2 : 二氯甲烷初始量、萃取转移量(g)。

2 结果与讨论

2.1 碱消解-酸化处理

植物、人发及鱼等生物机体组织均可以用碱消解进行预处理;研究表明,2 mL 250 g/L KOH 甲醇溶液可以完全释放 0.5 g 干重生物样品中的甲基汞^[12]。高含量的生物样品(例如:鱼样),可以直接吸取碱消解液进行测定;低或超低含量的生物样品,必须抽提萃取后才能测定,这样可以消除分析过程中,因加大测定量而引起的基体干扰。原则上在酸性条件下,随 CH₂Cl₂ 与 KOH 甲醇溶液比率增加,甲基汞的萃取率升高。实验表明,当溶液 pH=1~2 且 CH₂Cl₂-KOH 与 CH₃OH 体积比为 3:1 时,甲基汞的萃取率接近 100%^[12]。

2.2 标准曲线与检出限

取 50 μL 质量浓度 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 甲基汞标准溶液,加入到 50 mL 含 0.5%(φ)冰醋酸与 0.2%(φ) HCl 的混合溶液,配制 1 ng/mL 甲基汞工作标准溶液。吸取 0、50、100、150、200 μL 所配工作标准液分置于反应气泡瓶,按上述实验操作步骤分别进行测定。以峰面积为纵坐标,甲基汞量(pg)为横坐标,制作标准曲线,计算回归直线方程为: $Y=30.2328 X$ (Y : 甲基汞峰面积, $\mu\text{V} \times \text{s}$; X : 甲基汞的绝对量, pg),令校正系数 $CF=30.2328$ 相关系数 $r=0.9998$ 。该测定系统的绝对检出限为 0.6 pg ,若称 0.2 g 干重样品消解、萃取,最后定容至 50 mL,取 45 mL 样品进行测定,则该方法的检出限为 0.003 ng/g 。

2.3 苔藓样品的测定

实验样品为自然生长于贵州万山汞矿区岩石表面的苔藓,其供给营养主要来源于大气沉降。苔藓采集后,收集根部以上部分,以去离子水洗脱表面异物,室温下风干备用。分别称取 0.1~0.2 g 干重样,按照上述样品处理过程消解、萃取及反萃取。取 15 mL 样品溶液按照同样的实验操作步骤进行测定。3 种汞化合物的分离色谱图见图 2, A 与 B 为不同苔藓样品的分离色谱图,均包含了 3 个峰,依次代表: Hg^0 、 MeHg 和 Hg^{2+} ^[15]。15 个苔藓样品分析测定结果显示,甲基汞的最低含量 0.21 ng/g ,最高含量 13.94 ng/g ,部分苔藓样品中甲基汞含量见表 1。

2.4 精密度与准确度

实验过程中,分别对已知甲基汞含量的苔藓样品加入一定量的甲基汞标准溶液,按照上述样品处理过程和实验操作步骤做加标回收实验,共分 3 组,实验测定结果列于表 2。可以看出,该方法的加标回收率为 83%~120%,平均回收率为 102%。

同时,对不同苔藓样品进行 3 次或 2 次重复测定,结果见表 2,相对标准偏差不超过 8.6%。

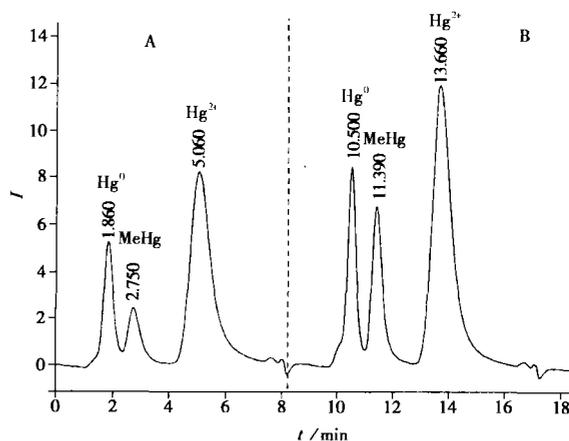


图 2 汞化合物的分离色谱图
Fig. 2 Chromatograms of mercury compounds

表 1 苔藓样品中甲基汞的含量(ng/g)

Table 1 The methylmercury contents in moss samples(ng/g)

Found	WS - 1	WS - 2	WS - 3	WS - 4	WS - 5
1	0.25	0.77	1.07	11.52	6.07
2	0.24	0.67	0.92	11.04	5.98
3	0.27	0.79	1.04	—	—
Mean	0.25	0.74	1.01	11.28	6.02
SD	0.014	0.064	0.081	—	—
RSD $s/\%$	5.6	8.0	8.6	—	—

表 2 苔藓样品中甲基汞测定的加标回收实验结果

Table 2 Recoveries of methylmercury in spiked moss samples

Group ID	Original m_0/pg	Added m_1/pg	Found m_t/pg	Recovery $R/\%$
No. 1	1367	1000	2420	105
	1475	1000	2305	83
	1307	1000	2505	120
No. 2	2257	1000	3450	119
	2536	1000	3437	90
	2282	1000	3272	99
No. 3	2728	2000	4854	106
	1477	2000	3384	95

参考文献:

- [1] LINDQVIST O. Special issue of first international on mercury as a global pollutant[J]. Water Air and Soil Pollution, 1991, 56: 1.
- [2] 何滨, 江桂斌. 汞形态分析的前处理技术[J]. 分析测试学报, 2002, 21(1): 89-94.
- [3] 王书海. 巯基纱布旋转富集—气相色谱法测定沉积物中的甲基汞[J]. 分析化学, 1985, (13): 58-60.
- [4] 刘现明, 谢立国. 苯萃取、气相色谱法测定沉积物中的甲基汞[J]. 海洋环境科学, 1996, 15(2): 32-37.
- [5] 梁淑轩, 庞秀言, 孙汉文. 超短柱气相色谱与原子吸收联用技术的优化及其在甲基汞形态分析中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12(3): 262-263.
- [6] 何滨, 江桂斌. 固相微萃取毛细管气相色谱、原子吸收联用测定农田土壤中的甲基汞和乙基汞[J]. 岩矿测试, 1999, 18(4): 259-262.
- [7] 刘毅刚. 应用 GC-AAS 联用系统测定甲基汞[J]. 中国公共卫生, 1997, 13(5): 309-310.
- [8] 殷学锋, 徐青, 徐秀珠. 汞的形态分析研究: (I) 萃取、液相色谱分离测定不同形态汞[J]. 分析化学, 1995, 23(10): 1168-1171.
- [9] 徐青, 殷学锋, 李世彬. 汞的形态分析研究: (II) 固相萃取预富集、液相色谱分离测定不同形态的有机汞[J]. 分析化学, 1995, 23(11): 1305-1307.
- [10] LIANG L, BLOOM N S, HORVAT M. Simultaneous determination of mercury speciation in biological materials by GC/CVAFS after ethylation and room-temperature precollection[J]. Clinical Chemistry, 1994, 40(4): 602-607.
- [11] LIANG L, HORVAT M, BLOOM N S. An improved speciation method for mercury by GC/CVAFS after aqueous phase ethylation and room temperature precollection[J]. Talanta, 1994, 41(3): 371-379.
- [12] LIANG L, HORVAT M, CERNICHIARI E, *et al.* Simple solvent extraction technique for elimination of matrix interferences in the determination of methylmercury in environmental and biological samples by ethylation—gas chromatography—cold vapor atomic fluorescence spectrometry[J]. Talanta, 1996, 43: 1883-1888.
- [13] 丁振华, 王文华, 瞿丽雅, 等. 贵州万山汞矿区汞的环境污染及对生态系统的影响[J]. 环境科学, 2004, 25(2): 111-114.
- [14] QIU G L, FENG X B, WANG S F, *et al.* Mercury and methylmercury in riparian soil, sediments, mine-waste calcines, and moss from abandoned Hg mines in east Guizhou province, southwest China[J]. Applied Geochemistry(in press).
- [15] EPA, Method 1630. Methylmercury in water by distillation, aqueous ethylation, purge and trap, and CVAFS[S]. U.S. Environmental protection agency office of water, 2001, 1-41.