

文章编号: 0254 - 5357(2008)03 - 0179 - 05

土壤中不同形态砷的分析方法

张静, 刘晓端*, 江林
(国家地质实验测试中心, 北京 100037)

摘要: 选取磷酸作为提取剂, 比较了超声和水浴两种方法辅助提取土壤中不同形态的砷, 离子色谱-氢化物发生原子荧光光谱联用法(IC-HGAFS)测定砷的4种形态, 即As(III)、As(V)、MMA(甲基胂酸)和DMA(二甲基胂酸)。从测定结果可以看出, 水浴的提取效果明显高于超声的提取效果。土壤中砷以无机态为主, 而无机态砷又以As(V)为主, 没有检测到有机砷。测定土壤中各种形态砷的加标回收率为72.0%~105.4%, 相对标准偏差(RSD, $n=5$)为2.61%~8.19%。

关键词: 超声提取; 水浴提取; 离子色谱-氢化物发生原子荧光光谱法; 砷形态; 土壤
中图分类号: O652.6; O655.6; O613.63 **文献标识码:** A

Speciation Analysis of Arsenic in Soil Samples

ZHANG Jing, LIU Xiao-duan*, JIANG Lin
(National Research Center for Geoanalysis, Beijing 100037, China)

Abstract: A new method for analysis of four arsenic species of As(III), As(V), methanearsonic acid(MAA) and dimethyl arsenic acid(DMA) in soil samples was developed. Phosphoric acid was chosen as the extractant and two techniques of ultrasonic wave and water bath were used for extracting the arsenic species from soil samples. Ion chromatography-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry was used for the determination of arsenic species. The recovery of the method was 72.0%~105.4% with precision of 2.61%~8.19% RSD($n=5$). The analytical results from the study showed that the extraction efficiency by water bath was remarkably superior to that by ultrasonic wave. And the results also showed that the main arsenic species in soils were inorganic arsenic such as arsenate and arsenite, in which As(V) was in abundant and no organic arsenic was detected.

Key words: ultrasonic extraction; water bath; ion chromatography-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry; arsenic speciation; soil

近年来, 形态分析得到了普遍重视和迅速发展, 主要是因为元素的总量不仅不足以评价其毒性、有益性以及生物有效性, 甚至有可能产生误导。其中砷就是一个典型的例子。砷在自然界中以无机和有机砷形式存在, 不同形态的砷, 其理化性质各不相同, 毒性大小也有差异。一般说来, 无机砷的毒性大于有机砷, 其毒性顺序为: AsH_3 、As(III)、As(V)、甲基胂酸(Monomethylarsonic Acid, MMA)、二甲

胂酸(Dimethylarsonic Acid, DMA)、砷胆碱(Arsenocholine, AsC)、砷甜菜碱(Arsenobetaine, AsB), 而AsC和AsB常被认为是无毒的^[1]。

土壤中的砷通常以无机形式存在, 并以As(V)形式为主。目前, 分析土壤中砷形态所采用的提取剂种类很多^[2-7], 有柠檬酸铵-盐酸、磷酸与EDTA、盐酸羟胺等不同试剂的组合提取, 还有草酸铵、碳酸钠以及碳酸氢钠等提取剂, 众多提

收稿日期: 2008-01-31; 修订日期: 2008-02-29

作者简介: 张静(1982-), 女, 北京市人, 在读硕士研究生, 分析化学专业。E-mail: zhangjing51012@163.com。

通讯作者: 刘晓端(1951-), 女, 北京市人, 研究员。E-mail: liuxiaoduan@sina.com。

取剂中以磷酸的提取效果为最佳,同时白云飞^[8]采用不同的提取剂(水、草酸铵、盐酸、磷酸盐和磷酸)对比,验证了此结论。因此本实验选用磷酸作为提取剂,建立土壤中砷形态的提取方法,并应用砷形态分析仪测定砷的4种形态。

1 实验部分

1.1 仪器及工作条件

KQ-500DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),工作频率40 kHz,电功率500 W。

SA-10型砷形态分析仪(北京吉天仪器有限公司),为离子色谱-氢化物发生原子荧光光谱(IC-HG-AFS)的联用设备。IC部分包括LC-10ATVP型高压液相泵(岛津公司),配有50 μ L定量环的7725i六通进样阀(Rheodyne, Cotati, CA, USA),分离柱为Hamilton公司的PRP(苯乙烯-二乙烯基苯共聚物)-X100(250 mm \times 4.1 mm i. d., 10 μ m)型阴离子交换柱,并配有相同填料的保护柱(25 mm \times 2.3 mm i. d., 12~20 μ m)。HCl和KBH₄由一个蠕动泵引入,生成的氢化物在气-液分离器被分离并被氩气带入石英原子化器。检测设备HG-AFS(北京吉天仪器有限公司),激发光源是高性能砷空心阴极灯(北京有色金属研究总院),测量采用SA-10型形态分析仪专用数据采集系统软件控制,用峰面积评价所有峰,其工作条件见表1。4种砷形态标准溶液的色谱图见图1。

表1 SA-10型形态分析仪工作条件

Table 1 Working parameters of SA-10 speciation analyzer

部件	参数	工作条件
色谱参数 (IC)	阴离子交换柱	Hamilton PRP-X100 (250 mm \times 4.1 mm i. d., 10 μ m)
	流动相	15 mmol/L (NH ₄) ₂ HPO ₄ (pH 6.0)
	流速	1 mL/min
	进样体积	50 μ L, 100 μ L
氢化物发生 (HG)	KBH ₄	15 g/L 加入到 5 g/L KOH, 4.5 mL/min
	HCl	φ (体积分数,下同)=7% β .0 mL/min
	灯	高性能砷空心阴极灯, 193.7 nm
原子荧光 光谱(AFS)	负高压	270 V
	灯电流	100 mA
	辅助阴极	50 mA
	载气	氩气 400 mL/min
	屏蔽气	氩气 600 mL/min

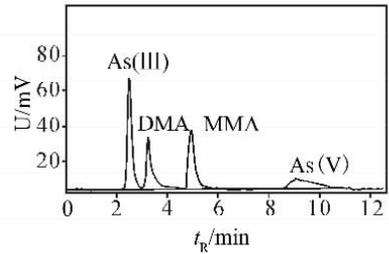


图1 标准溶液中四种砷形态的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of four arsenic species in standard solution

1.2 主要试剂的制备

1.2.1 标准储备溶液的配制

二甲基砷酸标准储备溶液:准确称取0.1840 g (CH₃)₂AsO₂H(纯度 \geq 99.0%, Fluka Chemie GmbH CH-9471 Buchs USA)于100 mL烧杯中,用少量去离子水溶解,并转入100 mL容量瓶中,用去离子水定容至100 mL,即可配制得1000 mg/L储备液。

甲基砷酸标准储备溶液:准确称取0.3893 g CH₃AsNa₂O₃·6H₂O(纯度99.0%, 美国 Chem Service 公司)于100 mL烧杯中,用少量去离子水溶解,并转入100 mL容量瓶中,用去离子水定容至100 mL,即可配制得1000 mg/L储备液。

As(V)标准储备溶液:准确称取0.4160 g Na₂HAsO₄·7H₂O(西班牙 Sigma-aldrich 公司)于100 mL烧杯中,用少量去离子水溶解,并转入100 mL容量瓶中,用去离子水定容至100 mL,即可配制得1000 mg/L储备液。

As(III)标准储备溶液:1000 mg/L As(III)储备液(φ =10%的HNO₃介质,国家地质实验测试中心配制)。

混合标准溶液:将1000 mg/L四种形态砷标准储备溶液分别逐级稀释得到10 mg/L的标准工作溶液,用移液管分别从10 mg/L的四种形态砷工作溶液中量取2 mL,移入100 mL容量瓶中,用去离子水定容,即可配制得200 ng/mL的混合标准溶液。

1.2.2 流动相的配制

磷酸氢二铵溶液:准确称取(NH₄)₂HPO₄ 1.9808 g置于1000 mL去离子水中,待固体完全溶解后,用 φ =10%的甲酸溶液调节pH至6.0,再采用溶剂过滤器过0.2 μ m水系膜,之后超声波超声15 min脱气,备用。

1.2.3 磷酸提取剂

本实验选用 H_3PO_4 作为提取剂, 配制其浓度依次为 0.3 mol/L、0.6 mol/L 和 1.0 mol/L, pH 分别为 1.30、1.08 和 0.90。

1.3 样品

实验所用沉积物和土壤样品为武汉综合岩矿测试中心研制的长江沉积物(GSS-31、GSS-32), 洪湖沉积物(GSS-33), 江西红壤(GSS-34)和富硒土壤(GSS-35)标准物质。

1.4 标准系列

取 200 ng/mL 的混合标准溶液 0、2、5、10、20、25 mL 于 50 mL 容量瓶中, 0.25 mol/L H_3PO_4 介质, 用去离子水定容, 配制成 0、10、20、40、80、100 ng/mL 的标准溶液。

2 超声提取实验

2.1 样品处理

准确称取 0.2000 g 样品, 放入 10 mL 塑料比色管中, 提取剂按提取次数依次加入 5、3 和 2 mL (即第 1 次提取加入 5 mL, 第 2 次提取加入 3 mL, 第 3 次提取加入 2 mL), 摇匀后放入超声仪中按规定的超声提取时间, 然后在 2500 r/min 下离心分离 20 min, 取上层清液过 0.2 μm 滤膜后上机测定。

2.2 正交实验设计

本实验以 H_3PO_4 为提取剂, 对土壤中不同形态的砷进行提取。采用正交实验设计的方法, 在减少实验量的同时能够得出影响砷形态提取的主要因素, 取得最佳的提取条件。采用 $L_9(3^4)$ 正交水平表进行实验, 以提取所得的砷形态总和为监控指标, 考察提取次数、提取时间、提取剂浓度三种因素对提取结果的影响。

2.3 土壤中砷形态的结果及分析

根据表 2 磷酸提取的正交实验, 按 2.1 节设计的砷形态提取操作步骤与测试方法对土壤标准样品 GSS-35 [标准值 $u(As)$ 为 $(14.5 \pm 0.8) \mu g/g$] 进行提取和测定, 结果见表 2。

从表 2 可以看出, 样品中的砷主要以无机态的 $As(V)$ 存在, 没有检测到 MMA 和 DMA 两种有机砷, 表明土壤样品中的砷主要以无机态形式存在。同样可以看出, 不同的提取条件对提取率的影响比较大。

下面以砷的提取率作为考察指标, 利用极差分析进行主要影响因素和最佳提取条件的确定, 结果见表 3。

表 2 土壤中砷形态提取正交实验结果^①

Table 2 The orthogonal experiment result of As speciation in soil

因素	实验1	实验2	实验3	实验4	实验5	实验6	实验7	实验8	实验9
磷酸浓度(mol/L)	0.3	0.6	1.0	0.3	0.6	1.0	0.3	0.6	1.0
提取次数(次)	1	1	1	2	2	2	3	3	3
超声时间(min)	10	20	30	20	30	10	30	10	20
$As(III)$ ($\mu g/g$)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DMA($\mu g/g$)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MMA($\mu g/g$)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$As(V)$ ($\mu g/g$)	3.81	5.44	6.99	3.88	6.16	7.20	4.80	5.10	7.35
总量($\mu g/g$)	3.81	5.44	6.99	3.88	6.16	7.20	4.80	5.10	7.35
提取率(%)	26.24	37.50	48.21	26.79	42.50	49.67	33.08	35.15	50.68

① 表中“-”表示未检出, 后续表格含义相同。

表 3 正交实验极差分析

Table 3 The range analysis of the orthogonal experiment

水平	因素		
	提取次数(A)	提取剂浓度(B)	提取时间(C)
I	0.373	0.287	0.37
II	0.397	0.384	0.383
III	0.396	0.495	0.413
极差(R)	0.024	0.208	0.043

由正交实验极差分析结果可知, $R_B > R_C > R_A$, 即影响提取效果的因素顺序为提取浓度 > 提取时间 > 提取次数。极差结果表明, 提取剂浓度是影响提取效果的主要因素, 其次为超声提取时间, 提取次数对提取效果的影响不明显。

由表 2 可知, 当 H_3PO_4 浓度从 0.3 mol/L 提高到 1.0 mol/L 时, 提取量有很大幅度的提高; 增加提取次数对提取效率影响甚微, 提取次数每增加 1 次, 提取效率只增加 1% 左右(相对于 1 mol/L 来说); 延长超声时间, 提取率有微弱的提高, 提取效率不明显。

综合以上结果表明, 超声提取的最佳提取条件为 H_3PO_4 浓度 1.0 mol/L, 每次提取 30 min, 提取 2 次即可。

3 水浴提取实验

从表 2 的实验数据可知, 超声提取土壤中不同形态砷, 最高的提取率只有 50.68%, 显然不够理想, 为得到最佳的提取效果, 采用 1.0 mol/L H_3PO_4 为提取剂, 水浴提取, 同时进行加标回收试验, 以提高不同形态砷的提取率, 并进行方法验证。

3.1 样品处理

准确称取 0.2000 g 样品, 放入 10 mL 塑料比

色管中,按实验要求加入 H_3PO_4 提取剂,摇匀后放入 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中 3 h 后提取 2500 r/min 下离心分离 20 min ,取上层清液过 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后上机测定。

3.2 提取条件的选择

在水浴中提取土壤中不同形态的砷涉及的因素有提取次数、提取时间和提取体积。将样品放入 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴箱中,每隔 3 h 提取 1 次,共提取 3 次,分别上机测定。实验结果表明,第 3 次提取待测物中的 As 只占总 As 的 1% 左右,说明 2 次提取就可将绝大部分 As 提取出来,因此本实验选择 2 次提取。

从表 4 分步提取实验中可以看出,方案 2 的提取效果明显优于方案 1,即对土壤选用相同体积的提取剂,提取 2 次, As 的提取效率不高;两次选用不同体积的提取剂,提取率增加。

表 4 水浴提取条件的选择

Table 4 Extracting condition of As species by water bath

方案	$V_{\text{提取剂}}/\text{mL}$	提取率/%	总提取率/%
1	5	60.36	72.21
	5	11.85	
2	10	77.63	83.20
	5	5.57	

初步综合以上结果,水浴提取土壤中不同形态砷的条件为 1.0 mol/L H_3PO_4 提取剂, $100\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中每隔 3 h 提取 1 次,共提取 2 次;第 1 次提取,提取剂体积为 10 mL ,第 2 次提取,提取剂体积为 5 mL 。样品经 2 次提取,滤液合并,过 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后上机测定。

3.3 辅助提取剂的选择

采用优化的实验条件对土壤标准样品(GSS-35)进行加标回收试验,从表 5 的结果可以看出,两种有机砷的回收率在 $92.0\% \sim 101.6\%$,说明在提取的过程中,两种有机砷形态没有发生转化;而从两种无机砷的回收率来看,在提取过程中 $As(III)$ 和 $As(V)$ 之间发生了转化,大部分 $As(III)$ 被氧化成了 $As(V)$,导致 $As(III)$ 的回收率只有 8.4% ,而 $As(V)$ 回收率高达 189.6% 。

从表 5 还可以看出,单独使用 1.0 mol/L H_3PO_4 进行提取,虽然能够得到较大的提取率,但是在提取过程中,由于基质的影响会导致两种无机

砷 $As(III)$ 和 $As(V)$ 之间的相互转化,所得到的结果并不能够真实地反映土壤中原有的各形态的相对含量,也就失去了形态分析的意义。因此,在提取过程中需加入辅助提取试剂,以保证砷的各个形态都有较好的回收率。

表 5 土壤中不同形态砷的加标回收率

Table 5 Recovery of arsenic speciation with 1.0 mol/L H_3PO_4

砷形态	$w_B/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$			回收率 $R/\%$
	本底值	加标量	测定值	
$As(III)$	-	2.50	0.21	8.4
DMA	-	2.50	2.30	92.0
MMA	-	2.50	2.54	101.6
$As(V)$	13.54	2.50	18.28	189.6

参照文献 [5] 选用 0.1 mol/L 抗坏血酸和 10 g/L 盐酸羟胺作为辅助提取试剂,加标回收率结果见表 6。

表 6 磷酸与辅助提取剂提取土壤中不同形态砷的加标回收率

Table 6 Recovery of arsenic species extracted with H_3PO_4 and auxiliary agents

提取剂	砷形态	$w_B/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$			回收率 $R/\%$
		本底值	加标量	测定值	
1.0 mol/L H_3PO_4 + 0.1 mol/L 抗坏血酸	$As(III)$	0.43	2.50	2.21	71.2
	DMA	-	2.50	2.60	104.0
	MMA	-	2.50	2.30	92.0
1.0 mol/L H_3PO_4 + 10 g/L 盐酸羟胺	$As(III)$	12.51	2.50	15.03	100.8
	$As(III)$	0.12	2.50	0.87	30.0
	DMA	-	2.50	2.46	98.4
	MMA	-	2.50	2.34	93.6
	$As(V)$	12.77	2.50	16.66	155.6

从表 6 的结果中可以看出,盐酸羟胺的加入对 $As(III)$ 以及 $As(V)$ 回收率的影响并不明显,回收效果不理想,而加入 0.1 mol/L 抗坏血酸作为辅助提取剂时,各形态砷的回收率在 $71.2\% \sim 104.0\%$,效果较好。

3.4 方法精密度和回收率

用本实验选择的水浴提取最佳提取方法(1.0 mol/L H_3PO_4 与 0.1 mol/L 抗坏血酸),对标准物质 GSS-35 进行本底值测定以及加标回收试验($n=5$)从表 7 结果可以看出,方法的精密度(RSD)各形态砷均小于 9% ,加标量为 $5.00\text{ }\mu\text{g/g}$ 时,回收率在 $72.0\% \sim 105.4\%$,满足精密度与回收率的要求。

表 7 方法的精密度和回收率^①

Table 7 Precision and recovery tests of the method

As 形态	项目	$w_B/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$						RSD/%		回收率 R/%
		分次测定值						平均值		
As(Ⅲ)	本底值	0.31	0.34	0.35	0.34	0.31	0.33	5.42	72.0	
	测定值	3.69	3.69	3.62	3.35	3.63	3.60	4.00		
DMA	本底值	-	-	-	-	-	-	-	90.2	
	测定值	4.41	4.62	4.43	4.66	4.44	4.51	2.61		
MMA	本底值	-	-	-	-	-	-	-	86.0	
	测定值	4.42	4.40	4.36	4.42	3.93	4.30	4.95		
As(V)	本底值	11.04	10.94	10.92	11.20	11.20	11.06	1.10	105.4	
	测定值	5.69	4.83	5.35	5.66	4.81	5.27	8.19		

① 各形态 As 的加标量均为 5.00 $\mu\text{g/g}$ ，测定值均为扣除本底值后的数据。

4 标准物质样品分析

以长江沉积物 GSS-31、GSS-32 洪湖沉积物 GSS-33 以及江西红壤 GSS-34 为样品，采用水浴提取法，提取剂为 1 mol/L H_3PO_4 + 0.1 mol/L 抗坏血酸，分两次提取（第 1 次提取，提取剂 10 mL，第 2 次提取，提取剂 5 mL），进行砷形态分析，同时进行加标回收试验进行验证，结果见表 8、表 9。

表 8 标准物质样品砷形态的测定^①

Table 8 Determination of arsenic species in Standard Reference samples

样品	$\mu(\text{As})(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$					提取率/%
	As(Ⅲ)	DMA	MMA	As(V)	ΣAs	
GSS-31	0.76	-	-	4.82	5.59	93.54
GSS-32	2.75	-	-	6.63	9.38	86.09
GSS-33	3.51	-	-	6.57	10.08	76.94
GSS-34	0.33	-	-	10.33	10.66	67.03

① ΣAs 为砷的四种形态 As(Ⅲ)、DMA、MMA、As(V) 测定值的加和； $\text{As}_{\text{总}}$ 为标准物质中总砷的标准值。

5 结语

用 1.0 mol/L H_3PO_4 和 0.1 mol/L 抗坏血酸辅助提取试剂在 100 °C 水浴中提取土壤和沉积物中的砷形态，得到较好的实验结果，采用离子色谱-氢化物发生原子荧光光谱法重复 5 次测定土壤中 4 种砷形态的回收率为 72.0% ~ 105.4%，相对标准偏差 (RSD) 为 2.61% ~ 8.19%。相比于超声提取，水浴提取土壤中砷形态的提取率明显要高，因此，水浴法是一种提取土壤中砷形态的有效方法。

表 9 标准物质样品砷形态的加标回收率

Table 9 Recovery of arsenic species in Standard Reference samples

样品	测定项目	As(Ⅲ)	DMA	MMA	As(V)
GSS-31	本底值 ($\mu\text{g/g}$)	0.76	-	-	4.82
	加标量 ($\mu\text{g/g}$)	5.00	5.00	5.00	5.00
	测定值 ($\mu\text{g/g}$)	4.41	4.40	4.60	10.19
	回收率 (%)	73.03	87.91	91.92	107.31
GSS-32	本底值 ($\mu\text{g/g}$)	2.75	-	-	6.63
	加标量 ($\mu\text{g/g}$)	5.00	5.00	5.00	5.00
	测定值 ($\mu\text{g/g}$)	6.74	4.88	4.90	12.78
	回收率 (%)	79.86	97.63	97.95	123.02
GSS-33	本底值 ($\mu\text{g/g}$)	3.51	-	-	6.57
	加标量 ($\mu\text{g/g}$)	5.00	5.00	5.00	5.00
	测定值 ($\mu\text{g/g}$)	8.05	4.98	4.35	12.27
	回收率 (%)	90.86	99.59	86.92	114.1
GSS-34	本底值 ($\mu\text{g/g}$)	0.33	-	-	10.33
	加标量 ($\mu\text{g/g}$)	5.00	5.00	5.00	5.00
	测定值 ($\mu\text{g/g}$)	3.88	4.59	4.81	16.82
	回收率 (%)	71.05	91.71	96.12	129.71

6 参考文献

[1] 何红蓼,倪哲明,李冰,等. 环境样品中痕量元素的化学形态分析 II. 砷汞镉锡铅硒铬的形态分析[J]. 岩矿测试, 2005, 24(2): 118-128.

[2] Simon Foster, William Mahera, Frank Krikowa, et al. A microwave-assisted sequential extraction of water and dilute acid soluble arsenic species from marine plant and animal tissues[J]. *Talanta* 2007, 71(2): 537-549.

[3] Huerga A, Lavilla I, Bendicho C. Speciation of the immediately mobilisable As(Ⅲ), As(V), MMA and DMA in river sediments by high performance liquid chromatography-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry following ultrasonic extraction[J]. *Analytica Chimica Acta* 2005, 534(1): 121-128.

[4] Tao Yuqiang, Zhang Shuzhen, Jian Wei, et al. Effects of oxalate and phosphate on the release of arsenic from contaminated soils and arsenic accumulation in wheat[J]. *Chemosphere* 2006, 65(8): 1281-1287.

[5] Myron Georgiadis, Yong Cai, Helena M Solo-Gabriele. Extraction of arsenate and arsenite species from soils and sediments[J]. *Environmental Pollution* 2006, 141(1): 22-29.

[6] 赵仕林. 土壤中价态砷的浸取方法研究[J]. 四川师范大学学报:自然科学版, 1995, 18(6): 46-51.

[7] Pizarro I, Gómez M, Cámara C, et al. Arsenic speciation in environmental and biological samples extraction and stability studies[J]. *Analytica Chimica Acta* 2003, 495(1-2): 85-98.

[8] 白云飞. 土壤底泥中砷形态提取与水样中砷形态保存实验研究[D]. 北京: 中国地质大学硕士论文, 2007.