

高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法同时测定PM_{2.5}中5种形态砷浓度

徐映如¹, 张慧敏², 朱圆圆²

1. 上海市虹口区疾病预防控制中心理化科, 上海 200082

2. 上海市疾病预防控制中心化学品毒性检测所, 上海 200336

摘要:

[背景] 慢性吸入性低浓度砷暴露可能产生远期健康效应。砷化物慢性吸入的危害与其形态及浓度有关, 需要建立一种高效、灵敏、准确的多种形态砷的浓度检测方法。

[目的] 通过优化色谱条件和提取条件, 采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱(HPLC-ICP-MS)联用技术建立同时测定PM_{2.5}中砷甜菜碱(AsB)、二甲基胂酸(DMA)、亚砷酸盐[As(III)]、一甲基胂酸(MMA)和砷酸盐[As(V)]五种形态砷浓度的方法。

[方法] 比较3种提取液(纯水、0.15 mol·L⁻¹硝酸、0.30 mol·L⁻¹硝酸)和4种超声时间(15、30、60、120 min)的提取效率和稳定性, 以及加入抗坏血酸的稳定效果, 优化提取方法。采用等梯度洗脱, 比较2种色谱柱(反相色谱柱和阴离子交换柱)的分离能力以及4种流动相浓度(20、30、40、50 mmol·L⁻¹碳酸铵)和4种pH值(pH=9.3、9.5、9.7、9.9)对出峰时间、峰形和分离度的影响。将所建立的方法用于检测上海市虹口区2019年全年84份PM_{2.5}滤膜样品中5种形态砷的质量浓度(简称浓度)。

[结果] 酸性提取液比纯水更有利于提取稳定性, 添加适量硝酸可明显减缓As(III)的氧化, 添加抗坏血酸可进一步抑制氧化。最佳提取参数为20 mL 0.15 mol·L⁻¹硝酸加50 mg抗坏血酸, 超声提取时间仅需30 min, 此参数下As(III)形态稳定, As(V)峰形改善, 检测灵敏度提高。阴离子交换柱对5种形态砷分析的分离效果好, 但分离度和灵敏度受流动相离子浓度和pH值影响, 30 mmol·L⁻¹碳酸铵(pH=9.5)为流动相最优条件。5种形态砷在0.50~100 μg·L⁻¹的线性范围内, 所得回归方程均呈较好的线性关系, $r>0.999$ 。以标准状况下采样体积为1056 m³, 定容体积20 mL, 5种形态砷的方法检出限为0.008~0.017 ng·m⁻³, 定量限为0.027~0.058 ng·m⁻³, 相对标准偏差在1.68%~6.28%之间, 加标回收率在91.4%~107.9%之间。上海市虹口区2019年全年PM_{2.5}样品中的5种形态砷浓度按中位数从高到低依次为As(V)、AsB、As(III)、DMA、MMA。

[结论] 该方法提取效率高、形态稳定、分离度好、灵敏度高、操作简便快速、定量准确, 适用于PM_{2.5}中AsB、DMA、As(III)、MMA、As(V)5种形态砷的同时测定。

关键词: PM_{2.5}; 形态砷; 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱; 有机砷; 无机砷

Simultaneous determination of five arsenic species in PM_{2.5} by high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry XU Yingru¹, ZHANG Huimin², ZHU Yuanyuan² (1. Hongkou District Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200082, China; 2. Division of Chemical Toxicity and Safety Assessment, Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract:

[Background] Chronic low-dose inhalation of arsenic may have long-term health effects. The toxicity of chronic inhalation of arsenic compound is related to its speciation and concentration. Therefore, it is necessary to establish an efficient, sensitive, and accurate method for the simultaneous determination of multiple arsenic species.

[Objective] This methodological study aims to develop a high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS) method for the simultaneous determination of five arsenic species including arsenobetaine (AsB), dimethylarsinate (DMA), arsenite [As(III)], monomethylarsonate (MMA), and arsenate [As(V)] in PM_{2.5} after optimizing chromatographic conditions and extraction conditions.

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.21033

基金项目

上海市虹口区科学技术委员会医学课题、上海市虹口区卫生健康委员会科研项目(虹卫1901-04)

作者简介

徐映如(1984—), 女, 硕士, 主管技师; E-mail: yingruxu@126.com

通信作者

徐映如, E-mail: yingruxu@126.com

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-01-22

录用日期 2021-05-30

文章编号 2095-9982(2021)07-0781-08

中图分类号 O657

文献标志码 A

►引用

徐映如, 张慧敏, 朱圆圆. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法同时测定PM_{2.5}中5种形态砷浓度[J]. 环境与职业医学, 2021, 38(7): 781-788.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21033

Funding

This study was funded.

Correspondence to

XU Yingru, E-mail: yingruxu@126.com

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2021-01-22

Accepted 2021-05-30

►To cite

XU Yingru, ZHANG Huimin, ZHU Yuanyuan. Simultaneous determination of five arsenic species in PM_{2.5} by high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(7): 781-788.

►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.21033

[Methods] The extraction efficiency and stability of three kinds of extracts (pure water, $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ nitric acid, and $0.30 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ nitric acid) and four ultrasonic time durations (15, 30, 60, and 120 min) were compared, as well as the stability with and without ascorbic acid, to optimize the extraction method. By isocratic chromatography, the separation abilities of two chromatographic columns (reversed-phase chromatographic column and anion exchange column) were compared, and the effects of four mobile phase concentrations (20, 30, 40, and $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ammonium carbonate) and four pH values (pH=9.3, 9.5, 9.7, and 9.9) on peak time, peak shape, and resolution were compared. The established method was applied to the detection of five arsenic species in 84 $\text{PM}_{2.5}$ filter membrane samples from Hongkou District, Shanghai, throughout the year of 2019.

[Results] Compared with pure water extract, acidic extract was more conducive to extraction stability. Adding an appropriate amount of nitric acid in the extraction solution significantly slowed down the oxidation of As(III), while adding ascorbic acid further inhibited the oxidation. The optimal extraction parameters were adding 20 mL $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ nitric acid and 50 mg ascorbic acid, and performing ultrasonic extraction for only 30 min. Under these parameters, the As(III) speciation was stable, the peak shape of As(V) and the detection sensitivity were improved. The anion exchange column had a good separation effect on arsenic species, but its resolution and sensitivity were significantly affected by the ion concentration and pH value of mobile phase. The optimal mobile phase condition was $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ammonium carbonate (pH=9.5). The linear ranges for selected five arsenic species were between $0.50\text{--}100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, and the regression equations showed good linear relationships, $r > 0.999$. Under standard conditions, when the sampling volume was 1056 m^3 and the constant volume was 20 mL, the limits of detection of the five arsenic species were $0.008\text{--}0.017 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$, the limits of quantification were $0.027\text{--}0.058 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$, the relative standard deviations were between 1.68%–6.28%, and the recovery rates of standard addition were 91.4%–107.9%. By applying the established method to the determination of the five arsenic species in the samples collected from Hongkou District, Shanghai in 2019, the median concentrations in descending order were As(V), AsB, As(III), DMA, and MMA.

[Conclusion] The method established in this paper has a high extraction efficiency, stable sample speciation, good resolution, and high sensitivity, coupled with simple and quick operation and accurate determination. It is suitable for simultaneous determination of five arsenic species including AsB, DMA, As(III), MMA, and As(V) in $\text{PM}_{2.5}$.

Keywords: $\text{PM}_{2.5}$; arsenic species; high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry; organic arsenic species; inorganic arsenic species

砷污染往往是空气、水和食物系统的多重污染,吸入式暴露是砷暴露的主要途径之一^[1-3],但国内外对空气砷的研究较少,监控标准模糊,无明确的经呼吸道砷暴露参考浓度^[3-4]。空气砷大部分富集在小粒径颗粒物 $\text{PM}_{2.5}$ 中^[5],可在大气中长时间停留,且无法被呼吸器官屏障阻碍,容易进入肺部通过肺泡吸收,从某种角度来看,与水和食物相比,空气中的砷可能更具危害性。据临床报告,吸入式砷暴露可导致多种呼吸道疾病及皮疹、神经炎、肝炎和心肌炎等多方面损害^[6-8]。国内外不少地区已在检测中发现空气中砷浓度超标^[9-10],以上海为例,2016—2017年空气总砷暴露量 ($6.92 \times 10^{-7} \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 在全国各大城市中是明显偏高的^[11]; 2017—2018年空气 PM_{10} 中总砷质量浓度(简称浓度)达 $67.09 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$,为 GB 3095—2012《环境空气质量标准》限值 ($6 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$) 的 10 倍有余^[12]。

除浓度外,砷的毒性及生物可及性主要与其形态有关^[13-14]。环境砷主要有无机形态的亚砷酸盐 [As(III)] 和砷酸盐 [As(V)], 及有机形态的一甲基胂酸 (monomethylarsonate, MMA)、二甲基胂酸 (dimethylarsinate, DMA)、砷甜菜碱 (arsenobetaine, AsB) 和砷胆碱 (arsenocholine, AsC) 等。一般认为毒性顺序依次为 As(III) > As(V) > MMA > DMA > AsC > AsB, 无机砷毒性远大于有机砷, AsB 和 AsC 对人体无毒^[10]。

但一些有机砷的遗传毒性远强于无机砷^[15]。从症状来看, As(III) 的慢性吸入可能损害细胞免疫并损害多器官^[16], As(V) 可能影响胚胎发生和胎儿发育^[17], MMA 则可能引起高血压^[18]。因此,要准确反映空气砷暴露的远期健康效应,有必要建立不同形态砷含量的检测方法。

现有的空气形态砷检测方法,如高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 与氢化物原子荧光光谱联用^[19-21]、反相色谱柱与电感耦合等离子体质谱 (inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS) 联用^[22], 存在灵敏度不高、分离度不佳、难以检出有机砷、三价形态砷易被氧化、检测结果不准确且操作复杂的问题。本研究通过超声提取法,采用 HPLC-ICP-MS 联用^[23-24], 并选用离子色谱柱,建立 $\text{PM}_{2.5}$ 中 As(III)、As(V)、MMA、DMA 和 AsB 5 种形态砷浓度的检测方法。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

8900 电感耦合等离子体串联质谱仪、1200 高效液相色谱仪 (美国 Agilent), Milli-Q 超纯水机 (美国 Millipore), SK2210LHC 超声波清洗器 (中国上海科导超声仪器有限公司), MS200 多管涡旋混匀仪 (中国杭

州瑞诚仪器有限公司), TH-1000CII 大流量采样器(中国武汉天虹), 石英滤膜(20.3 cm×25.4 cm, 美国 PALL), S400pH 计、XS204 电子天平(瑞士 Mettler Toledo)。

碳酸铵(色谱纯, 美国 Sigma), 硝酸(HPLC 级, 美国 Fisher), 氨水(优级纯, 中国国药集团化学试剂有限公司), 亚砷酸盐溶液标准物质 $[(1.011 \pm 0.016) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}]$ 、砷酸盐溶液标准物质 $[(0.233 \pm 0.005) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}]$ 、一甲基胂酸溶液标准物质 $[(0.335 \pm 0.011) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}]$ 、二甲基胂酸溶液标准物质 $[(0.706 \pm 0.024) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}]$ 和砷甜菜碱溶液标准物质 $[(0.518 \pm 0.015) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}]$ 均购自中国计量科学研究院。砷标准使用溶液用超纯水逐级稀释配制成 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 工作溶液, 现用现配。

1.2 采样区域和样品采集

1.2.1 采样点 采样点位于上海市虹口区北外滩社区一建筑物三楼屋顶(121.517236°E, 31.261601°N), 采样仪器距地面高度约为 11 m。附近包括一条主干道(东面约 400 m)、住宅区(南面和北面)、办公楼(西面)。

1.2.2 样品采集 采样时间从 2019 年 1 月持续到 2019 年 12 月, 覆盖全年四季。样品共 84 份, 包括春(3—5 月)、夏(6—8 月)、秋(9—11 月)、冬季(1—2 月和 12 月)各 21 份。每个月 10—16 日进行连续 24 h 的 $\text{PM}_{2.5}$ 采样, 采用大流量采样器, 采样流量为 $800 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。采样前将石英滤膜在 600°C 下烘烤 4 h 以消除有机物干扰, 并在干燥器中平衡 24 h。采样后将滤膜置于温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $(50 \pm 5)\%$ 的恒温恒湿箱中平衡 24 h 后称重, -18°C 环境下储存, 30 d 内完成检测^[25-26]。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制 取 AsB、DMA、As(III)、MMA、As(V) $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 工作溶液, 用 $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝酸逐级稀释, 配制成浓度分别为 0.0、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0、30.0、50.0、 $100.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准系列。

1.3.2 样品前处理 (1) 总砷测定前处理。按重量称取 1/8 样品滤膜, 置于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入 20 mL 的 $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝酸, 70°C 水浴超声浸提 3 h 后, 取出放至室温, 充分振荡后, 将离心管置于低速离心机上 $4500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 离心半径 10 cm, 离心 5 min, 并用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤头过滤。准确移取 2 mL 滤液, 超纯水定容至 5 mL 待测。同时做空白对照实验。

(2) 5 种形态砷测定的前处理。按重量称取 1/8 样品滤膜, 置于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入 20 mL 提取液, $1500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ (涡旋半径 4 mm) 涡旋 1 min, 使提取

液与滤膜充分混合, 室温超声水浴后取出。分别比较 3 种提取液(纯水、 $0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝酸、 $0.30 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝酸)和 4 种超声时间(15、30、60、120 min)对不同形态砷提取效率的影响, 对比添加 50 mg 抗坏血酸对 As(III)稳定性的影响, 优化提取条件。充分振荡后, 将提取液过 $0.22 \mu\text{m}$ 水相滤膜, 滤液置于 2 mL 进样瓶中测定。同时做空白对照实验。

1.3.3 仪器条件 HPLC 工作参数: (1) 考察 2 种色谱柱 [Agilent Zorbax SB-Aq 反相色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) 配合 Agilent Zorbax Eclipse Plus-C18 4-Pack 预柱 ($4.6 \text{ mm} \times 12.5 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), Dionex IonPac AS19 阴离子交换柱 ($4 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) 配合 Dionex IonPac AG19 预柱 ($4 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$)] 的分离度和灵敏度。(2) 基于碳酸铵体系进行流动相优化^[27], 配置 4 种浓度(20、30、40、 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 碳酸铵, $\text{pH}=9.7$)、4 种 pH 值($\text{pH}=9.3$ 、9.5、9.7、9.9)的碳酸铵水溶液 ($30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 对流动相进行考察。等度洗脱, 流动相流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样体积 $10 \mu\text{L}$ 。

ICP-MS 工作参数: 分析模式为全定量分析, 射频功率 1550 W , 载气为高纯氦气, 等离子体气体流速 $15.00 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 辅助气体流速 $1.00 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 载气流速、补偿气体流速 $1.00 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 雾化室温度 2°C 。采集模式, 采集时间 10.5 min, 积分时间单位为 s, 扫描类型为单杆/串接, 采用 ICP-MS 中的 He 模式测定。

1.3.4 检出限和定量限 以标准状况下采样体积为 1056 m^3 , 定容体积为 20 mL, 信噪比为 3 时对应的浓度作为方法检出限, 以信噪比为 10 对应的浓度为方法定量限。

1.3.5 准确度和精密度 以加标回收率来考察准确度, 以相对标准偏差(relative standard deviation, RSD) 来表示精密度。一张滤膜按重量等分成 8 份, 其中 6 份进行加标回收实验, 剩余 2 份作为空白对照。 $\text{PM}_{2.5}$ 中总砷浓度的范围为 $0.400 \sim 8.311 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$, 因此在砷形态分析实验中分别添加低、中、高三种不同浓度水平(0.38 、 1.52 、 $7.58 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$)的 AsB、DMA、As(III)、MMA、As(V) 混合标准溶液并进行前处理, 测定样品加标前后 5 种形态砷的浓度, 计算加标回收率 ($n=6$)。

1.4 质量控制

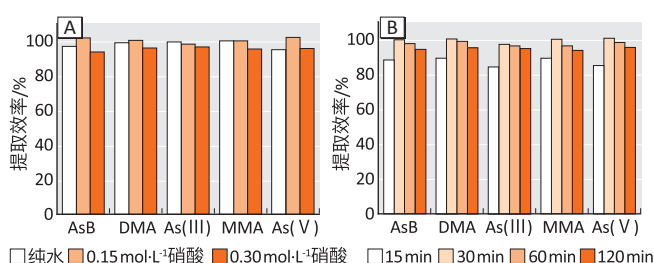
采样器每次使用前要进行流量校准。每批样品采样, 应设空白对照。测定 $\text{PM}_{2.5}$ 中不同形态砷时, 同时进行空白和空白滤膜加标的测定。每批样品的标准曲线相关系数 $r > 0.9990$ 。

2 结果

2.1 提取条件的确定

应用不同提取液(纯水、0.15 mol·L⁻¹硝酸、0.30 mol·L⁻¹硝酸)配制5种形态砷的标准溶液,随着超声时间的变长(15、30、60、120 min),除了As(III)浓度有明显变化,其他4种形态砷[AsB、DMA、MMA、As(V)]浓度基本在(10.00±0.20) μg·L⁻¹之间。纯水中As(III)氧化率最高、提取效率最低,10 μg·L⁻¹ As(III)经超声120 min后,大约35% As(III)被氧化成As(V)。

采用纯水、0.15 mol·L⁻¹硝酸、0.15 mol·L⁻¹硝酸+50 mg 抗坏血酸作为提取液分别超声30 min, As(III)氧化比例分别为7.6%、2.4%、0.3%,可见酸性环境更有利于提取稳定。在3种提取液(纯水、0.15 mol·L⁻¹硝酸、0.30 mol·L⁻¹硝酸)的As(III)标准溶液中各加入50 mg 抗坏血酸,经过超声15、30、60、120 min后,As(III)浓度几乎没有变化,且改善了As(V)的峰形,提高了检测的灵敏度。在空白滤膜上加标,As(III)同样没有出现氧化现象,且提取液为0.15 mol·L⁻¹硝酸的回收率最高(96.6%~101.3%),表明添加抗坏血酸能有效抑制As(III)氧化成As(V)。选用0.15 mol·L⁻¹硝酸,超声提取30 min时,提取效率最高,对比结果见图1。



[注] A: 提取液浓度; B: 超声时间。

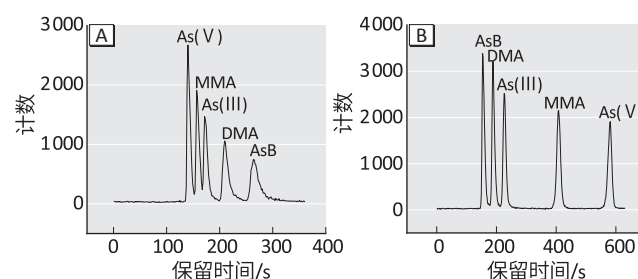
图1 不同提取液浓度和时间条件下的提取效率
Figure 1 Extraction efficiency under different extract concentration and time conditions

2.2 色谱条件的确定

2.2.1 色谱柱选择 对比发现Agilent Zorbax SB-Aq体系分离速度快,但分离度和峰形不佳; Dionex IonPac AS19体系优化后可实现5种形态砷的有效分离,见图2。

2.2.2 流动相浓度和pH选择 4种不同浓度流动相(20、30、40、50 mmol·L⁻¹碳酸铵水溶液, pH=9.7)色谱图如图3所示,随着流动相碳酸铵的浓度增加,5种形态砷中MMA和As(V)的保留时间缩短,而AsB、DMA和As(III)的保留时间基本不变。当流动相为20 mmol·L⁻¹碳酸铵时,分析时间过长且峰形不佳;当流动相浓度超过30 mmol·L⁻¹碳酸铵时,AsB、DMA、As(III)无法实现

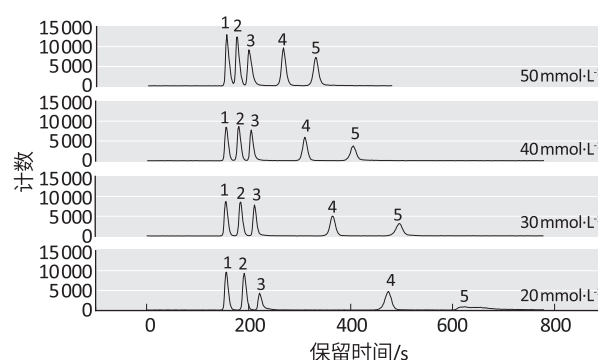
基线分离。故选择30 mmol·L⁻¹碳酸铵为最佳浓度。



[注] A: Agilent Zorbax SB-Aq (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 反相色谱柱; B: Dionex IonPac AS19 (4 mm×250 mm, 5 μm) 阴离子色谱柱。

图2 两种色谱柱对5种形态砷的分离效果

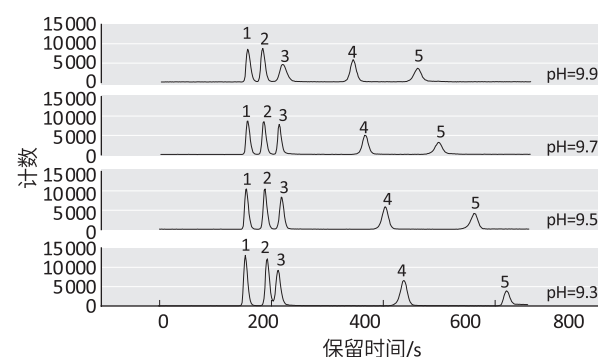
Figure 2 Separation effects of two chromatographic columns on five arsenic species



[注] 1: AsB; 2: DMA; 3: As(III); 4: MMA; 5: As(V)。

图3 不同浓度碳酸铵分离5种形态砷的HPLC-ICP-MS色谱图
Figure 3 Separation effects of different concentrations of ammonium carbonate on five arsenic species by HPLC-ICP-MS

4种不同pH条件下(pH=9.3、9.5、9.7、9.9)碳酸铵色谱图如图4所示。可见,随着流动相pH增加,MMA和As(V)保留时间缩短,而AsB、DMA、As(III)的保留时间基本不变。当pH值为9.3时,DMA和As(III)无法实现基线分离,且出峰时间比较长。选取pH=9.5为最优条件(图4),出峰时间为10 min,分离效果和峰形最好。



[注] 1: AsB; 2: DMA; 3: As(III); 4: MMA; 5: As(V)。

图4 不同pH碳酸铵分离5种形态砷的HPLC-ICP-MS色谱图
Figure 4 Separation effects of different pH values of ammonium carbonate on five arsenic species by HPLC-ICP-MS

2.3 方法线性范围、标准工作曲线、检出限和定量限

在0.50~100 μg·L⁻¹的线性范围内, 所得回归方程均呈较好的线性关系, $r>0.999$ 。5种形态砷的方法检出限为0.008~0.017 ng·m⁻³, 定量限为0.027~0.058 ng·m⁻³, 结果见表1。

表1 五种形态砷的方法线性范围、检出限和定量限
Table 1 Linear ranges, limits of detection, and limits of quantitation for five arsenic species

不同形态砷	回归方程	相关系数	线性范围/(μg·L ⁻¹)	检出限/(ng·m ⁻³)	定量限/(ng·m ⁻³)
AsB	$Y=3354.1X+8.1012$	0.9999	0.50~100	0.011	0.036
DMA	$Y=3104.3X+5.9117$	0.9999	0.50~100	0.013	0.042
As(III)	$Y=2738.9X+218.5200$	1.0000	0.50~100	0.013	0.044
MMA	$Y=3233.3X+70.0382$	1.0000	0.50~100	0.017	0.058
As(V)	$Y=2829.4X+1447.4000$	1.0000	0.50~100	0.008	0.027

2.4 方法的准确度和精密度

加标回收率和相对标准偏差的结果见表2。五种形态砷的加标回收率在91.4%~107.9%之间, RSD在1.68%~6.28%之间, 说明该方法有良好的准确度和精密度, 满足分析测试的要求。

2.5 实际空气PM_{2.5}样品测定

测定84份PM_{2.5}样品中总砷和各形态砷的含量, 其中某实际样品的检测结果如图5。提取率(不同形态砷含量/总砷含量)范围81.8%~112.8%, 各形态砷浓度及总砷浓度按季节分别统计结果如表3所示, 测定PM_{2.5}样品中, 5种形态砷按含量从高到低, 依次为As(V)、AsB、As(III)、DMA、MMA, 以As(V)无机砷为主, 约占总砷的81.1%~95.7%之间。As(V)浓度秋、冬季略高, 春、夏季相近; As(III)浓度冬季略高, 夏季明显低于其他季节, 可能是夏季高温导致大气中As(III)的氧化比较完全; AsB则呈现不同规律, 夏季最高, 秋

季次之, 春、冬较低; DMA夏、秋高于春、冬; MMA全年都很低。此外, 总砷年中位数(1.790 ng·m⁻³)未超标(6 ng·m⁻³), 但秋、冬季个别月份有超标(10月份最大值为8.331 ng·m⁻³)。

表2 方法的准确度和精密度
Table 2 Accuracy and precision of the method

形态砷	本底值/(ng·m ⁻³)	加标值/(ng·m ⁻³)	测定值/(ng·m ⁻³)	平均回收率/%	相对标准偏差/%
AsB	0.03	0.38	0.42±0.02	102.6	4.35
		1.52	1.59±0.06	102.6	4.00
		7.58	7.51±0.18	98.7	2.49
DMA	ND	0.38	0.37±0.02	97.4	4.80
		1.52	1.59±0.06	104.6	4.29
		7.58	7.62±0.17	100.5	2.29
As(III)	0.26	0.38	0.63±0.01	97.4	3.25
		1.52	1.65±0.06	91.4	4.11
		7.58	7.71±0.21	98.3	2.96
MMA	ND	0.38	0.38±0.01	100.0	3.52
		1.52	1.57±0.07	103.3	4.83
		7.58	7.58±0.12	100.0	1.68
As(V)	1.32	0.38	1.69±0.02	97.4	5.95
		1.52	2.96±0.18	107.9	6.28
		7.58	8.90±0.23	100.0	3.03

[注] ND为未检出。

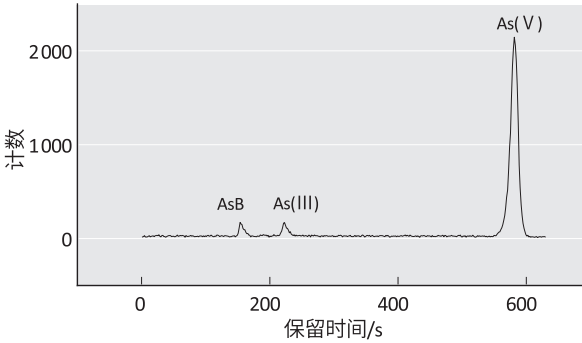


图5 某份PM_{2.5}样品砷含量色谱图
Figure 5 Chromatogram of arsenic concentration of a PM_{2.5} sample

表3 PM_{2.5}样品中5种形态砷浓度及总砷浓度分别检测结果
Table 3 Concentrations of five arsenic species and total arsenic in PM_{2.5} samples

季节	AsB		DMA		As(III)		MMA		As(V)		总砷	
	中位数	范围	中位数	范围	中位数	范围	中位数	范围	中位数	范围	中位数	范围
春	0.049	0.017~0.139	0.014	ND~0.065	0.085	ND~0.221	ND	ND~0.018	1.537	0.368~4.781	1.937	0.400~5.488
夏	0.112	0.034~0.292	0.025	ND~0.135	0.016	ND~0.045	ND	ND~0.017	1.567	0.473~4.800	1.789	0.692~4.350
秋	0.077	0.023~0.209	0.023	ND~0.226	0.093	ND~1.028	0.003	ND~0.034	1.678	0.738~7.843	1.451	0.673~8.331
冬	0.047	0.011~0.173	0.013	ND~0.116	0.105	0.027~0.908	ND	ND	1.822	0.766~5.409	1.652	0.867~7.066
全年	0.070	0.011~0.292	0.020	ND~0.226	0.062	ND~1.028	ND	ND~0.034	1.610	0.368~7.843	1.790	0.400~8.331

[注] ND为未检出。AsB、DMA、As(III)、MMA和As(V)的检出限分别为0.011、0.013、0.013、0.017、0.008 ng·m⁻³。

3 讨论

本研究采用HPLC-ICP-MS方法, 通过对提取液、

超声时间、色谱柱和流动相条件的优化, 建立新的同时测定空气PM_{2.5}中AsB、DMA、As(III)、MMA、As(V)

5种形态砷含量的检测分析方法。5种形态砷的方法检出限为 $0.008\sim 0.017\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$, 定量限为 $0.027\sim 0.058\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$, 实际样品加标回收率为 $91.4\%\sim 107.9\%$, RSD为 $1.68\%\sim 6.28\%$ 。与现有方法相比, 本方法大大降低检出限, 灵敏度高、形态稳定、耗样量少, 且前处理简单、分析速度快、重复性好, 兼具适用性与实用性, 可为后续开展空气砷暴露的远期健康效应评估提供技术支持。

不同形态砷超声提取液主要有硝酸、纯水、甲醇-水等^[28-29], 环境空气中重金属提取剂通常为硝酸。但硝酸有一定氧化性, 部分形态砷稳定性较差, 如As(III)容易被氧化为As(V), 为保证提取前后砷形态不发生变化, 本研究调节硝酸浓度并对比3种提取液(纯水、 $0.15\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸、 $0.30\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸)的提取效率。此外还需采取一些措施来进一步减缓提取过程中As(III)的氧化速度, 如溶液除氧、低温提取、添加抗氧化剂、溶液充氮保护等, 最终采取操作比较便捷的添加抗氧化剂(抗坏血酸)方法, 并基于土壤、底泥的水样中使用的方法^[30]进行优化, 减少抗氧化剂用量至50mg。

本研究考察了纯水和酸性提取液的提取效果。纯水提取时As(III)很大一部分转化为As(V), 而硝酸+抗坏血酸提取时砷形态稳定, As(III)几乎无转化。纯水中As(III)的氧化原因不明确, 可能是提取液中的氧化性物质, 如Fe(III)或溶解氧^[30-31], 在超声环境下强化了氧化性; 硝酸提取液中As(III)氧化程度低于纯水提取液, 可能与As的溶解性及离子形态有关, 在 $\text{pH}=5\sim 7$ 时, 一方面As溶解性对pH相对敏感并随pH升高呈现先降后升的特性, 另一方面 H_3AsO_3 更多转化为 H_2A^- 与 HA^{2-} 离子形式, 由于悬浮物带负电荷, 对阴离子排斥, 且在一定的有机质浓度下和酸性条件时金属阳离子桥络合机制更易发生^[32], 因此酸性条件下As(III)更易被悬浮物质吸附从而阻碍氧化^[33-34]。最终选用 $0.15\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸加50mg抗坏血酸作为提取液, 达到了理想的提取效率和稳定性。

色谱柱和流动相的选择是分离多种目标物的关键, 反相色谱柱受填充材料限制, 在选定pH条件下($\text{pH}=4.3$)As(III)以 H_3AsO_3 形式存在, 不与离子对试剂发生相互作用, 色谱柱上不保留; 而选用阴离子交换柱(树脂毛细管柱)碱性洗脱, 各形态砷均呈现离子形态, 可与离子基团交换保留。考虑各形态砷的解离常数[As(III)(9.22), As(V)(2.3、6.8、11.6), MMA(2.6、8.2), DMA(6.2), AsB(2.2)], 酸性条件下As(III)无法电离, 碱性条件下As(III)以 H_2A^- 形式、As(V)以 HA^{2-}

或 A^{3-} 形式、MMA以 HA^- 或 A^{2-} 形式、DMA以 A^- 形式存在, 两性离子AsB以阴离子形式存在, 各形态可完全电离; 随pH升高, 更强的洗脱强度有利于缩短保留时间, 但 $\text{pH}\geq 10$ 的碱性条件不利于DMA和As(III)形态的分离。因此选择在 $\text{pH}=9.3\sim 9.7$ 区间进行酸碱度微调, 最终选用 $\text{pH}=9.5$ 的碳酸铵水溶液($30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)为流动相。

上海市虹口区空气 $\text{PM}_{2.5}$ 中砷元素检测分析结果表明, $\text{PM}_{2.5}$ 中总砷浓度为 $0.400\sim 8.331\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$ (见表3); $\text{PM}_{2.5}$ 中砷主要以As(V)无机砷形式存在, 约占总砷的 $81.1\%\sim 95.7\%$, 含有少量的AsB、As(III)、DMA和MMA, 5种形态砷的总和占总砷含量的 $81.8\%\sim 112.8\%$ 。检测中首次发现了AsB是上海市空气 $\text{PM}_{2.5}$ 中砷的次要形态, 浓度高于As(III)并远远超过MMA和DMA, 该结果推翻了目前的普遍认知, 即砷在陆地环境(包括淡水和空气)中主要以As(V)、As(III)、MMA和DMA形态存在, AsB形态含量极低^[29]。国内外尚无空气颗粒物中AsB的相关发现或研究, 它是其他形态的砷在空气中转化合成的, 还是从外源迁移而来的, 目前未知。AsB浓度有季节性变化, 夏季最高, 春、冬较低, 主导原因不明确。根据虹口区采样点的地理位置, 大气颗粒物中AsB可能部分来源于沿海海水飞沫或新型排放途径, 如城市垃圾焚烧后扩散到大气中的飞尘。AsB形态是砷的地球生物化学循环以及砷的自然解毒过程中的重要环节, 因此建议相关部门对其进行源解析。

毒性最强的As(III)在冬、秋、春季的浓度高于夏季, 可能是气温更低导致氧化不完全; 毒性次之的As(V)在秋、冬季偏高。总砷的年中位数($1.790\text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$)未超标, 但秋、冬季个别月份总砷仍有超标。秋、冬季是呼吸道疾病的好发季节, 为减轻呼吸道患病风险, 以及避免慢性吸入性砷暴露的远期健康风险, 建议相关部门保持对环境空气的监控治理。

参考文献

- [1] SMITH AH, ERCUMEN A, YUAN Y, et al. Increased lung cancer risks are similar whether arsenic is ingested or inhaled [J]. J Expo Sci Environ Epidemiol, 2009, 19 (4): 343-348.
- [2] HUANG M, CHEN X, ZHAO Y, et al. Arsenic speciation in total contents and bioaccessible fractions in atmospheric particles related to human intakes [J]. Environ Pollut, 2014, 188: 37-44.

- [3] 高健伟, 虞江萍, 杨林生, 等. 燃煤型砷中毒的最低有效累积暴露剂量初探 [J]. 生态毒理学报, 2016, 11 (1): 268-273.
GAO JW, YU JP, YANG LS, et al. The minimal cumulative dose of arsenism in fire coal arsenic affected area of China [J]. Asian J Ecotoxicol, 2016, 11 (1): 268-273.
- [4] 安玉琴, 王磊, 金红, 等. 保定市2014—2018年采暖季PM_{2.5}中金属与类金属元素的健康风险评估 [J]. 环境与职业医学, 2020, 37 (11): 1083-1088.
AN YQ, WANG L, JIN H, et al. Health risk assessment of metals and metalloids in PM_{2.5} during heating season from 2014 to 2018 in Baoding [J]. J Environ Occup Med, 2020, 37 (11): 1083-1088.
- [5] FARINHA M M, ŠLEJKOVEC Z, VAN ELTEREN JT, et al. Arsenic speciation in lichens and in coarse and fine airborne particulate matter by HPLC-UV-HG-AFS [J]. J Atmos Chem, 2004, 49 (1/2/3): 343-353.
- [6] 莫定芳, 梁启荣. 砷暴露对冶炼作业工人的肝功能影响及肝脏B超表现分析 [J]. 现代医药卫生, 2016, 32 (18): 2815-2817, 2820.
MO DF, LIANG QR. Analysis on influence of arsenic exposure on liver function and liver B-ultrasound manifestations in smelting workers [J]. J Mod Med Health, 2016, 32 (18): 2815-2817, 2820.
- [7] 黄晓欣, 张爱华, 杨大平, 等. 燃煤型砷中毒患者临床特征、多系统损害及其意义 [J]. 中国地方病学杂志, 2002, 21 (6): 490-493.
HUANG XX, ZHANG AH, YANG DP, et al. Clinical signs and poly-organic and system damages of arsenism caused by burning coal pollution and its significance [J]. Chin J Endemiol, 2002, 21 (6): 490-493.
- [8] BOLLA-WILSON K, BLEECKER M L. Neuropsychological impairment following inorganic arsenic exposure [J]. J Occup Med, 1987, 29 (6): 500-503.
- [9] KHANNA I, KHARE M, GARGAVA P. Health risks associated with heavy metals in fine particulate matter: a case study in Delhi City, India [J]. J Geosci Environ Prot, 2015, 3 (2): 72-77.
- [10] DE LA CAMP A M S, DE LA ROSA J D, SÁNCHEZ-RODAS D, et al. Arsenic speciation study of PM_{2.5} in an urban area near a copper smelter [J]. Atmos Environ, 2008, 42 (26): 6487-6495.
- [11] 中国环境科学研究院. 典型地区居民金属环境总暴露量及贡献比手册 (汞、镉、砷、铅、铬) [M]. 北京: 中国环境出版集团, 2019: 14.
Chinese Research Academy of Environmental Sciences. Handbook of total human environmental exposure and relative source contributions of metals for residents in typical areas of China [M]. Beijing: China Environmental Publishing Group, 2019: 14.
- [12] 田俊杰, 黄成, 赵秀阁, 等. 上海市典型地区环境空气可吸入颗粒物中重金属污染水平及健康风险评估 [J]. 环境科学学报, 2019, 39 (11): 3924-3931.
TIAN JJ, HUANG C, ZHAO XG, et al. Pollution and health risk assessment of heavy metals in the inhalable particulate matter in the typical areas, Shanghai [J]. Acta Sci Circums, 2019, 39 (11): 3924-3931.
- [13] 崔岩山, 陈晓晨, 付瑾. 污染土壤中铅、砷的生物可给性研究进展 [J]. 生态环境学报, 2010, 19 (2): 480-486.
CUI YS, CHEN XC, FU J. Progress in study of bioaccessibility of lead and arsenic in contaminated soils [J]. Ecol Environ Sci, 2010, 19 (2): 480-486.
- [14] JOMOVA K, JENISOVA Z, FESZTEROVA M, et al. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease [J]. J Appl Toxicol, 2011, 31 (2): 95-107.
- [15] PETRICK JS, AYALA-FIERRO F, CULLEN W R, et al. Monomethylarsonous acid (MMA^{III}) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2000, 163 (2): 203-207.
- [16] BURCHIEL SW, MITCHELL LA, LAUER FT, et al. Immunotoxicity and biodistribution analysis of arsenic trioxide in C57Bl/6 mice following a 2-week inhalation exposure [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2009, 241 (3): 253-259.
- [17] LEMEŠEVSKAJA E M, SILAEV A A. Experimental studies on the embryotropic effects of inhaled cesium arsenate [J]. Gig Tr Prof Zabol, 1979 (9): 56.
- [18] LIM KM, SHIN YS, KANG S, et al. Potentiation of vasoconstriction and pressor response by low concentration of monomethylarsonous acid (MMA^{III}) [J]. Toxicol Lett, 2011, 205 (3): 250-256.
- [19] 贺婷婷, 李柏, 徐殿斗, 等. 磷酸超声提取大气颗粒物中砷的多种形态 [J]. 分析化学, 2011, 39 (4): 491-495.
HE TT, LI B, XU DD, et al. Ultrasonic extraction of arsenic speciation in atmospheric particles with phosphoric acid [J]. Chin J Anal Chem, 2011, 39 (4): 491-495.

- [20] YANG G, MA L, XU D, et al. Levels and speciation of arsenic in the atmosphere in Beijing, China [J]. *Chemosphere*, 2012, 87 (8) : 845-850.
- [21] LEWIS AS, REID KR, POLLOCK MC, et al. Speciated arsenic in air : measurement methodology and risk assessment considerations [J]. *J Air Waste Manag Assoc*, 2012, 62 (1) : 2-17.
- [22] NARUKAWA T, CHIBA K, SINAVIWAT S, et al. A rapid monitoring method for inorganic arsenic in rice flour using reversed phase-high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1479 : 129-136.
- [23] KIM SY, SEO D, YOO M, et al. Analysis of arsenic species in processed rice bran products using HPLC-ICP-MS [J]. *J Food Sci*, 2018, 83 (10) : 2682-2687.
- [24] ZHANG D, YANG S, CHENG H, et al. Speciation of inorganic and organic species of mercury and arsenic in lotus root using high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection in one run [J]. *Talanta*, 2019, 199 : 620-627.
- [25] 空气和废气 颗粒物中铅等金属元素的测定 电感耦合等离子体质谱法 : HJ 657—2013 [S]. 北京 : 中国环境科学出版社, 2013.
- Ambient air and stationary source emission – Determination of metals in ambient particulate matter – Inductively coupled plasma/mass spectrometry (ICP-MS) : HJ 657—2013 [S]. Beijing : China Environmental Science Press, 2013.
- [26] YIN X, WANG L, YU X, et al. Arsenic accumulation and speciation of PM_{2.5} and relevant health risk assessment in Jinan, China [J]. *Pol J Environ Stud*, 2017, 26 (2) : 949-954.
- [27] 杨丽君, 胡巧茹, 郭伟, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用同时测定鸡肉与鸡肝中的7种砷形态 [J]. *色谱*, 2011, 29 (5) : 394-398.
- YANG LJ, HU QR, GUO W, et al. Simultaneous determination of 7 arsenic species in chicken muscle and chicken liver with high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2011, 29 (5) : 394-398.
- [28] NARUKAWA T, SUZUKI T, INAGAKI K, et al. Extraction techniques for arsenic species in rice flour and their speciation by HPLC-ICP-MS [J]. *Talanta*, 2014, 130 : 213-220.
- [29] NEARING MM, KOCH I, REIMER KJ. Uptake and transformation of arsenic during the vegetative life stage of terrestrial fungi [J]. *Environ Pollut*, 2015, 197 : 108-115.
- [30] 杨芬, 韦朝阳, 刘金鑫. 砷形态分析的样品前处理技术研究进展 [J]. *环境科学与技术*, 2016, 39 (10) : 79-86.
- YANG F, WEI CY, LIU JX. A review on sample pre-treatment techniques of arsenic speciation analysis [J]. *Environ Sci Technol*, 2016, 39 (10) : 79-86.
- [31] 杨会, 王焰新, 邓娅敏, 等. 高砷地下水中砷的形态检测 [J]. *环境科学与技术*, 2009, 32 (3) : 90-93.
- YANG H, WANG YX, DENG YM, et al. Detection of arsenic species in high arsenic groundwater [J]. *Environ Sci Technol*, 2009, 32 (3) : 90-93.
- [32] BUSCHMANN J, KAPPELER A, LINDAUER U, et al. Arsenite and arsenate binding to dissolved humic acids : influence of pH, type of humic acid, and aluminum [J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40 (19) : 6015-6020.
- [33] YANG JQ, CHAI LY, LI QZ, et al. Redox behavior and chemical species of arsenic in acidic aqueous system [J]. *Trans Nonferrous Met Soc China*, 2017, 27 (9) : 2063-2072.
- [34] 朱义年, 张学洪, 解庆林, 等. 砷酸盐的溶解度及其稳定性随pH值的变化 [J]. *环境化学*, 2003, 22 (5) : 478-484.
- ZHU YN, ZHANG XH, XIE QL, et al. Dependence of arsenate solubility and stability on pH value [J]. *Environ Chem*, 2003, 22 (5) : 478-484.

(英文编辑 : 汪源 ; 责任编辑 : 陈姣)