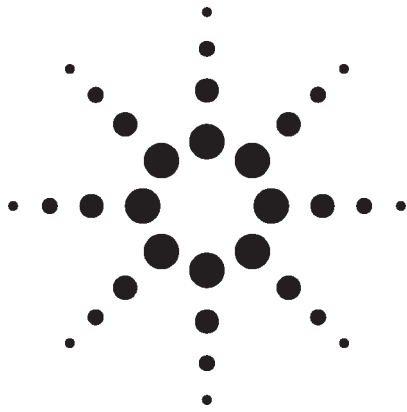


使用 HPLC-ICP-MS 测定水和土壤中的甲基汞应用



环境保护

作者

陈登云 安捷伦科技（中国）有限公司
中国北京，邮编 100022

荆淼、王小如 国家海洋局第一海洋研究所
中国青岛，邮编 266061

摘要

本应用摘要描述了用于分离和测定甲基汞和乙基汞的方法，该方法基于高效液相色谱 (HPLC)/电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 联用系统。汞的化学形态不同毒性不同，因此将汞元素从烷基化形式分离出即可提供重要信息，了解样品的实际毒性。HPLC-ICP-MS 方法可用于分析水和土壤样品。该方法对于水中 MeHg、EtHg 和 Hg^{2+} 的检测限低于 10 ng/L，而对于土壤样品中的汞化合物，回收率在 80% 至 120% 之间。

前言

重金属是天然水中最主要的污染物。在各类污染物中，汞 (Hg) 因其毒性以及在食物链中可富集，尤其受关注。整个生态系统中，包括空气、水、土壤和生物体，都含有痕量的汞。这种痕量元素的不同物理和化学形式具有显著不同的性质 [1]。众所周知，汞的毒性高度依赖于其化学形式，无机汞和有机汞毒性不同。甲基汞 (MeHg) 是环境和生物材料中最常见到的有机汞化合物，也是毒性最大的，而乙基汞 (EtHg)

和苯基汞则在环境中很罕见。MeHg 的毒性比无机汞化合物的毒性要强 10-100 倍 [2, 3]，接触一定量的 MeHg 就会导致神经疾病 [4]。因为具有较高的脂溶性，所以 MeHg 可以透过血脑屏障并且易于扩散入细胞膜 [5]。由于胎儿的大脑处于快速发育期，因此极易受到伤害。汞的主要来源是发电和其它工业活动的废气排放。一旦进入环境，生物活动通常会将汞甲基化为 MeHg，有时也会生成二甲基汞。鱼类和其他海产品是人摄入 MeHg 的主要来源，所以孕妇应控制某些鱼类的摄入量。最近，FAO/WHO 食品添加剂联合专家委员会 (JECFA) 建议，MeHg 的暂定每周耐受摄入量 (PTWI) 由每周每千克体重 3.3 μg 降至每周每千克体重 1.6 μg 。见表 1。



Agilent Technologies

表 1. 食品中 MeHg 的规定含量 (PTWI)

权威机构	MeHg ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)
联合国粮农组织	1.6
世界卫生组织 (WHO)	1.6

PTWI = 暂定每周最大摄入量。

“中国城镇污水处理厂污染物排放标准 (GB 18918-2002)”规定 MeHg 的含量水平为“检测不到”，即低于建议方法的检测限 (DL) (10 ng/L)[6]。

有几种方法可以测定环境样品中的总汞含量，但是同时测定无机汞和有机汞却并非易事。这是因为通常 MeHg 的浓度远低于无机汞。最常用的汞形态分析方法是结合汞特异性检测器（荧光、光度或其它的元素检测器）的气相色谱 (GC) 或 HPLC。天然水中汞的浓度很低，因此需要处理的样品体积非常大。还需要进行预浓缩步骤，因为目标物检测限经常低于所用检测器的灵敏度。

在中国，测定 MeHg 的建议方法 (GB/T14204-93) 使用配有电子捕获检测器 (ECD) 的气相色谱。这种方法的局限性包括

- 方法检测限 (MDL) 为 10 ng/L，但富集过程很复杂
- 不是汞元素特异性的检测方法
- 易受干扰，从而导致假阳性结果或者低回收率

本研究的目的是通过将 HPLC 与 ICP-MS 联用，开发一种灵敏且特异性的 MeHg 分析方法——见图 1。

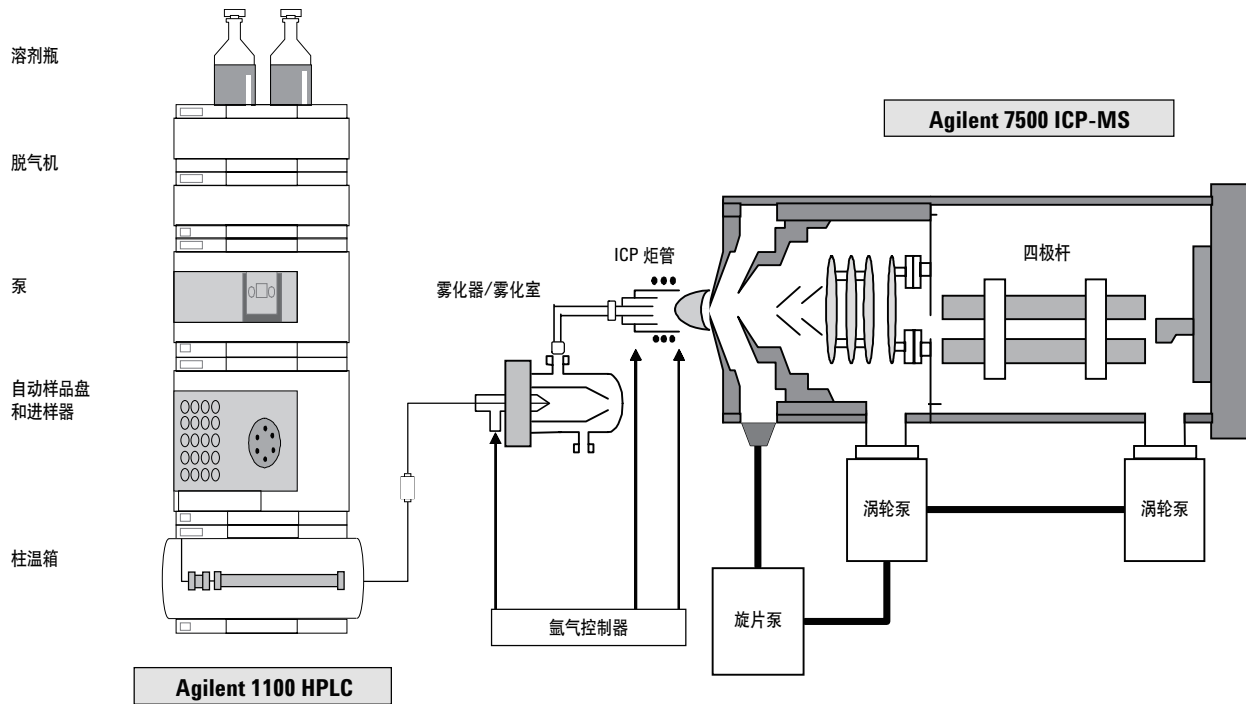


图 1. Agilent 1100 HPLC 示意图。

仪器

Agilent 1100 HPLC 通过 Agilent HPLC-ICP-MS 接口与 Agilent 7500a 连接。选择 PEEK 20 μL 、100 μL 和 1000 μL 取样环。HPLC 和 ICP-MS 的操作参数在表 2a 和 2b 中列出。

表 2a. HPLC 的工作参数

色谱柱	ZORBAX Eclipse XDB-C18, 2.1 mm 内径 \times 50 mm, 5 μm
流动相	0.06 mol/L 乙酸铵, 5% v/v 甲醇, 0.1% 2-巯基乙醇, pH = 6.8
流速	0.4 mL/min
进样量	100 μL

表 2b. Agilent 7500a ICP-MS 的工作参数

射频功率	1550 W
喷雾器	PFA 同心 100 $\mu\text{L}/\text{min}$
雾化室	石英, Scott 双通道, 冷却至 $-5\text{ }^\circ\text{C}$
炬管	单片 Fassel 石英, 2.5 mm 进样器
取样深度	4.5 mm
载气流速	0.75 L/min
尾吹气流速	0.40 L/min

稳定性与灵敏度

为了监测仪器的稳定性, 向甲醇洗脱液中加入 1.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 铋 (Bi) 作为内标 (ISTD)。通过优化 Bi 信号而调试 7500a, 获得最高的灵敏度。在 10 个小时的测试中, 内标的 RSD 小于 5%。因为漂移降至最低, 所以无需进行内标校正。实际分析中不使用 Bi 或任何其它内标。

HPLC 色谱柱

为了得到最佳结果, 用泵以 0.4 mL/分钟抽入 HPLC 级甲醇至少 2 小时来对 HPLC 色谱柱 (ZORBAX Eclipse XDB-C18, 2.1 mm 内径 \times 50 mm, 5 μm) 进行预调, 然后抽入洗脱液 (流速相同) 至少半小时进行调节。如果没有这个调节过程, 系统中的污染物将影响无机汞, 使回收率明显降低或出现峰分裂。

结果与讨论

使用标准溶液进行色谱分离

使用表 2a 和表 2b 中所述的操作条件, 将混合了汞化合物标准品的纯水溶液注入 HPLC。得到的总离子色谱 (TIC) 表明目标物分离良好。见图 2。

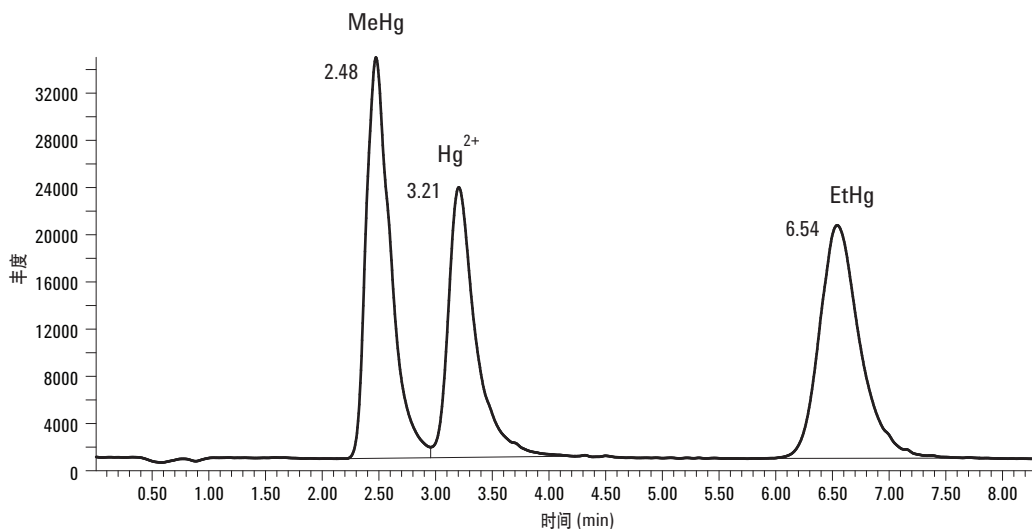


图 2. 三种混合的汞化合物标准品的纯水溶液的 HPLC-ICP-MS TIC: MeHg 2.48 min, Hg²⁺ 3.21 min, 而 EtHg 为 6.54 min, 使用 100 μL 进样环。各 1.0 ppb。

表 3. 用 HPLC-ICP-MS 测定的汞化合物形态的积分结果

保留时间 (min)	化合物	汞浓度 (µg/L)	峰面积
2.48	MeHg	1.0	5.09E+06
3.21	Hg ²⁺	0.8	3.87E+06
6.54	EtHg	1.0	4.91E+06

检测效率

因为每种汞化合物的加标浓度均为 1.0 µg/L，所以三种化合物形态的峰面积相似（见表 3）。细微的差别可能源于标准品的纯度或者标准品制备过程所导致的误差。

HPLC-ICP-MS 系统的一个优势是无论化合物的化学结构如何，氙等离子体都能分解元素并将其离子化。信号与初始结构无关称为化合物非依赖性，由此可以基于汞的摩尔浓度进行校正（化合物非依赖性校正 (CIC)）。对于所有确定的形态，得到的结果都相当准确，即使化合物未被识别（未知化合物）。

线性度

如图 3 所示，将样品稀释 100 倍时（对于 MeHg 和 EtHg 是 10 ng/L，对于 Hg²⁺ 是 8 ng/L），仍然可以测量出汞化合物。保留时间 (RT) 也相当稳定。RT 为 1.35 分钟的小峰是柱污染产生的。如果用甲醇清洗色谱柱就不会出现这个峰。

图 3 的色谱图显示，汞化合物的 MDL 低于 10 ng/L。如果使用较高纯度的试剂解决洗脱液污染的问题，则可以实现亚 ng/L 级的 MDL。

稀释混合的汞化合物储备液（对于纯水中的 MeHg 和 EtHg，汞浓度为 1.0 µg/mL，对于纯水中的 Hg²⁺，汞浓度为 0.8 µg/mL），制备浓度从 10 ng/L 到 100 µg/L 的一系列校正标准品。始终使用 20 µL 进样环，但 10 ng/L 的数据除外，这是使用 100 µL 进样环得到的结果。将三种混合的汞化合物的不同浓度水平积分得到峰面积。使用 HPLC-ICP-MS 方法进行汞化合物形态分析的校正曲线的线性范围（表 4 和图 4）至少为 4 个数量级。这个线性范围覆盖了预计的实际样品水平，因此本方法适用于直接测定水样品而无需使用复杂的预浓缩过程。

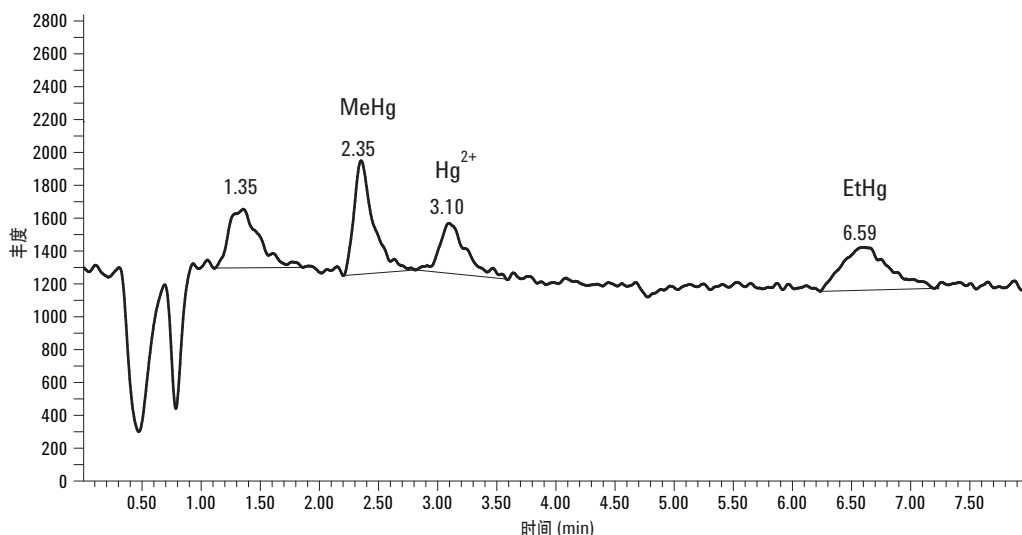


图 3. 10 ng/L 汞化合物标准品的纯水溶液的 HPLC-ICP-MS TIC。（污染物 1.35 min，MeHg 2.35 min，Hg²⁺ 3.10 min，而 EtHg 为 6.59 min，使用 100 µL 进样环）

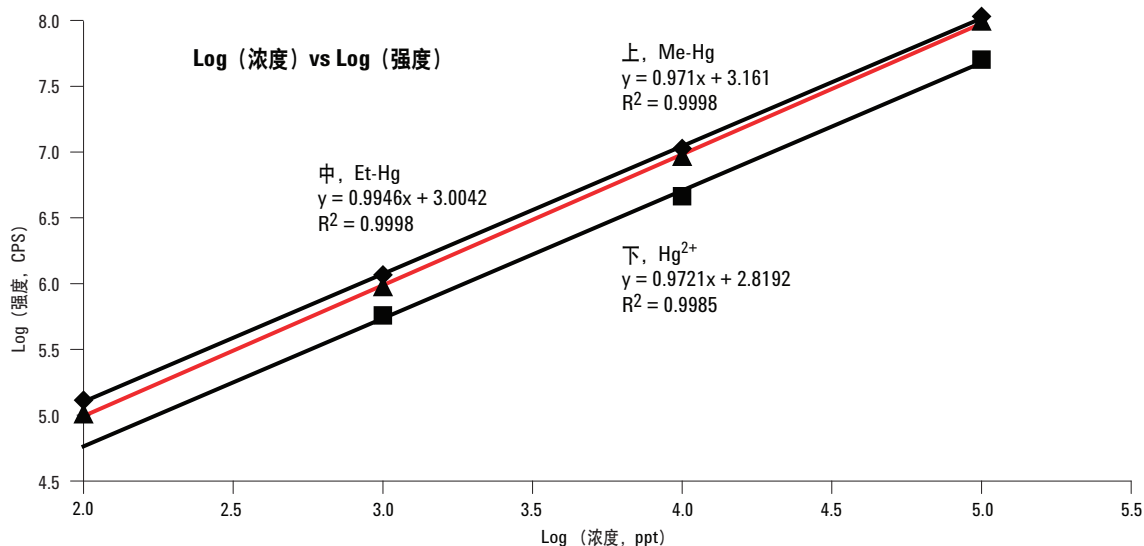


图 4. MeHg、Hg²⁺ 和 EtHg 的校正曲线。

表 4. 用 HPLC-ICP-MS 测定的不同浓度汞化合物形态的峰面积积分 (Hg²⁺ 浓度为所示数值的 80%)

浓度 (ng/L)	MeHg	Hg ²⁺	EtHg
100000	1.07E+08	5.03E+07	9.83E+07
10000	1.06E+07	4.61E+06	9.24E+06
1000	1.17E+06	5.72E+05	9.44E+05
100	1.30E+05	1.23E+05	1.02E+05
10	5.86E+04	3.55E+04	5.86E+04

100 ng/L 的 MeHg、EtHg 和 Hg²⁺。使用 0.45 μm 膜过滤溶液，然后进行分析。测量中使用 20 μL 进样环。如图 5 所示，²⁰²Hg 离子色谱与用纯水稀释成相同浓度的溶液的相应离子色谱图重叠。对 3% NaCl 溶液中汞化合物形态的峰面积进行积分，并且相对于溶于纯水的标准品，回收率在 90% 至 110% 之间。这证明本方法对于海水之类的高浓度基质样品也同样适用。

3% NaCl 溶液中汞化合物形态的色谱分离

为了测试本方法对于高基质样品的分析能力，将汞化合物储备液在 3% NaCl (w/v 水溶液) 中稀释，得到

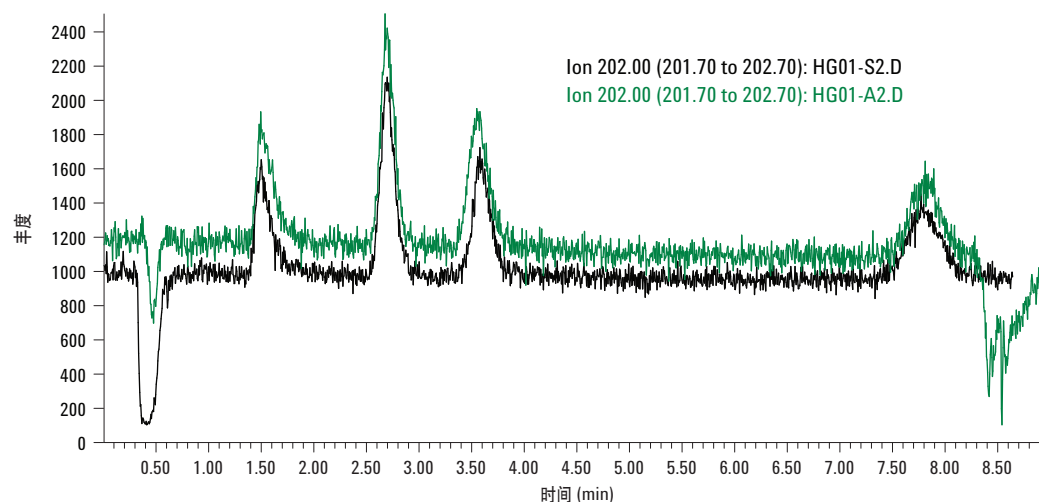


图 5. 纯水 (上方曲线) 中与 3% NaCl (w/v, 下方曲线) 中的 100 ng/L (使用 20 μL 进样环) 汞化合物标准品的 HPLC-ICP-MS 离子色谱图叠加。

土壤样品中的应用

将 HPLC-ICP-MS 方法用于固体样品，比如组织、土壤或沉积物时，需要进行样品前处理。从固体样品中提取汞化合物是一个关键步骤，因为环境样品中无机汞的含量很低。汞化合物，特别是 MeHg，很容易丢失或者转化成其它分子。根据报道，有多种方法可用于防止 MeHg 化合物在消化过程中受到破坏，包括使用稀盐酸或螯合剂从样品中提取化合物 [7]。然而已报道的提取无机汞和有机汞化合物的方法耗时费力，并且需要大量高纯度溶剂或特殊试剂。本研究使用基于稀盐酸的简单提取方法。土壤样品的加标回收率在 80% 至 120% 之间。计划进一步测试本方法以及含有 MeHg 的对照土壤样品。

汞化合物提取方法

1. 称取 1.00 g 土壤样品，放入 20 mL 塑料离心管中。
2. 向土壤样品中加入 0 至 90 μL 100 ng/L 混合的汞化合物标准品溶液。震荡混合。

3. 向每个管中加入 9.0 mL 7.6% HCl (w/v) 和 1.0 mL 10% 2-巯基乙醇。将样品在超声波清洗器中放置 30 分钟，促进提取。
4. 以 3000 rpm 的速度将样品离心 5 分钟，使颗粒沉淀。
5. 将 2.0 mL 上层（澄清）溶液转移到 50 mL 干净的 PET 瓶中。加入 15.0 mL 纯水。
6. 使用 10% 氨溶液将溶液的 pH 值调节至 6.8。
7. 向溶液中加入纯水直至溶液重量达到 20.0 g。
8. 使用 0.45 μm 膜过滤溶液，然后进行 HPLC-ICP-MS 测定。

用 7.6% HCl 提取的土壤样品的 HPLC-ICP-MS TIC 结果如图 6 所示。土壤样品中加入了 90 ng（汞含量）混合的汞化合物标准品。由于土壤中存在无机汞，因此色谱图中 Hg^{2+} 的峰高高于其它两个峰。对未加标的土壤样品的分析表明，MeHg 和 EtHg 的水平不显著。表 5 显示加标回收测试的测量结果。

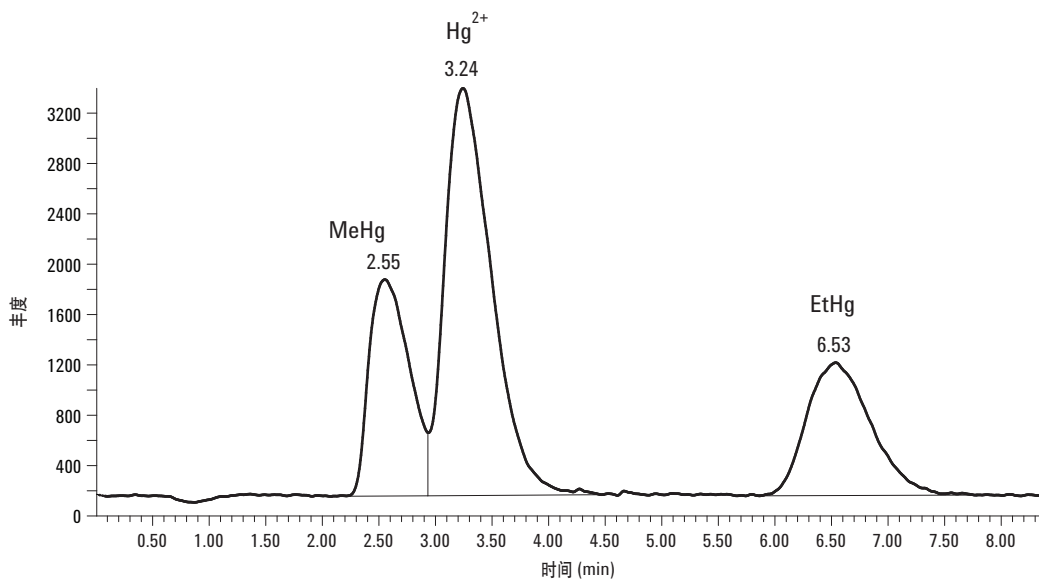


图 6. 土壤样品 S-A-03 的 HPLC-ICP-MS TIC 色谱图，该样品使用 7.6% HCl 提取，加入 0.9 ng（汞含量）混合的汞化合物标准品。MeHg 2.55 min, Hg^{2+} 3.24 min, 而 EtHg 为 6.53 min, 使用 100 μL 进样环。

表 5. 使用 HPLC-ICP-MS 测定的土壤样品中汞化合物的加标回收率

样品	汞化合物形态	实际值 (pg)	测量值 (pg)	回收率 (%)
S-BLK-1	MeHg	NA	2	NA
	Hg ²⁺	61	63	103
	EtHg	NA	+	NA
S-BLK-2	MeHg	NA	9	NA
	Hg ²⁺	61	65	107
	EtHg	NA	+	NA
S-A-03	MeHg	90	85	95
	Hg ²⁺	151	185	122
	EtHg	90	82	91
S-A-04	MeHg	90	80	89
	Hg ²⁺	151	181	120
	EtHg	90	75	83
S1-1	MeHg	36	34	94
	Hg ²⁺	97	88	91
	EtHg	36	28	77
S1-2	MeHg	36	37	104
	Hg ²⁺	97	105	108
	EtHg	36	35	97
S1-3	MeHg	36	41	113
	Hg ²⁺	97	98	101
	EtHg	36	43	120

NA 不适用
+ 未测量

加标回收率全部在大约 80% 至 120% 之间，证实这种样品前处理过程适用于使用 HPLC-ICP-MS 进行土壤样品分析。

结论

即使水样品中基质含量很高，HPLC-ICP-MS 也适合进行水样品分析。MeHg、EtHg 和 Hg²⁺ 的 MDL 均低于 10 ng/L，符合目前的法规要求。本方法用于土壤样品分析时，适合用 7.6% HCl 提取汞化合物，回收率在 80% 至 120% 之间。

参考文献

1. J. O. Nriagu (Ed.), *The Biogeochemistry of Mercury in the Environment*, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 1979.
2. National Academy of Science, *An Assessment of Mercury in the Environment*, National Research Council, Washington, DC, 1978.
3. R. Hartung, B. D. Dinman (Eds.), *Environmental Mercury Contamination*, Ann Arbor Science, Ann Arbor, MI, 1972.
4. M. Berlin, 1986. Mercury. In: Friberg, L., Nordberg, G., Vouk, V. (Eds.), *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier, Amsterdam, pp. 387–444.
5. J.S. Felton, E. Kahn, B., Salick, F.C. van Natta, and M.W. Whitehouse, (1972) Heavy metal poisoning: mercury and lead. *Ann. Intern. Med.* **76**, 779–792.
6. 中国城镇污水处理厂污染物排放标准, GB 18918-2002, 2002.
7. M. Jackie, A. C. Vikki, and H.E.G. Philip., *J. Anal. At. Spectrom.*, (2002), **17**, 377–381.

如需更多信息

有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站：www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦对本资料中出现的错误，以及由于提供或使用本资料所造成的相关损失不承担责任。

本资料中涉及的信息、说明和指标，如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2005

中国印制
2005年9月6日
5989-3572CHCN