

HPLC/ICP-MS 法测定水质中 Cr(III)和 Cr(VI)的研究

黎 飞^{1,2}, 王 扬^{2*}, 张 成², 黄 城², 叶磊海²

(1.浙江大学 动物科学学院, 浙江 杭州 310058; 2.浙江省水产质量检测中心, 浙江 杭州 310012)

摘要: 采用高效液相色谱(HPLC)和电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)联用技术建立了三价铬 Cr(III)和六价铬 Cr(VI)两种铬形态的分析方法. 通过对流动相的组成、浓度、pH 值等色谱条件的优化以及雾化气、等离子体气、冷却气、碰撞气流量等质谱条件的优化, 最后使用 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙酸铵和 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙二胺四乙酸(EDTA)溶液作为流动相, 并用四丁基氢氧化铵(TBAH)调节 pH 值(pH=7.5), 成功分离了 Cr(III)、Cr(VI)两种铬化合物, 两者的检出限均达到 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. 用该方法对环境水样进行 Cr(III)和 Cr(VI)测定, 加标回收率为 85.0%~101%.

关键词: 铬; 形态分析; 高效液相色谱 - 电感耦合等离子体质谱; 水样

中图分类号: S912

文献标识码: A

文章编号: 1001-5132 (2012) 03-0013-04

铬在自然界中分布广泛而稀疏, 几乎存在于所有物质之中, 可以形成从 -2 到 +6 多种价态化合物, 最常见的是 Cr(III)和 Cr(VI)^[1]. Cr(III)是人体维持生命的必需元素, 可以促进人体内葡萄糖的利用; Cr(VI)在热力学上稳定, 在生物体内有很强的流动性, 以 CrO_4^{2-} 和 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 的形态通过带负电荷的细胞膜, 并且促使氧化, 从而导致病变发生^[2-3]. 铬的不同形态对环境对人体健康有着明显不同的影响, 因此对铬不同形态进行分析, 在环境科学、医药学、食品科学方面都具有重要的意义.

元素形态分析需要用现代分析技术对环境、生化样品中的元素形态进行原位、在线、微区和瞬时的高灵敏度和高分辨率的综合分析, 单一的仪器或技术很难同时完成精确测定 Cr(III)和 Cr(VI), 联用技术是当前元素形态分析的重要研究手段^[4-13]. 笔者采用 HPLC 与 ICP-MS 联用技术对铬的形态进行检测, 将 ICP-MS 用作 HPLC 的检测器, 跟踪 Cr(III)和 Cr(VI)的瞬间信号变化, 进行元素形态定性和定量分析. 与传统方法相比, HPLC/ICP-MS 法具备诸多优点: 检测限低, 测定范围广, 分离步骤少, 分离程序快, 保持元素原有形态被直接检测等等, 提高了分析效率.

1 材料与方法

1.1 药品及试剂

标准储备液: Cr(III)、Cr(VI)两种形态的储备液 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (采购于美国 Sigma-Aldrich 公司), 然后分别将其稀释为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准中间液; 四丁基氢氧化铵(TBAH, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 乙二胺四乙酸(EDTA), 分析纯; 乙酸铵, 分析纯.

1.2 仪器设备

XSERIES 型电感耦合等离子体质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), 质谱仪采用单离子采集方式在 $m/z=52$ 处采集离子强度. 色谱分离系统使用 Agilent 1100 系列的高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), 配置 1100 型自动进样阀; C8 色谱柱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司).

1.3 色谱条件

实际操作中液相色谱和电感耦合等离子质谱的具体工作条件见表 1 和表 2.

1.4 检出限的确定和标准曲线绘制

实验对试剂空白进行 11 次平行测定, 计算空白标准偏差, 确定 Cr(III)和 Cr(VI)的检出限均达到 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

收稿日期: 2012-01-15.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://3xb.nbu.edu.cn>

基金项目: 浙江省分析测试基金(2009F70069); 浙江省水产技术推广总站站长基金(TGZ200801).

第一作者: 黎 飞(1983-), 男, 广东茂名人, 工程师, 主要研究方向: 水产品质量与环境监测. E-mail: fei3881@163.com

*通讯作者: 王 扬(1973-), 女, 浙江舟山人, 教授级高工, 主要研究方向: 水产品营养质量检测和安全评价. E-mail: wangyangruanfang@163.com

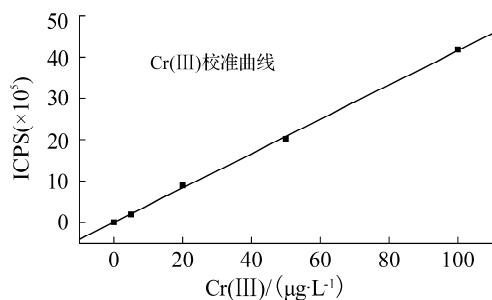
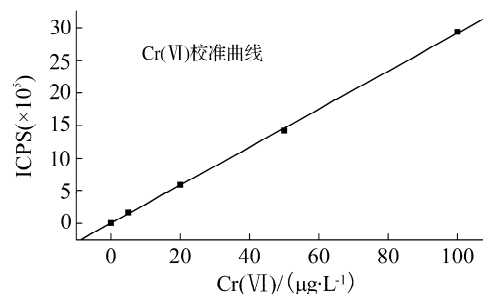
表1 高效液相色谱仪工作参数

参数	设定值
色谱柱/mm	Hypersil Gold, 150×4.6
进样体积/ μL	100
流速/ $(\text{mL}\cdot\text{min}^{-1})$	1.0
柱温	常温

表2 电感耦合等离子体质谱仪工作参数

参数	设定值
RF 功率/W	1 300
真空仓压力/Pa	6.8×10^{-7}
采样深度/mm	120
冷却气流量(Ar)/ $(\text{mL}\cdot\text{min}^{-1})$	13
等离子体气流量(Ar)/ $(\text{mL}\cdot\text{min}^{-1})$	0.7
雾化气流量(Ar)/ $(\text{mL}\cdot\text{min}^{-1})$	0.86
采样锥(Ni)孔径/mm	1.1
截取锥(Ni)孔径/mm	0.75
数据采集模式	跳峰
积分时间/s	0.02
测量时间/s	800
碰撞气	$\text{H}_2\text{-He}$
碰撞气流速/ $(\text{mL}\cdot\text{min}^{-1})$	7.02
离子镜组工作电压/V	125
动能歧视功能/V	-6

标准使用液: 用 $0.01 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA 为介质配置 0 、 5.0 、 20.0 、 50.0 、 $100.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cr(III) 、 Cr(VI) 两种形态的混合标准系列使用液, 定容前用 10% TBAH 调节 pH 至 7.5 , 最后用 60°C 水浴加热 3 h . 在表 1 和表 2 的实验条件下测定 Cr(III) 和 Cr(VI) 的 ICPS, 分别绘制 Cr(III) 和 Cr(VI) 含量与 ICPS 峰面积的关系曲线(图 1 和图 2). Cr(III) 线性方程为: $y=41\ 561x+4\ 122$, 其中 x 为 Cr(III) 含量($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 相关系数为 $0.999\ 7$; Cr(VI) 线性方程为: $y=29\ 145x+2\ 825$, 其中 x 为 Cr(VI) 含量($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 相关系数为 $0.999\ 8$.

图1 Cr(III) 含量与 ICPS 关系曲线图2 Cr(VI) 含量与 ICPS 关系曲线

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

Cr(III) 、 Cr(VI) 等铬的化合物随着 pH 值的改变化合物形态可呈现中性、带正电或带负电, 可见离子交换色谱分离模式比较适合铬形态的分离. Cr(III) 、 Cr(VI) 这两种形态可用阴离子交换法进行分离. 根据现有的实验条件采用反相色谱分离模式, 使用 C_8 柱. 色谱条件的优化实际上是把提高柱分离效率和缩短分析时间两者结合起来考虑, 这些操作条件包括色谱柱的类型、柱内径、柱长, 固定相的粒度, 流动相的组成、浓度、酸度以及操作温度等.

2.1.1 流动相组成及浓度的选择

反相离子对色谱操作简便、柱效高, 可分离生化和环境样品中各种铬的形态. 根据分离形态的酸碱性不同, 只要改变流动相的 pH 值、反离子的种类及浓度即可控制各形态的保留值^[14]. 铬酸根和 Cr(III) 阳离子经过 HPLC 的 C_8 柱时都不被保留, 采用离子对试剂与其在色谱柱中形成中性的离子对可达到保留的目的. 能应用于铬酸根和 Cr(III) 阳离子等铬形态的离子对试剂有四丁基氢氧化铵 (TBAH)、溴化四丁基铵 (TBBA) 等有机铵离子以及戊烷磺酸钠、十二烷基磺酸钠等烷基磺酸盐等. 笔者主要考察了 TBAH 反相离子对试剂以及乙酸铵和 EDTA 作为缓冲溶液, 并加入到反相色谱流动相 - 水中配制成反相离子对色谱法中的流动相.

直接采用 TBAH 来调节溶液的酸碱度, 尽量避免试验带来的新干扰. 有关研究表明: 在酸存在时, 六价铬易还原成三价铬; 溶液呈碱性时, 三价铬可能会被空气中的氧氧化成六价铬. 实验对 pH $6.5\sim 8.0$ 进行了考察, 结果表明: 保持 pH 为 7.5 对于稳定成分以及最佳的色谱分离至关重要.

2.1.2 洗脱方式的选择

高效液相色谱中洗脱方式可分为梯度洗脱和等度洗脱2种^[13]。梯度洗脱的一般情况是流动相随时间的变化呈线性变化,即所谓的线性梯度。等度洗脱方式进行色谱分离时,流动相的组成如溶剂的极性、离子强度等保持不变。与等度洗脱相比,梯度洗脱中常存在以下问题:空白梯度(不进样品仅运行梯度得到的基线)存在基线漂移;容易出现杂质峰;重现性也较差。笔者选用等度洗脱方式进行试验,因为HPLC/ICP-MS的联用技术对方法的重现性有较高的要求,梯度洗脱易引起ICP-MS后续测定中等离子体不稳等问题。

2.2 样品(包括标准液)稳定化的方法

在天然样品中Cr(VI)以 CrO_4^{2-} 存在,Cr(III)以 Cr^{3+} 存在,铬酸根是阴离子,而铬离子是阳离子。因此,在同样条件下不能简单地用离子交换方法同时分析这2种价态,而且在溶液中Cr(III)是最稳定的氧化价态,而Cr(VI)离子却是强氧化剂,在酸或有有机物存在时,Cr(VI)容易还原成Cr(III)。因此,样品制备要采用一定的样品稳定化方法,以确保样品保持原有的Cr价态分布。采用样品稳定化方法:在样品中加入相对浓度较高的EDTA和Cr(III)络合,形成较稳定的Cr(III)EDTA络合物。Cr(III)EDTA络合反应时间与温度有关,一般情况下40 时3h,60 时1h即可。

2.3 质谱条件的优化及干扰的消除

质谱的优化主要通过调节雾化气流量、辅助气流量、等离子体气流量、碰撞气流量、离子镜组工作电压等工作参数,使进样系统在一定的提升量下维持较高的雾化效率和足够的信号强度^[11]。

在质谱干扰中,多原子干扰是ICP-MS测定过程中主要的干扰,铬在 $m/z=52$ 处常见的多原子离子干扰类型,如 $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ 。近期常用的技术有碰撞反应池(CCT)和动态反应池(DRC)技术^[4,8,10]。笔者采用CCT技术,使用的碰撞气为含有7% H_2 的氦气。CCT主要是动能鉴别,它的机理是通过离子-分子的碰撞击碎来减少多原子干扰,利用动能选择的原理来消除干扰离子。多原子干扰物因为分子横截面比待测离子大,与反应气相互撞击的机会大而被击碎并产生新的低质量数离子或由于多次碰撞而失去大部分动能;而待测离子由于受撞

击机率小,动能降低较少。此时,碰撞反应池中的一个能量过滤装置可以确保待测离子进入后面的质量分析器而失去动能的干扰离子不能进入。

2.4 HPLC/ICP-MS的色谱图

在对色谱条件和质谱条件优化的基础上建立了一种应用反相离子对高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱(HPLC/ICP-MS)联用技术进行铬化合物形态分析的方法。用 $20\text{ mm}\cdot\text{mol}^{-1}$ 乙酸铵和 $2\text{ mm}\cdot\text{mol}^{-1}$ 乙二胺四乙酸(EDTA)溶液作为流动相,并用四丁基氢氧化铵(TBAH)水溶液调节pH值(pH=7.5),流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时,成功地分离了Cr(III)、Cr(VI)两种铬化合物。2种铬化物混合标准溶液的HPLC/ICP-MS色谱如图3所示。

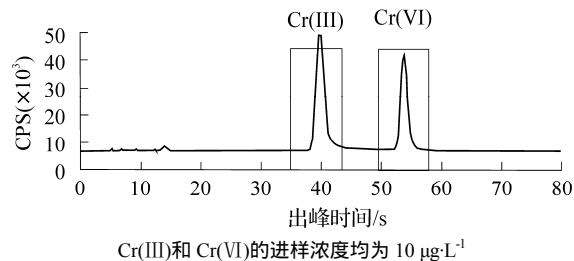


图3 铬化物混合标准溶液的反相离子对色谱图

3 样品分析

3.1 环境水样测定

按上述方法,分别对采自舟山、嘉兴、温州和台州的环境水样加入 $2\text{ mm}\cdot\text{mol}^{-1}$ 乙二胺四乙酸并经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤后进行测定,测定结果见表3。

表3 环境水样中铬的形态分析结果 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

样品	Cr(III)	Cr(VI)	总 Cr
舟山水样	0.5	0.7	1.2
嘉兴水样	5.6	15.3	20.9
温州水样	4.8	5.5	10.3
台州水样	1.6	1.2	2.8

表4 舟山水样加入标准铬回收试验

$m_{\text{add}}/\mu\text{g}$		$m_{\text{found}}/\mu\text{g}$		$R_{\text{Cr(III)}}$	$R_{\text{Cr(VI)}}$
Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	%	%
1.000	1.000	1.010	0.980	101.0	98.0
0.100	0.100	0.095	0.097	95.0	97.0
0.020	0.020	0.018	0.017	90.0	85.0

3.2 加标回收率的测定

分别取舟山水样 20 mL 滤液加入不同梯度标

准铬按实验方法测定, Cr(VI)、Cr(III)回收率在85%~101%, 详见表4.

4 结论

通过对流动相的组成、浓度、pH 值等色谱条件的优化以及雾化气、等离子体气、冷却气、碰撞气流量等质谱条件的优化, 建立了 HPLC/ICP-MS 联用进行 Cr(III)和 Cr(VI)形态分析的方法, 两者的检出限均达到 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 且回收率为 85.0%~101%, 为今后 HPLC/ICP-MS 联用技术应用于实际样品的分析提供了参考.

参考文献:

- [1] 赵堃, 柴立元, 王云燕, 等. 水环境中铬的存在形态及迁移转化规律[J]. 工业安全与环保, 2006, 32(8):1-3.
- [2] 孟紫强. 环境毒理学[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2000:141-146.
- [3] 李响. 铬与健康的关系[J]. 中国疗养医学, 2004, 13(4): 237-238.
- [4] 孙梅, 吴强华. 环境中铬形态分析研究进展[J]. 理化检验: 化学分册, 2008, 44(10):1012-1016.
- [5] 方军, 舒永红, 滕久委, 等. HPLC-ICP-MS 测定中药中砷的形态[J]. 分析试验室, 2007(9):39-42.
- [6] 周赛春, 江海亮, 周先波, 等. 浊点萃取 - 石墨炉原子吸收光谱法对不锈钢餐具溶出铬的形态分析[J]. 分析测试学报, 2008, 27(4):405-407.
- [7] 李妍, 刘书娟, 江冬青, 等. 气相色谱 - 电感耦合等离子体质谱联用技术应用于水产品中汞形态分析[J]. 分析化学, 2008(6):793-798.
- [8] 黄志勇, 吴熙鸿, 胡广林, 等. 高效液相色谱/电感耦合等离子体质谱联用技术用于元素形态分析的研究进展[J]. 分析化学, 2002, 30(11):1387-1393.
- [9] Beauchemin D, Siu K W M, McLaren J W, et al. Determination of arsenic species by high-performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. J Anal At Spectrom, 1989, 4(3):285-289.
- [10] 周瑛, 叶丽, 竹鑫平. HPLC-ICP-MS 在食品中硒和砷形态分析及其生物有效性研究中的应用[J]. 化学进展, 2007, 19(6):983-995.
- [11] Hansen S H, Pritzl G, Cornett C. Separation of seven arsenic compounds by high-performance liquid chromatography with on-line detection by hydrogenation flame atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. J Anal At Spectrom, 1992, 7(4):629-634.
- [12] 郭志英, 于水. HPLC/ICP-MS 在环境用品的痕量元素形态分析中的应用[J]. 质谱学报, 2006, 27(1):56-62.
- [13] 刘二保, 梁建功, 韩素琴, 等. 铬的形态分析研究与进展[J]. 理化检验: 化学分册, 2003, 39(6):368-371.
- [14] 朱彭龄. 梯度洗脱[J]. 分析测试技术与仪器, 2000, 6(4):193-199.

Determination of Chromium Species Cr(III) and Cr(VI) in Water Sample by HPLC/ICP-MS

LI Fei^{1,2}, WANG Yang^{2*}, ZHANG Cheng², HUANG Cheng², YE Lei-hai²

(1.College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2.Zhejiang Provincial Fishery Quality Testing Center, Hangzhou 310012, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometric method are presented for analyzing 2 chromium speciations, including Cr(III) and Cr(VI). In this paper, with optimization of chromatographic conditions and optimization of mass spectrometry conditions, the condition for obtaining a set of optimal parameters is established. The process involves using $20 \text{ mm}\cdot\text{mol}^{-1}$ ammonium acetate and $2.0 \text{ mm}\cdot\text{mol}^{-1}$ ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA) solutions as the mobile phase, and using tetrabutylammonium hydroxide (TBAH) to adjust the pH value (pH=7.5), by which chromium compounds of Cr(III), Cr(VI) are successfully separated. The recovery ratio of standard addition in water sample is 85.0%-101%.

Key words: chromium; speciation analysis; HPLC/ICP-MS; water sample

(责任编辑 史小丽)