



聚焦耦合微波萃取沉积物中甲基汞前处理条件的研究

姚玉玲

(中国地质科学院矿产综合利用研究所, 四川 成都 610041)

摘要:甲基汞是毒性最大的汞化合形态,并且是沉积物中汞的重要存在形式,研究沉积物中甲基汞的分离富集及检测技术具有重大意义。本文采用正交实验法,考察了用聚焦耦合微波萃取沉积物中甲基汞时,二氯甲烷用量、盐酸用量、萃取温度、萃取时间等四种因子对预处理效果的影响程度,并对各个影响因子进行了优选。本法对甲基汞的检出限为 $0.67\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;在 $0.2\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\sim 12.8\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内,线性相关程度良好,相关系数为0.999;回收率在85.4%~105.13%之间;相对标准偏差(RSD) $\leq 5\%$ ($n=7$),满足沉积物中超痕量甲基汞的分析要求。

关键词:聚焦耦合微波萃取 沉积物 甲基汞 高效液相色谱 原子荧光光谱

doi:10.3969/j.issn.1000-6532.2013.04.013

中图分类号:TD98;O652.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-6532(2013)04-0048-04

甲基汞是一种具有较强神经毒性的物质,它高度稳定,易于穿透生物膜且通过食物链聚集。由于具有亲脂性、生物累积效应和生物放大效应,甲基汞毒性是其它汞化合物毒性的几百倍^[1]。另外,环境中的无机汞可在生物(尤其是微生物)的作用下,逐步甲基化而转化成剧毒甲基汞^[2]。正是由于甲基汞的巨大毒性,引起了环境以及医学工作者对它的广泛研究。

沉积物中甲基汞的含量很低,而且沉积物样品基体复杂,甲基汞的测定往往需要前处理。目前甲基汞的前处理方法有酸解溶剂萃取^[3],碱消化萃取^[4],冷阱捕集法^[5-6],固相微萃取^[7]等。这些处理方法步骤繁琐,容易在处理过程中损失。冷阱捕集法是目前最为可靠的方法,但该方法除操作繁琐外,还需要昂贵的乙基化试剂。

聚焦耦合微波萃取是近几年新兴的一种样品前处理技术,它具有萃取溶剂用量少、耗时短、不易引起样品形态变化而造成测定结果不准确、对人体健康的伤害小、萃取效率高等优点。本文用聚焦耦合微波萃取沉积物中甲基汞,并与高效液相色谱—原子荧光联用,探索适用于实验室监测分析的前处理技术以及仪器条件,完善我国沉积物中痕量甲基汞测定的方法,并将其推广。

1 试验部分

1.1 主要仪器和试剂

主要仪器有:聚焦耦合微波萃取仪(CEM公司);AFS-9130双道原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司);SAP-10形态分析预处理装置(北京吉天仪器有限公司);C18色谱柱(4.6mm×150mm;Agela technology)。

主要试剂有:二氯甲烷(HPLC级);乙腈(HPLC级);盐酸(优级纯);L-半胱氨酸(生化试剂); $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氯化甲基汞标准贮备液。

1.2 液相色谱-双道原子荧光光度计测定条件

灯电流:30 mA;负高压:290V;载气流量: $400\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$;屏蔽气流量: $700\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$;氧化剂:1% $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8 + 0.35\% \text{NaOH}$;还原剂:2% $\text{KBH}_4 + 0.35\% \text{NaOH}$;流动相:5%乙腈+4.62 g/L,乙酸铵+1.6 g/L半胱氨酸;载流:9% HCl;进样量:100 μL 。在此条件下,氯化甲基汞和无机汞、乙基汞以及其它杂质都能达到基线分离,其保留时间在3.493min左右,氯化甲基汞具有较好的色谱峰形、较高的灵敏度、噪音低、稳定性好。

1.3 试验方法

1.3.1 预处理操作步骤

称取样品 1.5g 左右置于 35mL 反应瓶中,加入一定体积的二氯甲烷和 6mol/L 的盐酸,盖上瓶盖,轻轻晃动混匀,放置 30min 左右,开瓶盖放气(为了防止沉积物中的有机质太多,加入盐酸后反应产生大量气体,进聚焦微波萃取仪会使压力快速升高,产生一定危险)。然后将反应瓶放入聚焦微波萃取仪,在设定的条件下对沉积物中的甲基汞进行萃取。完成后,取出反应瓶,加入适量 1% 的 L-半胱氨酸反萃氯化甲基汞,取出水相,加入 4mL 盐酸(浓度为 6mol/L)酸化,定容至 10mL,摇匀后上液相—双道原子荧光光度计进行检测。

1.3.2 试验方案设计

本试验选用二氯甲烷作为萃取溶剂,用聚焦耦合微波萃取仪对沉积物中的氯化甲基汞进行萃取。聚焦耦合微波萃取系统具有试剂用量少、耗时短、方法重现性好、方便快捷、能进行低含量分析的优点。

综合考虑,影响甲基汞提取率的主要有以下四个因素:二氯甲烷的用量、盐酸的用量、萃取温度以及萃取保持时间。本试验采用 4 因素 3 水平的正交实验即 $L^9(3^4)$,试验共进行 9 次,对以上四个影响因子进行了优化。试验做以下设定:

A—二氯甲烷用量,1 为 5mL;2 为 10mL;3 为 20mL。

B—盐酸用量,1 为 0.2mL;2 为 0.4mL;3 为 1.0mL。

C—萃取温度,1 为 45℃;2 为 55℃;3 为 65℃。

D—萃取保持时间,1 为 5min;2 为 10min;3 为 20min。

9 个空白样加标以及一个空白未加标的称样量、二氯甲烷的用量、盐酸的用量、萃取温度以及萃取保持时间的具体信息见表 1。

表 1 正交实验 9 个不同样品预处理信息表

Table 1 The pretreatment information of the 9 different samples in the orthogonal test

序列号	称样量/g		二氯甲烷用量/mL	盐酸用量/mL	萃取温度/℃	萃取保持时间/min
	①	②				
1 [#]	1.5012	1.5213	5	0.2	45	5
2 [#]	1.4937	1.5612	5	0.4	55	10
3 [#]	1.4905	1.4987	5	1.0	65	20
4 [#]	1.5024	1.4932	10	0.2	55	20
5 [#]	1.5087	1.4951	10	0.4	65	5
6 [#]	1.4932	1.5045	10	1.0	45	10
7 [#]	1.4905	1.5036	20	0.2	65	10
8 [#]	1.5065	1.4982	20	0.4	45	20
9 [#]	1.5031	1.4934	20	1.0	55	5
10 [#]	1.5037	1.4939	20	1.0	55	5

注:1[#]~9[#]号为加标样,10[#]号为空白样

2 结果及讨论

2.1 检出限

向 1[#]~9[#]样品中分别加入 1mg/L 的氯化甲基

汞标准溶液 30 μ L(则检测的理论结果应为 3 μ g/L),然后按照表 1 所述 9 种样品各自的不同前处理条件进行萃取,最后用 HPLC-AFS 检测,检测结果见表 2。

表 2 正交实验检测结果

Table 2 The results of the orthogonal test

系列号	检测结果/ μ g \cdot L ⁻¹			样品中 MMC 含量/ μ g \cdot kg ⁻¹			提取率/%
	①	②	平均值	①	②	平均值	
1 [#]	1.68	1.74	1.71	11.19	11.44	11.31	0.5702
2 [#]	2.55	2.63	2.59	17.07	16.85	16.96	0.8631
3 [#]	2.54	2.40	2.47	17.04	16.01	16.53	0.8232
4 [#]	2.00	2.04	2.02	13.31	13.66	13.49	0.6731
5 [#]	2.77	2.69	2.73	18.36	17.99	18.18	0.9090
6 [#]	2.10	2.16	2.13	14.06	14.36	14.21	0.7117
7 [#]	2.39	2.29	2.34	16.03	15.23	15.63	0.7811
8 [#]	2.33	2.41	2.37	15.47	16.09	15.78	0.7910
9 [#]	2.14	2.18	2.16	14.24	14.60	14.42	0.7211
10 [#]	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

注:nd 表示未检出

根据 9 个不同预处理条件的样品的检测结果,计算各个样品中甲基汞的提取率,并根据正交实验的分析方法分析四种影响因子对沉积物中甲基汞提取率的影响程度,选择各个影响因子的最佳水平。

表 3 MMC 预处理阶段影响因子分析

Table 3 The analysis of influencing factors in the pretreatment stage of MMC

序列号	A	B	C	D	提取率/%
①	1	1	1	1	0.5702
②	1	2	2	2	0.8631
③	1	3	3	3	0.8232
④	2	1	2	3	0.6731
⑤	2	2	3	1	0.9090
⑥	2	3	1	2	0.7117
⑦	3	1	3	2	0.7811
⑧	3	2	1	3	0.7910
⑨	3	3	2	1	0.7211
K ₁	2.2565	2.0244	2.0726	2.2003	
K ₂	2.2935	2.5631	0.2573	2.3556	
K ₃	2.2932	2.2557	2.5133	2.2873	
k ₁	0.7522	0.6748	0.6909	0.7334	
k ₂	0.7645	0.8544	0.7525	0.7852	
k ₃	0.7644	0.7519	0.8378	0.7624	
R	0.0123	0.1796	0.1469	0.0518	

按照 R 值由大到小的排列,四种因子影响沉积物中甲基汞的提取率程度由大到小的排列为:盐酸的用量(B)、萃取温度(C)、萃取保持时间(D)、二氯甲烷的用量(A)。

根据 K₁、K₂、K₃ 值的大小,选择四种影响因子的较优水平,即 K 值较大的为较佳。正交实验得出四种影响因子的较优水平见表 4。

表 4 影响 MMC 提取率四因子的优选结果

Table 4 The selectivity results of the 4 factors influencing the MMC extraction rate

影响因子	最优水平
二氯甲烷用量	10mL
盐酸用量	0.4mL
萃取温度	65℃
萃取保持时间	10min

根据 3 倍噪音强度来确定标准溶液,也就是仪器的检出限(单位为 $\mu\text{g/L}$),然后根据沉积物的称样量以及最后的定容体积来确定本分析方法的检出限(单位为 $\mu\text{g/kg}$)。仪器的检出限为 $0.1\mu\text{g/L}$,本方法的检出限为 $0.67\mu\text{g/kg}$ 。

2.2 回收率

由于缺乏沉积物中甲基汞的标准样品,并且考虑到沉积物中甲基汞含量较低,本实验采用向样品中加入较低和较高两种不同浓度水平甲基汞,经过聚焦耦合微波萃取前处理,进 HPLC-AFS 进行测定来确定本方法的回收率。低浓度加标样品的回收率为 $91.01\% \sim 105.13\%$ 。较高浓度加标样品的回收率为 $85.4\% \sim 92.36\%$ 。

2.3 精密度

分别取浓度为 $0.4\mu\text{g/L}$ 、 $3.0\mu\text{g/L}$ 的氯化甲基汞标准溶液在本文选取的较佳 LC-AFS 仪器条件下平行进样 7 次,测定相应的峰面积。结果见表 5。

表 5 精密度实验结果

Table 5 The test results of precision

检测结果/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	MMC 浓度	MMC 浓度
	/ $0.4\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	/ $3.0\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
	0.4112	3.0734
	0.4037	3.0215
	0.3826	2.9887
	0.4098	2.9334
	0.3914	2.9762
	0.4225	3.0423
	0.3932	3.0379
平均值	0.4021	3.0048
SD/%	1.28	4.38
RSD/%	1.38	4.73

由表 5 可以看出,当甲基汞浓度较低时,相对标准偏差较小;浓度较高时,相对标准偏差较大,这对于实际样品的测定时有利的,因为实际沉积物样中甲基汞的浓度是很小的。本文采用液相色谱—原子荧光光度法测定沉积物中甲基汞的相对标准偏差(RSD%)在 5% 以内,均有较好的精密度,重现性较高,可以满足实际测定的需求。

3 样品测定

测定沉积物中的甲基汞所用的分析方法均为标准加入法。由于一些沉积物样品中的甲基汞含量极低,检测不到信号,因此加入了一定量的甲基汞标准溶液。

实验方法如下:称取沉积物样品 1.5g ,向其中加入浓度为 1mg/L 的甲基汞标准溶液 $40\mu\text{L}$ (检测理论结果为 $4\mu\text{g/L}$),按照上述方法处理后进行检

测。检测结果见表6。

表6 自制沉积物样分析结果

Table 6 The analysis results of self-made sediments

样品	加入甲基汞量	平均值	回收率
	$/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$/\%$
乐山某湖沉积物 1	4.00	3.74	93.5%
乐山某湖沉积物 2	4.00	4.09	102.25%
宜宾某湖沉积物 1	4.00	3.91	97.8%
宜宾某湖沉积物 2	4.00	3.85	96.25%

注:测定次数 $n=5$ 。

从表6中可以看出测定值与加入值相符,回收率较好。因此,本方法能对实际沉积物样品中的甲基汞进行有效地测定,测定结果准确可靠。

4 结 论

本文建立了用聚焦耦合微波萃取—高效液相色谱—原子荧光联用测定沉积物中甲基汞的方法。甲基汞的检出限为 $0.67\mu\text{g}/\text{kg}$; 在 $0.2 \sim 12.8\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内,其线性相关程度良好,相关系数为 0.9999 。在优化的前处理及仪器条件下,甲基汞回收率在 $85.4\% \sim 105.13\%$ 之间,相对标准偏差(RSD)在 5% ($n=7$) 以内,满足沉积物中超痕量甲基汞的分析要求。

参考文献:

[1] Dean W. Boening. Ecological effects, transport, and fate of

mercury: a general review [J]. *Chemosphere*, 2000, 40: 1335.

[2] 宋薇. 冷原子吸收光谱法分析测定天然气中微量总汞 [J]. *现代科学仪器*, 1999(4): 51.

[3] Liang Li-na, Jiang Gui-bin, Liu Jing-fu et al. Speciation analysis of mercury in seafood by using high-performance liquid chromatography on-line coupled with cold-vapor atomic fluorescence spectrometry via a post column microwave digestion [J]. *J Anal chim Acta*, 2003, 477: 133.

[4] Lu Yang, Vanessa Colombini, Paulette Maxwell et al. Application of isotope dilution to the determination of methylmercury in fish tissue by solid-phase microextraction gas chromatography - mass spectrometry [J]. *J Chromatography A*, 2003, 1011: 135

[5] 仇广乐, 冯新斌, 梁琰, 等. 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 [J]. *分析测试学报*, 2005, 24(1): 29.

[6] 何天容, 冯新斌, 戴前进, 等. 萃取—乙基化结合 GC-CVAFS 法测定沉积物及土壤中得甲基汞 [J]. *地球与环境*. 2004, 32(2): 83-86.

[7] Sergi Diez, Josep M, Bayona. Determination of methylmercury in human hair by ethylation followed by headspace solid-phase microextraction - gas chromatography - cold-vapour atomic fluorescence spectrometry [J]. *J Chromatography A*, 2002, 963: 345.

Study on Pretreatment Condition of Extracting of Methylmercury in Sediments by Focusing Coupling Microwave-assisted

YAO Yu-ling

(Institute of Multipurpose Utilization of Mineral Resources, CAGS, Chengdu, Sichuan, China)

Abstract: Methylmercury is the most toxic state among mercury speciation, also the important occurrence in sediments. Therefore, it is meaningful to study the separation, enrichment and check technology of methylmercury in sediments. The orthogonal test was carried out to investigate the influence of the dosage of dichloromethane and hydrochloric acid and the extracting temperature and time on the pretreatment. Meanwhile, the selectivity of different factors was carried out. The detection limit is $0.61\mu\text{g}/\text{mL}$. From the extent of $0.2\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \sim 12.8\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, the linear correlation degree is relatively good, whose correlation coefficient is 0.999 . The recovery is from 85.4% to 105.13% and the relative standard deviation is not more than 5% ($n=7$), which meets the requirement that analyze the ultra-trace methylmercury in sediment.

Key words: Focusing coupling microwave-assisted extraction; Sediments; Methylmercury; High performance liquid chromatography; Atomic fluorescence spectrometry