



引用格式:张肖静,陈涛,傅浩强.土壤中重金属有效态汞的快速检测[J].轻工学报,2018,33(1):49-55.

中图分类号:X703.1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.01.007

文章编号:2096-1553(2018)01-0049-07

# 土壤中重金属有效态汞的快速检测

## Quick detection of heavy metal absorbable mercury in soil

张肖静,陈涛,傅浩强

ZHANG Xiaojing, CHEN Tao, FU Haoqiang

### 关键词:

土壤重金属污染;  
有效态汞;重金属检测;  
空心碳球/聚苯胺;电  
化学传感器

郑州轻工业学院 材料与化学工程学院/中国轻工业环境污染治理与资源化重点实验室,河南 郑州 450001

*Key Laboratory of Pollution Treatment and Resource of National Light Industry/College of Material and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China*

### Key words:

heavy metal pollution in soil; absorbable mercury; heavy metal detection; hollow carbon nanospheres/polyaniline; electrochemical biosensor

**摘要:**分别采用 DTPA, EDTA 和 HCl 3 种提取剂对土壤中的重金属有效态汞进行提取,选择提取率最高的作为提取剂.另外,制备了空心碳球/聚苯胺复合材料,将该复合材料制成 DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺电化学传感器,并对土壤中的有效态汞进行检测.结果表明,3 种提取剂中, DTPA 对土壤中有有效态汞的提取率最高,为 20% ~ 31%;该化学传感器能够准确、灵敏地检测土壤中的有效态汞含量,与采用原子荧光法的测定结果相比,两个实际样品的相对误差分别为 2.32% 和 2.71%.

收稿日期:2017-09-28

基金项目:国家自然科学基金项目(41701569);科研基地建设——河南省环境污染治理与生态修复协同创新中心项目

作者简介:张肖静(1986—),女,河南省开封市人,郑州轻工业学院讲师,博士,主要研究方向为环境污染治理新技术.

**Abstract:** DTPA, EDTA and HCl extractants were used to extract heavy metal absorbable mercury in the soil, by comparison, the highest extraction rate of the extractant DTPA was chosen. Then, the hollow carbon nanospheres/polyaniline composite was prepared. The composite was made into a DNA-modified hollow carbon nanospheres/polyaniline electrochemical sensor and the absorbable mercury in the soil was detected. The results showed that DTPA had the highest extraction rate of absorbable mercury in the soil from 20% to 31%. And the chemical sensor could detect the absorbable mercury content in soil accurately and sensitively. Compared with the results of atomic fluorescence spectrometry, the relative errors between the two actual samples were 2.32% and 2.71%, respectively.

## 0 引言

土壤是地球生态系统重要的组成部分,近年来快速发展的工业化与城市化加重了土壤中重金属的积累.土壤中的重金属元素通过食物链等途径进入人体,威胁人体健康<sup>[1-2]</sup>.重金属污染对粮食作物的安全生产构成严重影响. A. Tessier 等<sup>[3]</sup>将土壤中重金属的形态分为水溶态、交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机物结合态和残渣态.以水溶态和交换态存在的重金属可被植物直接吸收,被称为生物有效态,是重金属对植物产生危害的主要来源<sup>[4]</sup>,能够更准确地反映土壤的污染情况及其对人体潜在的危害性.因此,土壤中重金属有效态的提取与检测对评价土壤污染状况和解决土壤重金属污染问题至关重要.

目前,提取土壤中重金属有效态广泛应用的方法是化学试剂提取法.该法操作简单、设备要求低,常用的提取剂有 DTPA, EDTA, HCl 等<sup>[5-8]</sup>,各种提取剂对不同重金属的提取效率不同.对于土壤中重金属的测定,一般采用原子荧光法、原子吸收法和近年来发展起来的电化学分析法等<sup>[9-10]</sup>.电化学分析法采用将具有 T—T 键的 DNA 序列负载在某种材料上制成的电化学传感器,与  $Hg^{2+}$  接触后错配杂交生成 T— $Hg^{2+}$ —T,通过引起电化学信号的改变检测  $Hg^{2+}$ ,具有灵敏度高、检测迅速、可重复利用等优点<sup>[11-12]</sup>.然而,目前关于利用电化学传感器检测土壤中有效态汞的研究尚未见报道.

鉴于此,本文在多种提取剂中选择提取率较高的提取剂对土壤样品中的有效态汞进行提取,进而制备空心碳球/聚苯胺复合材料,并将该复合材料制成 DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺电化学传感器对土壤中的有效态汞进行测定,以期实现对土壤重金属毒性的快速检测与评价.

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂及仪器

主要试剂: DTPA,  $CaCl_2$ , TEA, EDTA, HCl, 均为优级纯,阿拉丁试剂有限公司产;采用上述试剂分别配制 3 种提取剂: DTPA 溶液(0.005 mol/L 的 DTPA, 0.01 mol/L 的  $CaCl_2$  和 0.1 mol/L 的 TEA 3 种溶液,按体积比 1:1:1 混合之后,调 pH 为 7.3)、EDTA 溶液(0.05 mol/L)和 HCl 溶液(0.1 mol/L);土壤样品,购自中国环境监测局;5'-CCCCCCCCCCC TTCTTTCT-TCCCCTTGTTTGTT-3' DNA 序列<sup>[13]</sup>,购自 SBS 基因公司;汞标准储备液(100 mg/L),环境保护部标准样品研究所产.

100 nmol/L DNA 溶液的配制:量取 10  $\mu$ L 10 000 nmol/L 的 DNA 溶液,加入 990  $\mu$ L PBS 缓冲溶液(pH = 7.40)进行稀释,即可得到 100 nmol/L 的 DNA 溶液.于 4  $^{\circ}C$  下保存.

仪器:AL204 型电子天平,上海精密仪器有限公司产;KQ500 型超声清洗仪,昆山超声仪器有限公司产;X3R 型离心机,美国 Thermo Fisher Scientific 公司产;NC5044 型微波消解仪、

AFS9700 型双道原子荧光光度计,北京科创海光仪器有限公司产;DZKW 型电热恒温水浴锅,上海科析有限公司产;SZCL-2A 型数显智能控温磁力搅拌,巩义市予华仪器有限公司产;CHI660E 型电化学工作站,上海辰华仪器有限公司产;JSM-6490LV 型扫描电镜,JEM-2100 型透射电镜,日本电子株式会社产.

## 1.2 空心碳球/聚苯胺复合材料的制备

空心碳球/聚苯胺复合材料的制备按如下步骤进行.

1)将 3 mL 质量分数为 28% 的氨水加入到 10 mL 超纯水与 70 mL 无水乙醇的混合液中,将混合物搅拌 30 min.

2)在 30 °C 条件下,每隔 10 min 分别向上述混合物中加入 2.8 mL 正硅酸乙酯、0.4 g 间苯二酚和 0.56 mL 甲醛(质量分数 35% ~ 37%),之后将混合液剧烈搅拌 24 h,在 100 °C 水热釜中静态保持 24 h.

3)将水热釜中的液体离心分离,收集上清液于 100 °C 下干燥 8 h,之后在 750 °C 下加热 1 h(流动 N<sub>2</sub> 保护,加热速率 5 °C/min),得到 SiO<sub>2</sub>@C 材料,将其置于 0.1 mol/L 的 HF 中浸泡过夜,得到空心碳球.

4)将 80 μL 的苯胺加入到浓度为 2.0 mol/L 的 20 mL HCl 溶液中,在该混合溶液中加入 30 mg 的空心碳球,搅拌 30 min. 加入浓度为 0.1 mol/L 的 10 mL 过硫酸铵溶液,室温下搅拌 12 h.

5)将得到的产品用去离子水和无水乙醇反复清洗、离心,干燥后得到空心碳球/聚苯胺复合材料.

## 1.3 空心碳球/聚苯胺复合材料溶液的配制

称取制备好的空心碳球/聚苯胺复合材料 0.5 mg 放置于 100 mL 的小烧杯中,加入去离子水 50 mL,超声 30 min 以上,使其分散均匀,即可得到浓度为 10 mg/L 的空心碳球/聚苯胺复合材料溶液.

## 1.4 结构表征和电化学性能测试

采用红外光谱仪、扫描电子显微镜和透射电子显微镜对空心碳球/聚苯胺复合材料进行表征.通过电化学工作站对提取后的有效态汞进行电化学测试.采用三电极体系进行电化学交流阻抗(EIS)测试:工作电极为金电极,电解液为 5 mmol · L<sup>-1</sup> 的 K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]溶液,测试范围为 1 mHz ~ 1 MHz, EIS 图谱采用 Zview 2 软件进行分析.

## 1.5 有效态汞的提取与测定

提取步骤:称取干燥的过 20 目筛的标准土样 1 g 置于 50 mL 的塑料离心管中,加入提取剂 25 mL,在 25 °C 条件下振荡 3 h,离心 15 min 后过滤,滤液定容为 100 mL,作为待测样品溶液.每种土壤样品均采用 3 种不同的提取剂分别提取,对于同一种提取剂进行 3 次实验,提取量与提取效率选取 3 次实验的平均值.

本文实验分别采用原子荧光分光光度计和电化学工作站两种方法测定土壤中的有效态汞,并比较两种检测方法的差异性.对于原子荧光法,在对提取土壤中有有效态汞后,量取 5 mL 样品溶液置于 50 mL 的容量瓶中,分别加入 2.5 mL HCl 和 10 mL 硫脲-抗坏血酸,用超纯水定容至刻度后混合均匀,放置 30 min 后按照仪器的使用说明步骤测定样品溶液的浓度.对于电化学方法,在制备出空心碳球/聚苯胺复合材料并检测其形貌特征后,将金电极浸泡在 10 mg/L 的空心碳球/聚苯胺复合材料溶液中,之后在 DNA 溶液里浸泡 3 h 接上 DNA 序列,最后在待测样品溶液中浸泡 2 h,用电化学工作站测定其交流阻抗(EIS),根据电化学信号和标准曲线计算样品溶液的浓度.

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同提取剂对土壤中有有效态汞提取结果的影响

采用 3 种常用的提取剂,在相同条件下对

4种土壤样品分别进行有效态汞提取,提取结果如表1所示.4个样品分别取自不同的土壤类型(栗钙土 GSS-2,石灰岩土壤 GSS-4,黄土壤 GSS-5,棕漠土 GSS-19),土壤样品中的汞含量也各不相同,因此,实验结果具有较好的代表性和普遍适用性.

由表1可知,3种提取剂对各土壤样品有效态汞的提取效率不同.采用EDTA对4种土壤样品进行提取后,均没有检测到 $Hg^{2+}$ .这可能是因为提取量太低,超出了仪器的检出限.可见,EDTA在本文实验条件下对土壤中的有效态汞没有提取效果.HCl对4种土壤样品仅能够提取出部分有效态汞,虽然提取效果比EDTA稍好,但提取率均低于10%,效果较差.在3种提取剂中,提取效果最好的为DTPA溶液,对于不同的土壤样品其对有效态汞的提取率均高于20%,这在已有的研究成果中是比较高的<sup>[14-16]</sup>.之前的研究表明<sup>[17]</sup>,DTPA提取剂是一种较好的替代剂,提取效率较高,能够将大部分的有效态代换下来.

在本文的实验条件下,DTPA的提取率最高,且对4种土壤样品的提取效果相差不大,误差较小.因此,本文采用DTPA作为提取剂提取土壤中的有效态汞,进行后续的测定研究.

## 2.2 空心碳球/聚苯胺复合材料的结构分析

空心碳球/聚苯胺复合材料的IR谱图如图1所示.由图1可以看出,762 $cm^{-1}$ 处的吸收峰为苯环的特征吸收峰.3442 $cm^{-1}$ 处的吸收峰则表明材料中含有—N—H官能团.在波数为

1135 $cm^{-1}$ 处较强的吸收峰为—C—NH<sub>2</sub>的特征吸收峰.此外,在波数为1623 $cm^{-1}$ 处较强的吸收峰则是共轭—C=N—和—C=C—的特征吸收峰.在波数为1485 $cm^{-1}$ 处中等程度的吸收峰为苯基的特征吸收峰.由此可见,在复合材料中聚苯胺含有较多的短线结构,同时也说明其含有较多聚苯胺的端官能团.由图1可知,本文制备的空心碳球/聚苯胺复合材料含有聚苯胺和空心碳球所含的官能团的特征吸收峰.

## 2.3 空心碳球/聚苯胺复合材料的形貌分析

分别采用SEM和TEM对空心碳球和空心碳球/聚苯胺复合材料的形貌结构进行表征,结果如图2所示.由图2a)—b)可以看出,空心碳球为表面光滑的球状体,在负载聚苯胺之后,表面变得粗糙,且直径明显变大,球体颗粒之间开始黏着.由图2c)—d)可以看出,空心碳球是完好地球状结构,空心,在负载聚苯胺之后,碳球完好地保持了其球状结构,仍然为空心,但表面附着了一圈絮状物质聚苯胺.图2的分析结果说明,制备的材料为空心碳球和聚苯胺的复合体,该材料为空心、球状、表面粗糙且比表面积较大,这有利于与溶液中的 $Hg^{2+}$ 充分接触并吸附,进而使 $Hg^{2+}$ 与材料上负载的DNA序列中的T—T键结合形成T— $Hg^{2+}$ —T,能够灵敏地检测到 $Hg^{2+}$ .

## 2.4 电化学传感器对土壤中有有效态汞的检测结果

为了验证该传感器对有效态汞的检测能

表1 不同提取剂对土壤中有有效态汞的提取结果

Table 1 Extraction results of different extractants for absorbable mercury in soil

土壤样品	汞含量/ ( $mg \cdot g^{-1}$ )	EDTA		HCl		DTPA	
		提取量/ ( $mg \cdot g^{-1}$ )	提取率/%	提取量/ ( $mg \cdot g^{-1}$ )	提取率/%	提取量/ ( $mg \cdot g^{-1}$ )	提取率/%
GSS-2	0.015	0	0	0.000 5	3.54	0.004 6	30.66
GSS-4	0.590	0	0	0.049 0	1.49	0.170 0	28.81
GSS-5	0.290	0	0	0.016 0	5.72	0.071 0	24.48
GSS-19	0.013	0	0	0.000 4	2.77	0.004 0	30.77

力,分别检测不同浓度的  $\text{Hg}^{2+}$  (0.01 ng/L, 0.1 ng/L, 0.5 ng/L, 1 ng/L, 5 ng/L, 10 ng/L) 的交流阻抗值,电化学阻抗谱(EIS)如图3所示。 $\text{Hg}^{2+}$  溶液采用汞标准储备液稀释得到。由图3可以看出,随着  $\text{Hg}^{2+}$  浓度的变大,电阻也随之增大,导电性显著降低。

将不同浓度  $\text{Hg}^{2+}$  溶液的 EIS 结果采用 Zview 解析软件进行处理,得到各种浓度  $\text{Hg}^{2+}$

溶液所对应的  $\Delta R_{ct}$  值,以  $\text{Hg}^{2+}$  浓度的对数值为横坐标,  $\Delta R_{ct}$  值为纵坐标作图,并拟合得到标准曲线,如图4所示。拟合之后得到直线方程为  $Y = 259.49X + 537.74$ , 方程的  $R^2$  为 0.99, 说明该直线线性相关性较好。由该方程可求出,该电化学传感器对  $\text{Hg}^{2+}$  的最低检出限为 0.0085 ng/L。因此,以空心碳球/聚苯胺复合材料为载体的电化学传感器具有较好的电化学性能和灵敏性。

得到标准曲线后,对土壤实际样品中的有效态汞进行检测。首先根据 1.5 的步骤采用

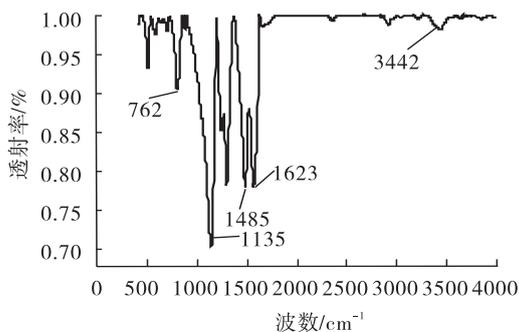


图1 空心碳球/聚苯胺复合材料的 IR 谱图

Fig. 1 IR image of hollow carbon nanospheres/polyaniline composite material

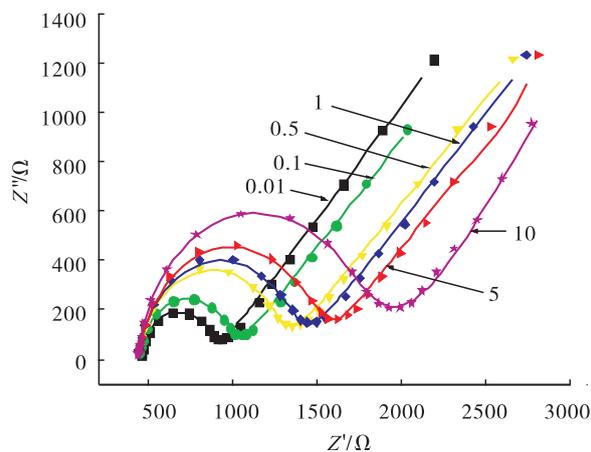
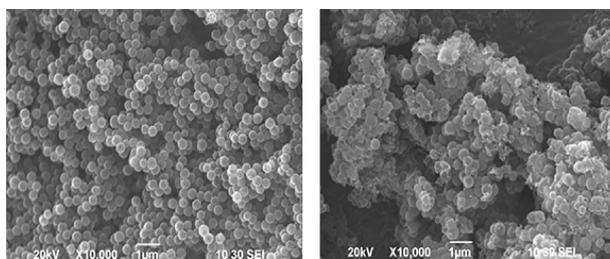


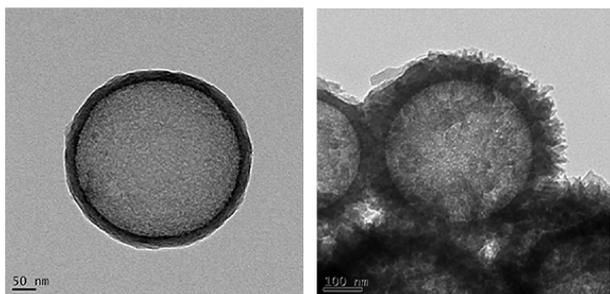
图3 DNA 修饰的空心球/聚苯胺电化学传感器检测不同浓度  $\text{Hg}^{2+}$  的 EIS 图

Fig. 3 EIS images of detection for  $\text{Hg}^{2+}$  by DNA modified hollow carbon nanospheres/polyaniline electrochemical biosensor



a) 空心碳球的SEM图

b) 复合材料的SEM图



c) 空心碳球的TEM图

d) 复合材料的TEM图

图2 空心碳球和空心碳球/聚苯胺复合材料的 SEM 图和 TEM 图

Fig. 2 SEM and TEM results of hollow carbon nanospheres and hollow carbon nanospheres/polyaniline composite material

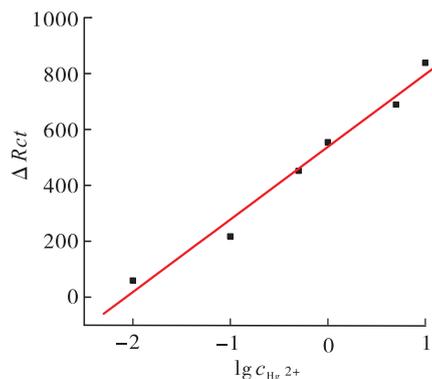


图4  $\text{Hg}^{2+}$  检测的标准曲线

Fig. 4 Standard curve for  $\text{Hg}^{2+}$  detection

DTPA 提取剂对土壤样品 GSS - 2 和 GSS - 19 中的有效态汞进行提取,得到土壤样品溶液.将样品溶液 GSS - 2 稀释 10 倍,GSS - 19 稀释 5 倍,分别用原子荧光分光光度计和电化学工作站对其进行检测,最后比较两种方法测得的结果.图 5 为用经 DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺传感器测定土壤样品中有效态汞的 EIS 图.由图 5 可以看出,金电极具有十分优良的导电性,测量土壤样品中有效态汞后,金电极的电阻增大,导电性显著降低.使用 Zview 软件对两个样品的 EIS 结果进行解析处理,再结合直线方程  $Y = 259.49X + 537.74$ ,可得出土壤中的有效态汞的浓度为分别为 0.427 0 ng/L 和 2.165 2 ng/L,与采用原子荧光分光光度计测定得到的汞离子的浓度 0.431 0 ng/L 和 2.225 7 ng/L 相比,相对误差分别为 2.32% 和 2.71%.可以看出,采用两种方法对两个实际土壤样品中有效态汞测定得到的浓度差别不是很大,说明该电化学传感器准确性较好.而电化学传感器相比传统方法更加灵敏,能够实现土壤样品中有效态汞的快速检测.

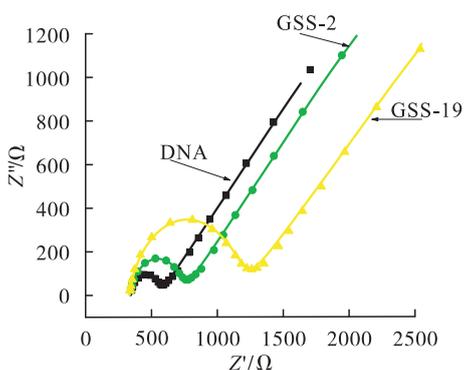


图 5 电化学传感器检测实际样品的 EIS 图  
Fig. 5 EIS images of actual samples by the electrochemical biosensor

### 3 结论

本文首先研究了 3 种提取剂(DTPA, EDTA 和 HCl)对土壤中的重金属有效态汞的提取效

果,另外制备了空心碳球/聚苯胺复合材料,并将该复合材料制成 DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺电化学传感器,利用该传感器对土壤中的重金属有效态汞进行检测,主要结论如下.

1) DTPA 对土壤中有效态汞的提取效率最高,为 20% ~ 31% ;

2) DNA 修饰的空心碳球/聚苯胺电化学传感器具有较好的电化学性能,可以快速、准确地检测土壤中的有效态汞,与采用原子荧光法的测定结果相比,两个实际样品的相对误差分别为 2.32% 和 2.71% .

本文的研究结果有助于快速检测分析土壤重金属污染的现状和危害,可为土壤污染治理和生态修复提供论指导.

### 参考文献:

- [1] 张小敏,张秀英,钟太洋,等.中国农田土壤重金属富集状况及其空间分布研究[J].环境科学,2014,35(2):692.
- [2] 樊霆,叶文玲,陈海燕,等.农田土壤重金属污染状况及修复技术研究[J].生态环境学报,2013,22(10):1727.
- [3] TESSIER A, CAMPBELL P G C, BISSON M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals [J]. Analytical Chemistry, 1979, 51(7):844.
- [4] 任丽英,赵敏,董玉良,等.两种铁氧化物对土壤有效态汞的吸附作用研究[J].环境科学学报,2014,34(3):749.
- [5] KIM E J, JEON E K, BAEK K. Role of reducing agent in extraction of arsenic and heavy metals from soils by use of EDTA [J]. Chemosphere, 2016, 152:274.
- [6] MEERS E, SAMSON R, TACK F M G, et al. Phytoavailability assessment of heavy metals in soils by single extractions and accumulation by *phaseolus vulgaris* [J]. Environmental and

- Experimental Botany,2007,60(3):385.
- [7] SORIANO-DISLA J M, GÓMEZ I, NAVARRO-PEDREÑO J, et al. Evaluation of single chemical extractants for the prediction of heavy metal uptake by barley in soils amended with polluted sewage sludge[J]. Plant and Soil,2010,327(1/2):303.
- [8] BEGUM Z A, RAHMAN I M M, SAWAI H, et al. Effect of extraction variables on the biodegradable chelant-assisted removal of toxic metals from artificially contaminated European reference soils [J]. Water Air Soil Pollution,2013,224:1381.
- [9] WANG M, LIU S, ZHANG Y, et al. Graphene nanostructures with plasma polymerized allylamine biosensor for selective detection of mercury ions [J]. Sensors and Actuators B: Chemical,2014,203:497.
- [10] ZHANG Z, FU X, LI K, et al. One-step fabrication of electrochemical biosensor based on DNA-modified three-dimensional reduced graphene oxide and chitosan nanocomposite for highly sensitive detection of Hg ( II ) [J]. Sensors and Actuators B: Chemical,2016,225:453.
- [11] TANAKA Y, ODA S, YAMAGUCHI H, et al.  $^{15}\text{N}$ - $^{15}\text{N}$  J-Coupling across Hg II: Direct observation of Hg II-mediated T—T basepairs in a DNA duplex [J]. Journal of the American Chemical Society,2007,129:244.
- [12] 刘斯佳,朱静,谭钟扬. 基于胸腺嘧啶-汞离子( II )配位作用的汞离子( II )检测技术的研究进展[J]. 中国农业科技导报,2009,11(S1):13.
- [13] HE L, ZHANG S, WANG M, et al. Facile fabrication of zinc phosphate-based nanocomposites for high-performance electrochemical sensing of Hg ( II ) [J]. Sensors and Actuators B: Chemical,2016,228:500.
- [14] 荆延德,何振立,杨肖娥. 稻菜轮作制下土壤有效态汞提取剂和提取条件研究[J]. 水土保持通报,2012,32(4):185.
- [15] BARAKA A, HALL P J, HESLOP M J. Preparation and characterization of melamine-formaldehyde-DTPA chelating resin and its use as an adsorbent for heavy metals removal from waste water [J]. Reactive and Functional Polymers,2007,67(7):585.
- [16] PINEDO-HERNÁNDEZ J, MARRUGO-NEGRETE J, DíEZ S. Speciation and bioavailability of mercury in sediments impacted by gold mining in Colombia [J]. Chemosphere,2015,119:1289.
- [17] 甘国娟,刘妍,朱晓龙,等. 3种提取剂对不同类型土壤重金属的提取效果[J]. 中国农学通报,2013,29(2):148.