

文章编号: 0254-5357(1999)03-0165-06

新型氢化物发生技术——可移动还原床氢化物发生器 III. 作为毛细管区带电泳—电感耦合等离子体发射光谱的 接口用于砷的形态分析

田肖丹, 庄峙厦, 陈 宾, 王小如

(厦门大学化学系国家教育部材料与生命过程分析开放实验室, 福建 厦门 361005)

摘要: 发展了一种新型的氢化物发生装置——可移动还原床氢化物发生器(MRBHG)。应用该技术可将经毛细管区带电泳(CZE)分离之后的各种砷的化合物转换为相应的氢化物, 然后再被引入到电感耦合等离子体发射光谱(ICP-AES)进行检测。对不同形态砷的不同化合物的 CZE 分离条件进行了优化, 包括缓冲溶液的 pH 值及浓度、进样量等。CZE-MRBHG-ICP-AES 应用于 4 种砷化合物的定量测定, 峰面积的 RSD($n=5$) 在 1.9%~11.7%。4 种砷的浓度检出限分别为: As(III)、甲砷酸和 As(V) 0.32 mg/L, 二甲砷酸钠 0.35 mg/L。

关键词: 毛细管区带电泳; 可移动还原床氢化物发生器; 电感耦合等离子体发射光谱; 砷; 形态分析

中图分类号: O612.5; O655.6; O652.6

文献标识码: A

砷的形态分析在环境监测、评估方面具有重要意义, 不同形态的砷表现出不同的毒性, 如果仅对样品中砷的总量进行测定, 将不能给出样品毒性的正确信息。为了提高形态分析的准确性, 需要使用高分辨率的分离技术。毛细管电泳(CE)越来越广泛地应用于从无机小分子到生命大分子的分离, 与其他分离技术相比, 它可提供更高的分辨效率。将等离子体光谱或质谱技术用于作为毛细管电泳检出手段的报道很少, 目前, 仅有的几篇 CE-ICP-AES/MS 联用的工作都是使用各种雾化器作为 CE 和 ICP-AES/MS 之间的接口。本实验小组发展的一种新型的氢化物发生系统——可移动还原床氢化物发生器(MRBHG), 可简便地实现微量样品的氢化发生而不必使用气液分离器。该 MRBHG 系统作为接口实现了 CE 和 ICP-AES 的联用。本工作研究了辅助液体的必要性和流速对分离效率的影响,

对影响毛细管区带电泳(CZE)分离效率的实验参数, 如缓冲溶液的 pH 值、缓冲溶液的浓度、进样量等进行了优化, 并给出了用该联用技术进行 4 种砷形态分析的定量结果。

1 实验部分

1.1 仪器

采用 Baird PS-4 多道电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-AES), 实验参数如表 1 所示。本实验室发展的实时信号采集和数据处理软件用于采集和处理待分析元素的信号^[1]。

自制毛细管电泳仪, 包括一台 0~100 kV 高压电源(Model JGF80, 福建龙岩), 一台真空泵(Model 2XZ-2, 浙江第三真空泵厂), 一根 100 μ m (I.D.) \times 66 cm 的毛细管(河北永年光纤厂)。毛细管的入口端保持正高压, 出口端即与 MRBHG 连接的一端

收稿日期: 1998-07-26; 修订日期: 1998-11-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 29735160)。

作者简介: 田肖丹(1971-), 女, 山东临沂人, 博士研究生。王小如(1949-), 女, 辽宁大连人, 教授, 博士生导师, 通讯联系人。

保持地电位。实验采用流体力学进样，毛细管的入口端浸入到样品瓶中，在比毛细管出口端高出 24 cm 的情况下保持 60 s。施加在毛细管两端的电压保持在 15 kV。图 1 为 CZE-MRBHG-ICP-AES 联用的示意图。

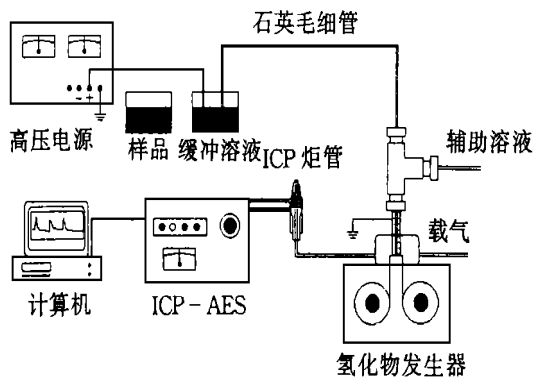


图 1 实验装置示意图

Fig. 1 The diagram of the experimental system

表 1 ICP-AES 的工作条件

Table 1 The ICP-AES operating condition

ICP-AES 的工作参数 parameters of ICP-AES	设定值 value
P_{RF}/kW	1.1
$f_{RF\ generator}/MHz$	27
$v_{冷却气}/(L \cdot min^{-1})$ coolant gas flow rate	8.0
$v_{载气}/(L \cdot min^{-1})$ carrier gas flow rate	0.5
$v_{工作气}/(L \cdot min^{-1})$ plasma gas flow rate	1.0
$v_{附加载气}/(L \cdot min^{-1})$ auxiliary gas flow rate	0.6
$h_{观察}/mm$	13.4(炬管上方)
$t_{积分}/s$	5
λ/nm	193.7

1.2 试剂

50 mmol/L 的磷酸盐缓冲溶液由分析纯的 $NaH_2PO_4 \cdot 12H_2O$ 和 $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 配制而成，然后用 0.45 μm 的乙酸钠纤维素膜过滤。

1 000 mg/L 的各种砷化合物的储备液用以下标准物质配制： As_2O_3 溶于 0.05 mol/L NaOH，砷酸氢二钠($Na_2HASO_4 \cdot 7H_2O$)、甲胍酸(MA)、二甲胍酸钠(DMA)均直接溶于水。实验所需的标准溶液

由标准储备液当天稀释而成。所有溶液均由超纯水配制(Milli-Q 超纯水装置)。

还原剂为 KBH_4 和酒石酸的混合粉末。在混合之前， KBH_4 和酒石酸均被分别碾磨，然后过 80 目筛， $m_{KBH_4} : m_{酒石酸}$ 为 1 : 3。

2 结果与讨论

2.1 CZE 和 ICP-AES 之间的接口

将 CE 和 ICP-AES 联用成功的关键在于接口^[2]。一个好的接口应该具有高的传输效率，同时还必须能够保证 CE 色谱峰不被扭曲和展宽。传统的雾化器，除了直接插入雾化(DIN)之外^[3]，都因为传输效率低或存在柱后峰展宽而不能满足此要求。

当使用氢化物发生技术时，砷和其他氢化物发生元素在 ICP-AES/MS 中的检出限一般均可改善 1~2 个数量级。传统的连续氢化物发生方法需要一个玻璃制的气液分离器，所需的各种液体流速为 3~10 mL/min。但是，CZE 仅能够提供 < 1 $\mu L/min$ 的液体流速和纳升级的进样量，这时传统连续氢化物发生器的物理尺寸，包括传输管道、气液分离器等必须微型化，这就需要复杂精细的加工。如果 CE 流出液的 pH 值接近中性或是碱性，那么如何将 CE 流出液进行酸化，然后再与 $NaBH_4/KBH_4$ 混合将是一个很棘手的问题；同时由于 CZE 电渗流的力量很小，如何在混合点产生正压力也将是解决联用问题的关键；而且当 CE 毛细管流出的微量流出液与大量 KBH_4 溶液混合时，样品可能被稀释，从而降低系统的灵敏度。

为解决这些问题，本实验室发展了一种新型的氢化物发生系统——可移动还原床氢化物发生器^[4]。可移动还原床是将 KBH_4 和固体有机酸的粉末制作在一个带子上而制成的。图 2 为用于 CE-ICP-AES 联用时的 MRBHG 的示意图。该装置外观看起来就象一个磁带盒，还原床缠绕在放置在密封有机玻璃盒里的两个转轴上，通过外置的一个步进马达带动其中的一个转轴而使还原床连续转动。还原床上是 KBH_4 和酒石酸混合粉末，还原床通过橡皮塞上的两个细小开口出入反应腔体。该技术最大的特点是不需要使用复杂的传输管道和气液分离器，及适用于纳克级样品的引入。

CE 的毛细管以及外部的不锈钢毛细管通过橡皮塞上的一个孔洞进入反应腔体。反应腔体内的毛细管保持地电位。不锈钢毛细管内的辅助液体有两个作用，首先，它流过 CE 毛细管和不锈钢毛细管之

间, 为 CE 提供了一个完整的电回路; 其次, $10 \mu\text{L}/\text{min}$ 的辅助液体流速可以为 MRBHG 提供一个稳定的工作状态而不必依赖于 CE 的工作情况。为了降低死体积和避免对流引起的色谱峰展宽, 辅助液体和 CE 的流出液在距离不锈钢毛细管出口端 0.5 mm 处混合, 然后再与还原床上的还原剂和固体酸反应。CE 的流出液在还原床的表面上与还原剂发生氧化-还原反应, 生成的氢化物被载气直接载入到等离子体炬管中。还原床可通过手动或通过步进马达自动更新。

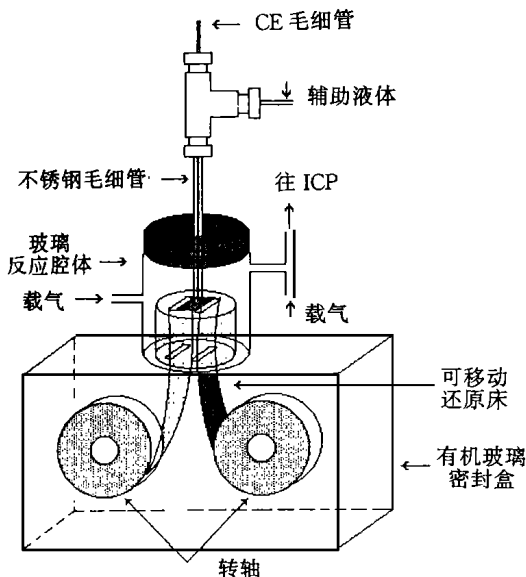


图2 用于 CE-ICP-AES 联用时的 MRBHG 结构示意图
Fig.2 Schematic diagram of "movable reduction bed hydride generator" (MRBHG) for CE-ICP-AES analysis

2.2 电泳图的定性

对色谱图中的各个谱峰进行识别和定性是至关重要的。当毛细管的两端施加高电压时, 从阳极到阴极产生电渗流, 同时砷的负离子在电场作用下, 以一定的速率向阳极迁移。由于电渗流淌度比各种形态砷的负离子向阳极迁移的淌度大一个数量级, 所以电渗流将所有形态砷的负离子推向阴极。在本实验中, 电渗流推动中性的 $\text{As}(\text{III})$ ($\text{pK}_a=9.3$) 和接近中性的 DMA ($\text{pK}_a=6.2$) 以及阴离子 $\text{As}(\text{V})$ ($\text{pK}_{a1}=2.3$) 和 MA ($\text{pK}_{a1}=3.6$) 以电渗流淌度与它们的电泳淌度的速率之差向阴极迁移。对 $\text{As}(\text{V})$ 和 DMA, 它们较小的表现迁移速率导致了较长的迁移时间(如图3所示)。

从图3可见, 质量相同的4种形态砷的峰强度是相近的, 这表明 $\text{As}(\text{III})$ 、 $\text{As}(\text{V})$ 、DMA 和 MA 都

被以相同的效率转化为相应的氢化物。众所周知, 传统的氢化物发生方法不能有效地将 MA 和 DMA 转化为甲基砷化氢, 而在本系统中, 这4种砷的化合物都具有相同的氢化物发生效率, 相同的样品量可得到相近的信号强度值。

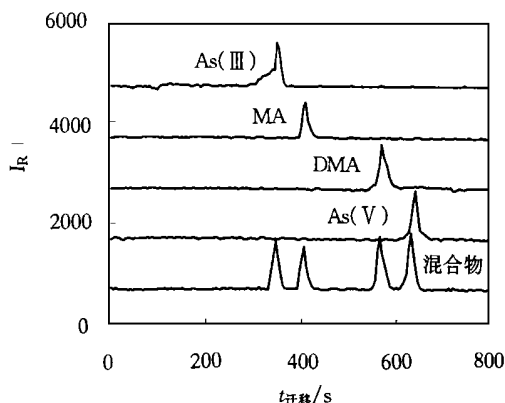


图3 4种形态砷标准溶液和混合溶液的电泳图
Fig.3 Electropherograms of individual standard solutions for four arsenic species and their mixture

Silica capillary: $100 \mu\text{m} \times 66 \text{ cm}$; carrier: 50 mmol/L phosphate buffer; pH: 6.0; flow rate of make-up liquid: $10 \mu\text{L}/\text{min}$; applied voltage: 15 kV ; temperature: $25 \text{ }^\circ\text{C}$; injected volume: 400 nL ; mixture concentration: 100 mg/L of each species.

2.3 辅助液体的流速

在文献[3]中提到, 辅助液体有两个作用: 完成毛细管电泳的电回路和使 MRBHG 系统可不必依赖于 CE 的操作而稳定工作。实验采用 pH 为 6.0, 浓度为 50 mmol/L 的磷酸盐缓冲溶液作为辅助液体。当电泳的电回路建立后, 将辅助液体的恒流泵停止, 然后开始 CZE 分离和 ICP-AES 检测。实验结果表明, 得到的电泳谱图的色谱峰变形, 基线不稳, 这是由于 CE 的流出液太少而造成的。CE 毛细管流出液的流速就是电渗流的流速, 它可通过毛细管的总体积和中性标记物的迁移时间进行计算。由于在本实验条件下, $\text{As}(\text{III})$ 几乎以中性存在, 所以 $\text{As}(\text{III})$ 可作为中性标记物。 $\text{As}(\text{III})$ 的迁移时间为 5.0 min , 而毛细管的体积约为 $5.1 \mu\text{L}$, 所以根据计算可以得到 CE 流出液的流速为 $1.02 \mu\text{L}/\text{min}$ 。在如此低的流速下, 从 CE 毛细管流出的极微量液体很难连续地与还原床上的还原试剂进行反应, 这样就会导致间断的而不是连续的电泳图。所以在本联用方法中, 辅助液体是绝对必要的。

本实验研究了辅助液体的流速对分离效率和信号强度的影响(见图4)。由图4可见, 在 10、20 和

30 $\mu\text{L}/\text{min}$ 三种流速下,除了电泳图的基线有变化外,对分离没有明显影响。辅助液体流速越大,背景值越高,产生这个现象的原因是由于作为辅助液体的磷酸盐存在着试剂空白。由于恒流泵的最小流速为 10 $\mu\text{L}/\text{min}$,所以实验选择辅助液体的流速为 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

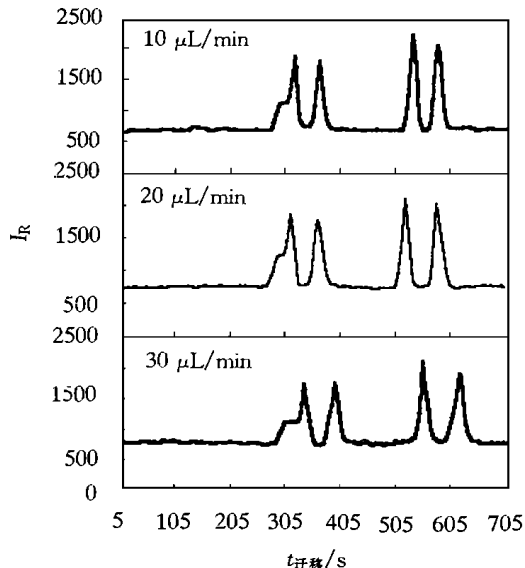


图 4 辅助液体流速的影响

Fig. 4 The effect of the make-up liquid flow rate

All other working conditions are the same as listed in Fig. 3

2.4 缓冲溶液 pH 值对分离的影响

缓冲溶液的 pH 值是影响 CE 分离效率的一个重要因素,它不仅影响分析物的电离度和电泳淌度,而且直接影响毛细管电泳的毛细管内壁所带的电荷,进而影响电渗流的大小。而石英毛细管的表面电荷的平衡是一个相对缓慢的过程,所以,在每次进样前先用 0.1 mol/L NaOH 冲洗 5 min,然后再用磷酸盐缓冲溶液冲洗 10 min。

本实验分别用 4 种 pH 值的缓冲溶液对 4 种形态砷[As(III)、DMA、MA、As(V)]分离的影响进行了研究,实验结果表明,在这 4 种 pH 值条件下,都可以获得 4 种形态砷的基线分离(图 5)。在 pH 为 6.5 时,4 种形态的砷获得最佳分离效率。所以实验选择 pH 6.5 的磷酸盐缓冲溶液作为毛细管电泳的缓冲溶液进行砷的分离测定。

2.5 缓冲溶液的浓度对分离的影响

磷酸盐缓冲溶液的浓度对分离的影响如图 6 所示,不同浓度磷酸盐缓冲溶液的 pH 值均为 6.5。从图 6 可见,当缓冲溶液的浓度为 10 mmol/L 时,DMA 与 As(III)不能够完全分离,MA 和 As(V)的

峰形也不对称,在浓度为 25 mmol/L 和 50 mmol/L 时,可以获得良好的分辨率。由图 6 还可见,较高浓度的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液将导致 4 种形态砷的迁移时间增加。实验选择 50 mmol/L 的磷酸盐缓冲溶液。

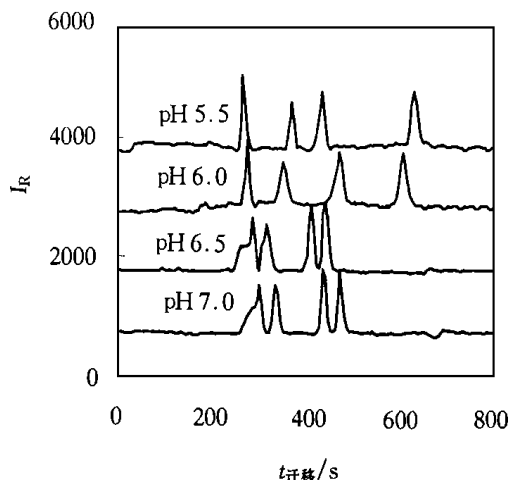


图 5 缓冲溶液 pH 对 4 种形态砷分离的影响

Fig. 5 The effect of buffer pH on the separation of four arsenic species

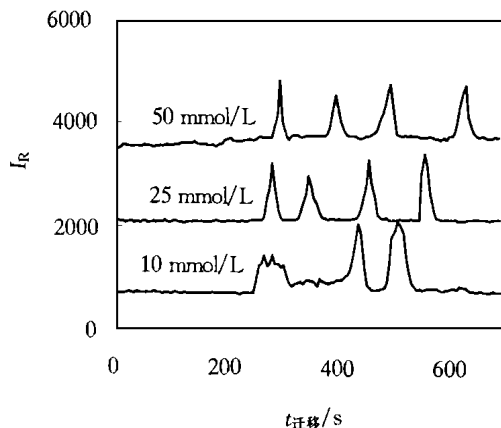


图 6 缓冲溶液浓度对 4 种形态砷分离的影响

Fig. 6 The effect of buffer concentration on the separation of four arsenic species

2.6 进样体积对分离效率的影响

本实验采用流体动力学进样。进样时,毛细管的入口端置于样品瓶中,然后垂直提升至一个特定的高度并停留一定的时间,这个高度差产生了一个流体压力使样品进入到毛细管中。这种进样方式既不依赖于溶质的电泳淌度又不受样品溶液组成的影响。图 7 所示为进样体积对分离效率的影响,毛细管入口端的样品瓶与出口端缓冲溶液的高度差在 24 cm 下保持不同的时间。

Wallingford 等^[5]给出了一个描述流体动力学

进样的方程式:

$$V = \rho g \pi r^4 \Delta h t_{inj} / 8 \eta L \quad (1)$$

这里 t_{inj} 是进样时间, ρ 是样品溶液的密度, g 是重力加速度, Δh 是样品溶液和缓冲溶液的高度差, r 是毛细管的内径, η 是样品溶液的黏度, L 是毛细管的总长度。

根据公式(1)可以计算出在本实验条件下, 进样时间为 15、30、60、80 和 120 s 时的进样体积分别为 100、200、400、600 和 800 nL。实验结果表明, 进样量增加时, 分辨率下降, 当进样时间为 120 s 时, As(III)/DMA, MA/As(V) 不能实现基线分离。所以, 不能够在不损失分离效率的情况下无限地增加进样量。本实验选择 60 s 进样时间, 此时的进样体积为 400 nL。

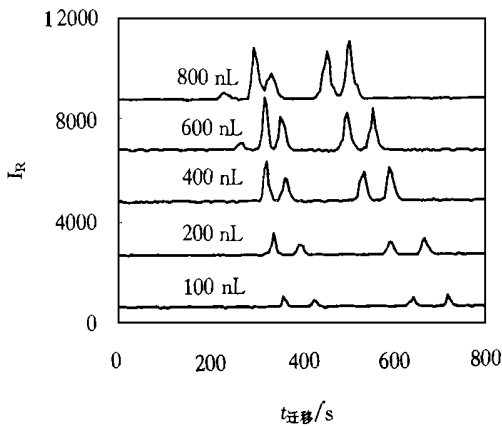


图 7 进样体积对 4 种形态砷分离的影响

Fig. 7 The effect of injection volume on the separation of four arsenic species

2.7 校正曲线和检出限

100 mg/L 的 4 种形态砷的峰面积和峰高的信号强度的测定结果列于表 2 中, 峰面积 5 次测定的 RSD 在 1.9% ~ 11.7%。当以峰面积进行定量时, 所有 4 种砷的氢化物发生效率基本相同。但是从它们的峰高值不同, 推测 DMA 的氢化物发生的速率可能比其他 3 种形态砷的氢化物发生速率小。因此本实验中采用峰面积测量方式, 可用同一条工作曲线进行 4 种形态砷的定量计算, 校正曲线的方程是: $y = 32.186x (R^2 = 0.9997)$ 。基于 3 倍空白标准偏差的检出限结果是 0.32 mg/L, 绝对检出限结果为 128 pg。

表 2 四种不同形态砷的相对强度^①

Table 2 Relative responses of four different arsenic species

项目 item	I_R			
	As(III)	DMA	MA	As(V)
峰高(h_p)	100	88	113	106
峰面积(A_p)	100	90	103	101

① 100 mg/L As(III) 的 $I_R = 100$ 。

3 结论

实验结果证明 MRBGH 系统可成功地应用于 CE 与 ICP-AES 的联用。经由 CZE 分离后的各种形态的砷可有效地被还原成相应的氢化物, 然后用 ICP-AES 进行检测。在进样量为 400 nL 时, As(III)、MA 和 As(V) 的检出限为 0.32 mg/L, DMA 为 0.35 mg/L。虽然这里所得到的检出限结果表明该方法还不能应用于实际样品的分析, 但是有望通过 CE-MRBHG-ICP-MS 提高本方法的检测能力。

4 参考文献

[1] Wang X R, Zhuang Z X, Yang C L, et al. Development of Transient Data Acquisition System for Hyphenated Techniques Coupled with Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry[J]. *J Spectrochim Acta*. 1996, 51B(14): 1753.

[2] Olesik J W, Kinzer J A, Olesik S V. Capillary Electrophoresis Inductively Coupled Plasma Spectrometry for Rapid Elemental Speciation[J]. *Anal Chem*. 1995, 67(1): 1.

[3] Liu Y, Lopezavila V, Zhu J J, et al. Capillary Electrophoresis Coupled On-line with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for Elemental Speciation[J]. *Analytical Chemistry*. 1995, 67(13): 2020.

[4] 庄峙厦, 田肖丹, 陈宾, 等. 新型氢化物发生技术——可移动还原床氢化物发生器 I. 可移动还原床氢化物发生器的结构及特征[J]. *岩矿测试*. 1999, 18(1): 25.

[5] Wallingford R A, Ewing A G. In *Advances in Chromatography: Biotechnological Applications and Methods*[M]. Marcel Dekker Press, NY: 1989.

A Novel Hydride Generation Technique—— Movable Reduction Bed Hydride Generator III. As an Interface between Capillary Zone Electrophoresis and ICP-AES for Arsenic Speciation Analysis

TIAN Xiao-dan, ZHUANG Zhi-xia, CHEN Bin, WANG Xiao-ru

(Department of Chemistry, Xiamen University, The Research Laboratory of SEDC of
Analytical Science for Material and Life Chemistry, Xiamen 361005, China)

Abstract: Hydride generation technique may significantly improve the detection limits for a number of hydride forming elements with atomic spectrometric determination. In order to harmonize the microliter level eluent from capillary zone electrophoresis (CZE) and the milliliter sample volume commonly needed in ICP-AES, a specially designed technique “movable reduction bed hydride generation (MRBHG)” has been developed. One of the advantages of the MRBHG is that it could be simply operated and might carry out the hydride generation for micro sample volume without the use of a gas-liquid separator and the addition of an acid dehydrator. Thus the technique could be used to convert arsenic compounds from CZE separation to corresponding volatile hydrides followed by ICP-AES analysis. The separation characteristics of arsenic species by capillary zone electrophoresis are presented in this paper including the optimization of experimental parameters such as pH and concentration of buffer solution, as well as sample injection volume. CZE-MRBHG-ICP-AES has been applied to the quantitative determination of 4 species of arsenic compounds with detection limits of 0.32 mg/L for As(III), As(V) and methylarsonic acid and 0.35 mg/L for sodium dimethyl-arsenate. The precision for the determinations is 1.9% ~ 11.7% RSD ($n=5$).

Key words: capillary zone electrophoresis; movable reducing bed hydride generator; inductively coupled plasma atomic emission spectrometry; arsenic; speciation analysis