

全自动甲基汞分析系统分析甲基汞的仪器条件优化*

陈来国^{1**} 田文娟^{1,2} 莫测辉² 许振成¹ 彭晓春¹ 方建德¹

(1. 环境保护部华南环境科学研究所城市环境研究中心, 广州, 510655; 2. 暨南大学理工学院环境工程系, 广州, 510632)

摘要 通过对比优化了全自动甲基汞仪器分析系统的参数设置, 得到当吹扫气 N_2 和载气 Ar 流速分别为 $344\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 和 $34\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, GC 柱分离温度在约 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 时, Hg^0 、 $MeHg$ 和 Hg^{2+} 乙基化(1% $NaBEt_4$ 溶液)后分离效果和完成时间最佳; 在 $0\text{--}100\text{ pg}$ 的标准工作曲线范围内, 乙基化试剂的最佳投加量为 $40\text{ }\mu\text{L}$; 对比分析了 KOH/H_2O 溶液和 KOH/CH_3OH 溶液 2 种常用鱼样消解方法, 结果表明都有较好的准确度和精密度。利用优化的仪器条件和鱼样前处理方法分析了实际鱼样, 得到了满意的分析结果。

关键词 甲基汞, 分析, 优化。

上世纪五十年代, 日本水俣病的发生使得汞污染带来的环境问题一直是环境研究的热点, 而与此同时, 实验方法的落后成为制约研究进步的瓶颈。目前, 汞已经被认为是一种全球性污染物, 随着联合国环境规划署汞问题政府间谈判的启动, 可以预见汞将再次成为国内外环境研究的热点。环境中的汞主要以无机汞的形态存在, 有机汞中主要是甲基汞($MeHg$)。尽管 $MeHg$ 的含量较低, 其毒性却远大于无机汞, 因而成为汞研究的重要内容之一。由于环境样品中 $MeHg$ 的含量仅为 pg 级, 如何准确而快速地分析成为制约 $MeHg$ 测定的瓶颈。2007 年, 美国 Brooks Rand 公司基于美国 EPA 1630, 推出了一款商品化的全自动甲基汞分析系统, 使得准确快速分析 $MeHg$ 成为可能。

本文对该仪器运行的一些参数进行了条件优化, 并用两种常用的消解方法对标准物质和鲜鱼样中的 $MeHg$ 进行验证测试, 获得了理想的结果。

1 实验部分

1.1 仪器设备与工作原理

全自动甲基汞分析仪(MERXTM, 美国 Brooks Rand Lab)的仪器检测限(IDL)为 $0.002\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。工作原理为: 样品经碱液消解并乙基化后, 高纯 N_2 加压自动输送至吹扫瓶, 后随 N_2 吹脱至 Tenax 管捕集, 经 N_2 干燥后, 在高纯 Ar 作载气时加热使 Tenax 管捕集的 Hg 解吸, 进入 GC 柱使不同形态 Hg 分离, 热解还原为元素汞(Hg^0), 进入冷原子荧光检测器(CVAFS)进行检测。

1.2 标准样品与标准物质

$MeHg$ 标液(Brooks Rand LLC, Seattle, WA, USA)、 Hg^{2+} 标准物质(AccuStandard, New Haven, USA)、 $NaBEt_4$ ($\geq 98\%$, Strem Chemicals, USA)、柠檬酸($\geq 99.5\%$, Merck, Germany)、柠檬酸钠($\geq 99.0\%$, Merck, Germany)、 KOH ($\geq 85.0\%$, Merck, Germany)、甲醇($\geq 99.9\%$, Merck, Germany)、 $18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 超纯水(Millipore 公司 Milli-Q 制备, USA)、标准参考物质 DORM-3(NRCC, Canada)。

1.3 全自动 $MeHg$ 分析仪参数优化

(1) 吹脱气 N_2 流速的影响

设定仪器 Ar 流速为 $34\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 乙基化试剂(1% $NaBEt_4$ 溶液)投加量 $40\text{ }\mu\text{L}$ 。试验不同 $MeHg$ 标样含量(10 、 50 、 200 pg)时, N_2 流速分别为 $91\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $203\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $344\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $394\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时对 $MeHg$ 的吹出效率。

2010 年 8 月 11 日收稿。

* 国家环保公益性行业科研专项(200809011)资助项目。

** 通讯联系人, Tel: 020-85545516; E-mail: chenlaiguog@scies.org

(2) 载气 Ar 流速的影响

设定 N₂ 流速为 344 mL·min⁻¹、1% NaBEt₄ 投加量为 40 μL、实验用 Hg 混标(MeHg 和 Hg²⁺ 含量为 50 pg 和 100 pg) 时, 比较 Ar 流速分别为 13 mL·min⁻¹、21.8 mL·min⁻¹、34 mL·min⁻¹、48.5 mL·min⁻¹ 时对 Hg⁰、MeHg、Hg²⁺ 乙基化产物的分离效果.

(3) GC 柱温度的选择

设定 N₂ 和 Ar 流速分别为 344 mL·min⁻¹ 和 34 mL·min⁻¹、1% NaBEt₄ 投加量 40 μL、实验用 Hg 混标(MeHg 和 Hg²⁺ 含量为 50 pg 和 100 pg). 比较 GC 的温度分别为 36 ℃、40 ℃、50 ℃、60 ℃ 时对 Hg⁰、MeHg、Hg²⁺ 乙基化产物的分离效果.

1.4 样品前处理优化

(1) 乙基化试剂投加量影响

设定 N₂ 和 Ar 流速分别为 344 mL·min⁻¹ 和 34 mL·min⁻¹, GC 温度为 40 ℃. 比较 MeHg 标样净含量分别为 50、100、200 和 400 pg 时(定容约 40 mL), 乙基化试剂投加量分别为 20、40、60、100 μL 时的 MeHg 测定结果.

(2) 鱼样消解方法对比

称取约 0.05—0.07 g DORM-3 标准参考物质进行实验, 并做 3 次平行. KOH/H₂O 溶液消解: Teflon 消化罐中加 5 mL 25% 的 KOH/H₂O 溶液, 100 ℃ 恒温水浴锅中消解 3 h, 再用水定容到 25 mL 80 ℃ 水浴保温 0.5 h 待测. KOH/CH₃OH 溶液消解: Teflon 消化罐中加 2.5 mL 25% KOH/CH₃OH 溶液, 在烘箱中 65 ℃ 加热约 4 h, 然后用 CH₃OH 定容至 24 mL 称重, 摇匀待测.

1.5 实际鱼样的分析

根据上述仪器最佳实验参数和前处理方法, 对采自市场的 4 种鱼类(2 种淡水鱼: 鲫鱼(*Carassius carassius*) 和大口黑鲈(*Micropterus salmonides*); 2 种海水鱼: 沙带鱼(*Lepturacanthus savala*) 和金钱鱼(*Nemipteus virgatus*)) 进行 MeHg 分析.

1.6 质量保证与质量控制

标样净含量在 2、5、10、20、50、100 pg(定容约 40 mL) 时 6 点标准工作曲线呈线性关系, 可决系数 R² > 0.999. 方法检测限(MDL) 为 0.004 ng·g⁻¹. 所有实验进行 3 次平行测试, 每批次保证至少 1 个空白样, 空白样的 MeHg 含量都在检测限以下.

2 结果与讨论

2.1 分析仪器条件的优化

(1) 吹扫载气 N₂ 流速的影响

MeHg 分析系统利用 N₂ 作为 MeHg 乙基化产物(甲基乙基汞) 吹出的载气, 仪器设定 N₂ 吹扫时间为 5 min, 过低的流速会影响甲基乙基汞的吹出效率, 过高的流速会导致吹扫液进入仪器并浪费高纯气体.

从表 1 中可以看出, 当 N₂ 吹扫时间设定为 5 min 时, 当其流速为 91 mL·min⁻¹ 时, 对于高 MeHg 含量(200 pg) 其吹出效率偏低, 而当流速为 203 mL·min⁻¹、344 mL·min⁻¹ 和 394 mL·min⁻¹ 时其吹出效率没有明显区别. 由此可见, 选取 N₂ 流速为 344 mL·min⁻¹ 为比较理想的选择, 可保证样品 MeHg 含量较高时的吹出效率, 又可节约高纯 N₂ 并避免吹扫液进入仪器.

表 1 不同 N₂ 流速吹扫时不同 MeHg 含量标样的测定结果(pg)

Table 1 The testing values of MeHg standards under different flow rates of purgeing gas (N ₂)												
投加量 /pg	91 mL·min ⁻¹			203 mL·min ⁻¹			344 mL·min ⁻¹			394 mL·min ⁻¹		
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 1	平行 2	平行 3	平行 1	平行 2	平行 3	平行 1	平行 2	平行 3
10	10.9	9.4	8.7	10.0	9.8	9.7	9.7	10.0	10.1	9.3	10.0	10.5
50	49.2	46.5	47.1	49.6	48.9	47.4	50.5	50.9	50.6	50.4	49.9	50.6
200	182.2	192.9	176.5	207.7	202.8	203.4	202.8	202.5	203.3	203.6	201.6	204.8

(2) 不同流速载气 Ar 的影响

Ar 流速会影响 Hg^0 、MeHg、 Hg^{2+} 乙基化产物在 GC 柱上的分离,最终体现在图谱中峰的分离程度和分离效果上.不同流速的载气 Ar 对 Hg^0 、MeHg、 Hg^{2+} 的分离效果见图 1.由图 1 可看出当 Ar 流速为 $13\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 和 $21.8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时峰型稍有拖尾现象,且 Hg^0 、MeHg、 Hg^{2+} 的分析时间相对较长;而当 Ar 流速为 $48.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时 3 个峰的间隔太近;当 Ar 流速为 $34\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时峰型、分离效果和气体使用量都达到最佳水平.

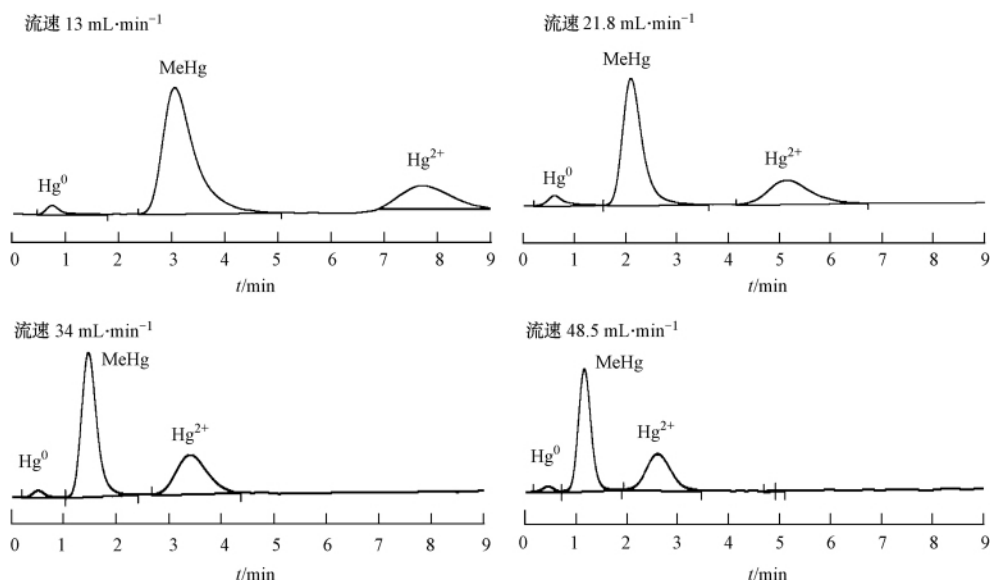


图 1 不同流速载气(Ar)对 Hg^0 、MeHg、 Hg^{2+} 峰分离效果的影响

Fig. 1 The effect of flow rates of carrier gas (Ar) on the separation of Hg^0 , MeHg, Hg^{2+}

(3) GC 柱分离温度的选择

GC 柱温度可能影响 Hg^0 、MeHg、 Hg^{2+} 乙基化产物的分离程度和效果.不同 GC 柱温度的影响见图 2.从图 2 可看出,当温度为 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时 3 个峰不能有效分离,当温度为 $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时峰可完全分离且分离效果好.

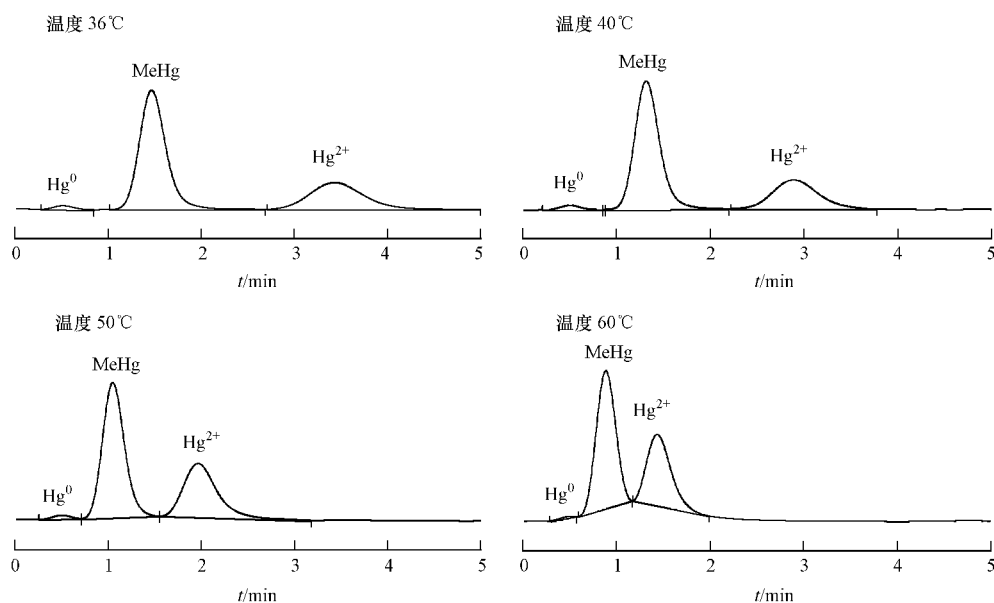


图 2 GC 柱分离温度对 Hg^0 、MeHg、 Hg^{2+} 峰分离效果的影响

Fig. 2 The effect of GC column temperature on the separation of Hg^0 , MeHg, Hg^{2+}

2.2 前处理条件的优化

(1) 乙基化试剂投加量的影响

乙基化试剂投加量太少可导致 MeHg 乙基化不完全,投加量太大可导致乙基化反应过快,影响 MeHg 的回收率,同时提高分析成本。

由表 2 可以看出,当乙基化试剂投加量为 60 μL 和 100 μL 时,MeHg 的测定值明显偏低,因为过快的乙基化过程会造成 MeHg 挥发损失。工作曲线范围内适宜的乙基化试剂投加量为 40 μL ,此时不同含量 MeHg 标准溶液都有较好的测定结果。

表 2 不同乙基化试剂投加量时不同 MeHg 含量标样的测定结果(pg)

Table 2 The testing values of MeHg standards by adding different volumes of ethylated solution												
投加量 / μL	50 pg			100 pg			200 pg			400 pg		
	平行 1	平行 2	平行 3	平行 1	平行 2	平行 3	平行 1	平行 2	平行 3	平行 1	平行 2	平行 3
20	47.3	52.0	50.1	100.8	98.2	99.5	199.9	202.1	200.8	385.4	395.1	390.6
40	47.9	50.6	49.6	96.8	103.3	100.2	200.2	202.4	204.5	411.3	409.0	410.3
60	34.1	39.6	35.4	99.0	106.5	102.7	198.8	195.5	198.3	386.8	387.8	384.5
100	22.7	25.3	23.9	43.5	47.7	46.8	62.0	65.2	63.7	187.0	180.6	184.7

(2) 两种鱼样品消解方法的比较

不同的鱼样消解方法可能影响 MeHg 含量的准确测定。目前常用的鱼样消解方法包括 KOH/ H_2O 溶液和 KOH/ CH_3OH (或 KOH/ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) 溶液^[1-2]。国家标准《环境-甲基汞的测定-气相色谱法》(GB/T 17132—1997)^[3]中确定的鱼样消解过程与分析方法十分复杂,已少有运用。用 KOH/ H_2O 溶液或 KOH/ CH_3OH 消解后利用 GC-CVAFS 法可实现 MeHg 简单、快捷测定。由表 3 可见,两种消解液都有较好的分析结果,且结果平行性较好。

表 3 两种鱼样消解方法的结果对比 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Table 3 Comparison of two different fish digestion methods							
方法	平行 1	平行 2	平行 3	空白 1	空白 2	标准值	RSD/%
KOH/ H_2O 溶液	348.2	327.6	327.3	0	0	355.0	3.58
KOH/ CH_3OH 溶液	328.0	334.9	340.5	0	0	355.0	1.87

2.3 实际样品的测定

准确称量 0.1—0.3 g(精确到 0.0001 g) 湿鱼样至 25 mL 的 Teflon 消化罐中,加 2.5 mL 25% KOH/ CH_3OH 溶液,在烘箱中 65 $^{\circ}\text{C}$ 加热约 4 h,然后用 CH_3OH 定容至 24 mL,摇匀待测。在经盐酸净化的棕色进样瓶中加入约 40 mL 超纯水,然后依次加入 300 μL 柠檬酸/柠檬酸钠缓冲溶液、30 μL 鱼样消解液、40 μL 1% NaBEt_4 溶液,加满超纯水,旋紧瓶盖,检查有无气泡,摇匀后反应 15 min。测定结果见表 4。

表 4 实际鱼样中 MeHg 的测定结果 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Table 4 The testing values of MeHg in fishes						
鱼样	平行 1	平行 2	平行 3	空白 1	空白 2	RSD/%
鲫鱼	14.8	13.4	14.3	0	0	5.00
大口黑鲈	37.9	38.5	41.8	0	0	5.33
沙带鱼	22.6	23.3	23.4	0	0	1.89
金线鱼	134.3	138.1	132.9	0	0	1.99

3 结论

(1) 吹扫气 N_2 流速、载气 Ar 流速、GC 柱温度都是全自动 MeHg 分析系统的控制性参数。当 N_2 吹扫时间设定为 5 min, N_2 和 Ar 流速分别为 344 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 和 34 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时,GC 柱分离温度为 40 $^{\circ}\text{C}$ 左右

时 Hg^0 、 MeHg 、 Hg^{2+} 乙基化产物分离效果和分离速度最佳。

(2) 乙基化试剂(1% NaBEt_4 溶液) 投加量严重影响分析结果, 在通常的 MeHg 分析工作曲线范围内, 其最佳投加量为 40 μL 。

(3) 用 $\text{KOH}/\text{H}_2\text{O}$ 溶液或 $\text{KOH}/\text{CH}_3\text{OH}$ 溶液消解鱼样标准参考物质 DORM-3, 结果都有较高的准确度和精密度。

(4) 利用优化的仪器参数和样品前处理条件, 对 4 种鱼类进行分析, 得到满意的分析结果。

参 考 文 献

- [1] 阎海鱼, 冯新斌, Liang Lian 等, GC-CVAFS 法测定鱼体内甲基汞的分析方法研究[J]. 分析测试学报, 2005, 24(6): 78-80
- [2] Ikingura J R, Akagi H, Total mercury and methylmercury levels in fish from hydroelectric reservoirs in Tanzania[J]. The Science of the Total Environment, 2003, 304: 355-368
- [3] GB/T 17132—1997, 《环境-甲基汞的测定-气相色谱法》[S]. 国家环境保护局和国家技术监督局, 1997

OPTIMIZING INSTRUMENTAL CONDITIONS FOR METHYLMERCURY ANALYSE BY USING AUTOMATED METHYLMERCURY ANALYTICAL SYSTEM

CHEN Laigu¹ TIAN Wenjuan^{1, 2} MO Cehui² XU Zhencheng¹
PENG Xiaochun¹ FANG Jiande¹

(1. Center for Research on Urban Environment, South China Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Guangzhou 510655, China; 2. Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

ABSTRACT

It is possible to analyze MeHg rapidly and precisely with the development of automated methylmercury (MeHg) analytical system, in which the optimization of instrumental parameters and sample pretreatment procedure are the keys. In this study, we optimized instrumental analysis conditions to obtain the best results for the separation and run time of ethylated Hg^0 , MeHg , and Hg^{2+} . The optimum condition is the following: the flow rates of purging gas nitrogen and carrier gas argon were 344 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ and 34 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, respectively. And the GC column temperature was about 40°C. For ethylation reagent (1% NaBEt_4 solution), an optimum volume of 40 μL was selected when the content of MeHg ranged from 0 to 100 pg. Finally, this optimized method was used to analyze target chemicals in fish samples digested separately by $\text{KOH}/\text{H}_2\text{O}$ and $\text{KOH}/\text{CH}_3\text{OH}$ solutions. The results showed good accuracy and precision that meet the requirement for analysis of MeHg in fish.

Keywords: methylmercury, analyze, optimize.