

HPLC-ICP-MS 法测定污染土壤中蚯蚓的形态铬含量

ICPMS-140

摘要：本文利用电感耦合等离子体质谱仪（ICPMS-2030）与岛津惰性液相系统 LC-20Ai 联用，测定了蚯蚓体内三价铬和六价铬的含量。实验结果表明：各形态铬的相关系数 $r > 0.9998$ ，三价铬和六价铬的加标回收率在 99~106% 之间。使用岛津的惰性液相系统与岛津 ICPMS-2030 联用可以方便准确的测定土壤中生物样本中的不同形态铬的含量。

关键词：HPLC-ICP-MS 土壤 污染 蚯蚓 形态铬

近几十年来，随着工业化的快速发展，重金属排放量不断增加，农业中肥料不合理的使用，也使得重金属大量积聚于土壤中，导致重金属对土壤的污染越来越严重，引起了人们的广泛关注。重金属对土壤的污染，因其隐蔽性、不可逆性和长期性的特点，对陆生生态系统构成了巨大的潜在威胁。

铬 (Cr) 是广泛应用于工农业领域的一种重金属，是化肥农药、冶金、金属加工等行业常用的基本原料，随着生产过程中产生的含 Cr 废水、废液、废渣、废气的排放进入环境，导致土壤污染。铬常见的存在价态有两种，即三价铬 [Cr(III)] 和六价铬 [Cr(VI)]，由于不同的铬形态彼此之间的毒性差异较大，传统的仅通

过测定环境样品中的总铬进行环境质量评价和风险评估的方法缺乏科学性，不能给出有关毒性的准确信息，因此有必要建立能够高效分离测定环境样品中形态铬的方法。

目前，在元素形态分析技术中，色谱与质谱的联用已成为主要趋势。本文使用岛津电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 与惰性液相色谱仪联用，测定了污染土壤中蚯蚓的形态铬含量，建立了分析生物样品中形态铬含量的方法。这既可以反应土壤中不同形态铬含量的多少，又可以反应铬对生物的影响，有利于土壤污染长期监控。

■ 实验部分

1.1 标准品

三价铬 [Cr(III)] 和六价铬 [Cr(VI)] 标准物质

1.2 样品

赤子爱胜蚓

1.3 仪器

本实验使用岛津惰性液相色谱仪 LC-20Ai 与电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 联用系统，具体配置为 LC-20Ai×2 输液泵，DGU-20A3 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪，LabSolutions ICPMS TRM 工作站；AP135W 电子天平（岛津）；USK-4R 超声清洗器。

1.4 试剂

实验用水由 Milli-Q 水净化系统经去离子与二次净化制得；硝酸、氨水、EDTA 均为优级纯。

■ 方法

2.1 标准溶液配制

以 50 mmol/L 的 EDTA (pH=7.0) 稀释剂配制 10 mg/L 三价铬标准溶液, 将配制的 10 mg/L 三价铬标准溶液置于烘箱中 50°C 静置一小时, 使三价铬与 EDTA 充分络合, 以去离子水配制 10 mg/L 六价铬标准溶液。用 50 mmol/L 的 EDTA (pH=7.0) 稀释剂配制每 1 mL 各含 1 ng、5 ng、10 ng、20 ng、50 ng、100 ng 三价铬 [Cr(III)] 和六价铬 [Cr(VI)] 的系列浓度的混合标准溶液, 摇匀, 即得。

2.2 样品的处理方法

将污染土壤中培养的蚯蚓样品洗净后冷冻干燥, 取出后研磨为细粉。准确称取 0.1 g 蚯蚓样品于塑料量瓶中, 添加 10 mL 50 mmol/L 的 EDTA (pH=7.0) 溶液, 60°C 超声处理 2h, 自然冷却后将样品溶液 10000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 0.45 μm 水系滤膜过滤后测定。

2.3 色谱条件

色谱条件参见表 1。

表 1 HPLC 分析条件

参 数	参数设定
色谱柱	Hamilton PRP-X100 Anion Exchange (250*4.1mm; 10 μm)
流动相	200 mM 硝酸铵 (pH 7.0)
流 速	0.8 mL/min
柱 温	40 °C
进样量	50 μL
洗脱程序	等度洗脱

2.4 质谱条件

ICP-MS 仪器分析条件见表 2。

表 2 ICP-MS 分析条件

参 数	参数设定	参 数	参数设定
高频功率	1.20 kW	等离子体气流速	8.0 L/min
辅助气流速	1.10 L/min	载气流速	0.70 L/min
炬管类型	Mini 炬管	雾化器	同心雾化器
雾化室	旋流	雾化室温度	5°C
采样深度	5.0 mm	高频频率	27.12 MHz
碰撞气体	He	碰撞气流速	6 mL/min
池电压	-21 V	能量过滤器电压	7.0 V

■ 结果与讨论

3.1 专属性考察

对空白和 Cr(III)、Cr(VI) 溶液进样考察, 排除系统干扰, 并且考察 Cr(III) 和 Cr(VI) 的分离度, 以确保实际样品分析过程中不会造成假阳性检出, 见图 1。

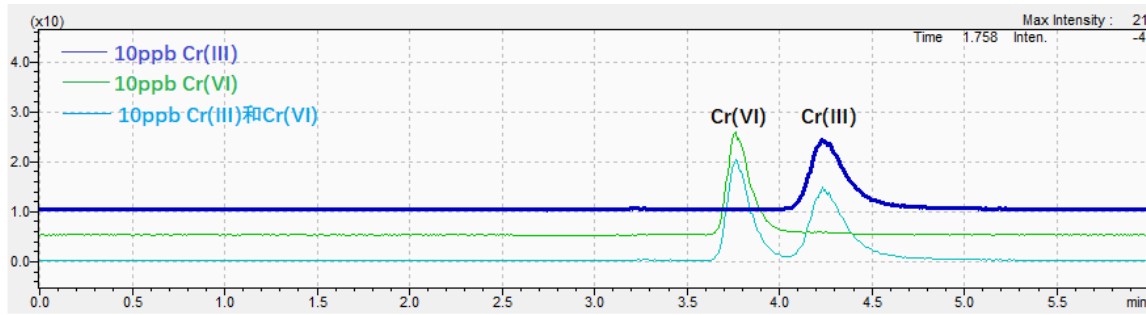


图1 三价铬和六价铬的色谱图

3.2 线性关系考察

按“2.1 标准溶液的配制”项下规定进行标准曲线系列浓度的配制，测试各浓度点色谱峰的面积，以浓度与峰面积比值做线性回归绘制标准曲线，结果见图 2、3 所示。

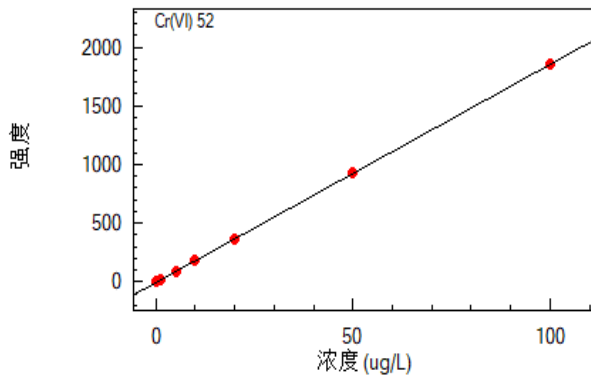


图2 Cr(VI) 校准曲线 $r=0.9999$

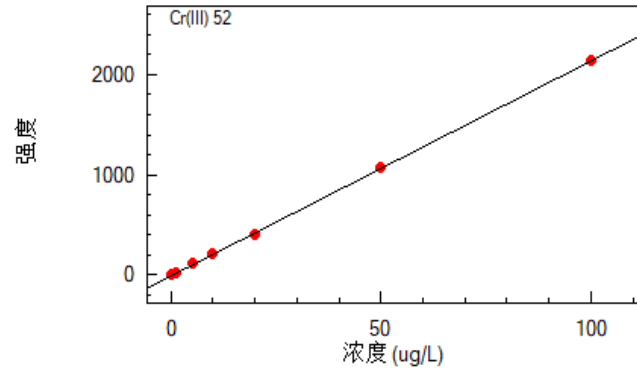


图3 Cr(III) 校准曲线 $r=0.9998$

3.3 检出限考察

在进样体积为 50 μL 时，对浓度为 5.0 $\mu\text{g/L}$ 样品溶液考察三价铬、六价铬的信噪比，折算信噪比 $S/N=3$ 时为仪器检出限，并依据样品前处理过程计算方法检出限，结果如下：

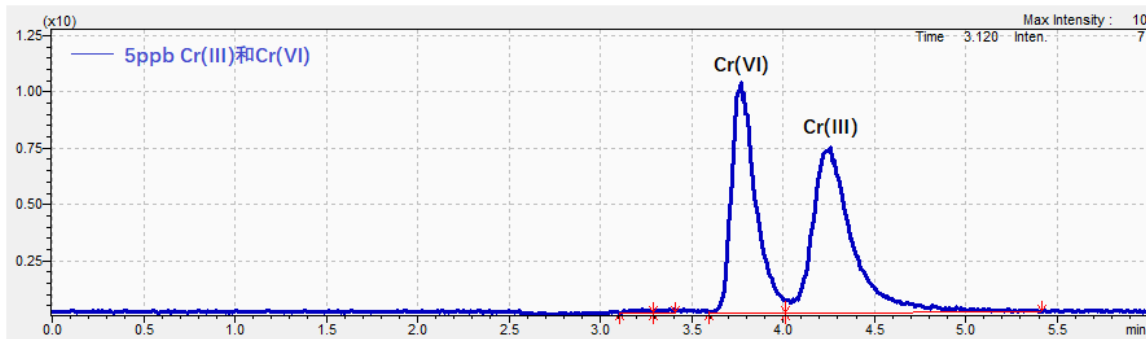


图4 5.0 $\mu\text{g/L}$ 三价铬、六价铬标准溶液的色谱图

表 3 检出限考察结果

名称	仪器检出限 (μg/L)	方法检出限 (mg/kg)
Cr(III)	0.099	0.010
Cr(VI)	0.071	0.007

3.4 样品分析结果

使用 HPLC 分离三价铬和六价铬，ICPMS-2030 测定了蚯蚓体内三价铬和六价铬的含量，并进行加标回收率实验。同一样品重复进样 3 针考察测量重复性，实验结果见表 4。

表 4 回收率考察结果

分析项目	测定结果 (μg/L)	加标量 (μg/L)	加标后测定值 (μg/L)	加标回收率 (%)	RSD (n=3) (%)
Cr(III)	27.47	25	52.1	99	1.47
Cr(VI)	ND	10	10.6	106	0.48

■ 结论

采用 ICPMS-2030 与岛津惰性液相色谱 LC-20Ai 联用，利用阴离子交换色谱分离的机理，建立了快速测定蚯蚓体内铬形态的分析方法。分析结果线性相关系数良好， $r > 0.9998$ ，加标回收率良好，方法准确、可靠，适用于测定土壤中生物样本中不同形态铬含量。

岛津应用云

