

甲苯二次萃取-直接测汞法快速测定海产品中的甲基汞*

童银栋 郭明 张巍 胡丹 王学军**

(北京大学城市与环境学院,地表过程分析与模拟教育部重点实验室,北京,100871)

摘要 建立了甲苯二次萃取-直接测汞的方法对生物样品中的甲基汞进行分析测定.样品经氢溴酸水解、甲苯萃取、L-半胱氨酸反萃取等前处理,应用DMA-80直接测汞仪测定.对甲基汞鱼肉标准物质(GBW 10029)和贻贝标准物质(SRM 2976)的实测结果显示,测定值与标准参考值的相对误差小于4%,测定值的相对标准偏差小于2%,甲基汞的检出限为 $0.64 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,甲苯二次萃取的萃取率在95%—99%之间.该方法具有较高的准确度和精密度,适于鱼、贝等生物体中甲基汞的测定,并可将总汞和甲基汞的测定在一台仪器上完成.

关键词 甲基汞,海产品,甲苯萃取,直接测汞法.

汞是一种高毒性非必需元素.由于其特殊的理化性质及高富集性,使得生物体内浓度远高于环境介质中浓度,进而给人类的健康带来很大风险.汞的毒性主要取决于其化学形态,有机形态的汞能够对人体神经系统产生严重的毒性^[1-2],对人体的危害要远远大于无机形态的汞.在汞的各种形态化合物中,甲基汞(methylmercury, MeHg)具有生物富集的特性,能够通过食物链在生物体内放大,最终给食用人群带来严重的健康危害.对于一般人群而言,食物中的鱼类和各种海产品是甲基汞暴露的重要来源,研究者越来越多地关注由食用被汞污染的鱼及其它海洋生物所引起的公众健康问题^[3-5].因此准确定量测定鱼肉中的甲基汞十分重要^[6].

目前,生物样品中甲基汞的测定方法主要是通过各种联用技术来实现,比如高效液相色谱-原子荧光光谱联用法(HPLC-AFS)^[7-8]、气相色谱-冷原子荧光联用法(GC-CVAFS)^[9]、高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法(HPLC-ICP/MS)^[10-14]、固相微萃取-原子荧光法^[15]、气相色谱-电感耦合等离子体质谱(GC-ICP/MS)^[16]等.这些分析手段的出现极大地方便了对鱼肉等生物样品中甲基汞的测定和分析.但是这些方法对样品的预处理比较复杂耗时,而且仪器成本相对高昂.

本文采用DMA-80直接测汞仪作为分析工具,用甲苯二次萃取和L-半胱氨酸反萃取的方法对鱼肉和贻贝组织标准物质中的甲基汞进行了测定,与标准参考值相比,取得了较满意的结果,证明方法的有效和可靠.该方法样品预处理程序简单省时,可将总汞和甲基汞的测定在一台仪器上完成,节约分析时间、成本和实验室资源.应用该方法分析了市场上常见食用海鱼中的总汞和甲基汞含量.

1 材料与方法

1.1 样品前处理

采用的生物组织甲基汞标准物质为金枪鱼肌肉组织(GBW 10029,中国计量科学研究院)和贻贝肌肉组织(SRM 2976,美国NIST).选取了市场上的常见食用海鱼包括:小黄鱼、鲳鱼、三文鱼、银鲑鱼、带鱼等,去鱼皮鱼刺后取部分腹部肌肉冷冻干燥,冷干后研磨成粉末,置于干燥器中备用.

称取干燥样品0.5000—1.0000 g于50 mL离心管中,加入10 mL氢溴酸(48%水溶液)振荡水解30 min;以 $4500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,提取上清液,置于50 mL离心管中,加入20 mL甲苯,振荡萃取20 min.然后以 $4500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,提取甲苯相至离心管中.将上述甲苯萃取过程重复1次,两次的萃取液合并.移取萃取后的甲苯溶液10 mL,加入L-半胱氨酸溶液5 mL,振荡反萃取20 min;用 $4500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取L-半胱氨酸溶液待测,进样体积为200 μL .

2010年5月8日收稿.

* 国家自然科学基金(40525003,40971247);中国博士后科学基金资助项目(20090460001).

** 通讯联系人, Tel: +86-10-62759190; E-mail: xjwang@urban.pku.edu.cn

1.2 仪器和试剂

DMA-80 直接测汞仪(意大利 Milestone)、超纯水处理系统(美国 Millipore)、冷冻干燥仪、超声波清洗器、振荡器、离心机. 所有容器均用 30% 硝酸浸泡 48h, 使用前用去离子水和超纯水分别清洗 3 次.

汞标准液($1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 中国计量科学研究院)、甲基汞标准液($86.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 中国计量科学研究院)、氢溴酸(美国 J&K Chemical)、甲苯(美国 Mreda)、L-半胱氨酸盐酸盐(美国 Sigma)、无水硫酸钠(优级纯)、醋酸钠(优级纯).

L-半胱氨酸溶液的制备方法如下: 溶解 1 g L-半胱氨酸盐酸盐、0.8 g 醋酸钠、12.5 g 无水硫酸钠于烧杯中, 定容至 100 mL, 现用现配.

1.3 总汞的测定

称取干燥样品 0.1000—0.2000 g, 依据美国 EPA-7473 固态和液态样品中汞的分析方法, 用 DMA-80 测汞仪直接测定. 该方法基于高温分解(Thermal Decomposition)-汞齐化捕集(Amalgamation)-原子吸收光谱法(Atomic Absorption Spectrophotometry). 样品预干燥后在一定温度下热解, 分解产物由氧气流带入催化管进行进一步的氧化分解, 样品中的汞全部转化为氧化汞蒸气, 进入金汞齐化器, 氧化汞被还原为元素汞并以金汞齐形式被选择性捕集, 加热汞齐化器解吸出汞, 进入原子吸收检测器测定, 流程如图 1 所示.

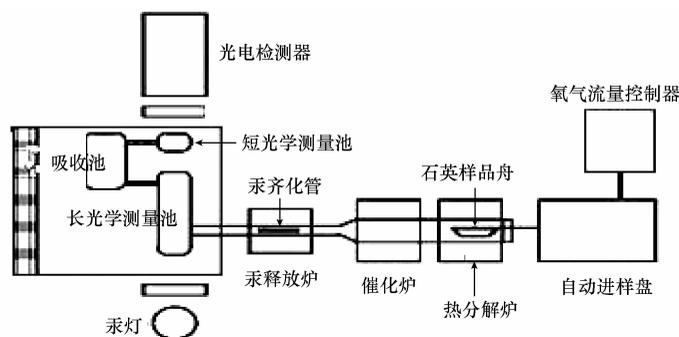


图 1 测汞工作流程图

Fig. 1 Flowchart of mercury analytical procedure

测定方法参数: 催化炉中最大起始温度为 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 净化时间为 60 s, 汞合金加热时间为 12 s, 积分时间为 30 s; 加热升温控制程序: 阶段 I 加热时间为 10 s, 温度为 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$; 阶段 II 加热时间为 1.5 min, 使温度从 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 上升至 $650\text{ }^{\circ}\text{C}$; 阶段 III 加热时间为 1.5 min, 温度为 $650\text{ }^{\circ}\text{C}$, 阶段 II 和 III 的目的是使样品在高温下分解.

1.4 甲基汞的测定

取样品前处理之后离心管中的 L-半胱氨酸溶液 $200 \mu\text{L}$ 进样, 测定方法参数和升温控制程序与总汞测定相同, 由于是液体样品, 在升温程序中增加 1 min 的干燥时间.

2 结果与讨论

2.1 标准曲线及方法检出限

用汞标准储备液和甲基汞标准储备液, 分别配制浓度为 0、0.5、10、50、100、200 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的汞和甲基汞系列标准工作液, 根据所配的系列标准工作液浓度和不同进样量, 做汞和甲基汞的标准曲线, 分为低量程(0—20 ng)和高量程(20—200 ng). 标准曲线的回归方程、相关系数和检出限见表 1. 检出限以 3 倍空白(连续 7 次空白样品)的标准偏差计算.

2.2 方法的准确度和精密度

分别选择两种标准物质: 金枪鱼肌肉组织(GBW 10029)和贻贝肌肉组织(SRM 2976), 进行方法实验, 验证方法的准确度和精密度. 平行测定 7 个样品, 计算相对标准偏差(RSD). 甲基汞和总汞的测定结果分别列在表 2 中. 实验表明, 本方法甲基汞的测定结果与标准值的相对误差小于 4%, 样品测定值的

RSD 小于 2% , 有较高的准确度和精密密度. DMA-80 测汞仪对总汞的测定结果与标准值的相对误差小于 3% , 样品测定值的 RSD 小于 3% .

表 1 总汞和甲基汞的标准曲线和方法检出限

Table 1 Calibration curve and limit of detection for MeHg and THg

化合物	线性范围/ng	线性方程	相关系数	检出限/(ng·g ⁻¹)
总汞	0—20	$Y = 0.015 + 0.041X$	0.9942	0.0078
	20—200	$Y = 3.334 \times 10^{-5} + 8.989 \times 10^{-4}X$	0.9999	
甲基汞	0—20	$Y = 0.020 + 0.038X$	0.9952	0.64
	20—200	$Y = 1.332 \times 10^{-3} + 8.028 \times 10^{-4}X$	0.9997	

表 2 标准物质中甲基汞和总汞的测定

Table 2 Determination of MeHg and THg with certified reference materials

标准物质	SRM 2976							GBW 10029						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
甲基汞测定值/ng·g ⁻¹	27.7	27.4	27.5	28.1	27.6	26.8	27.6	801	831	835	812	796	802	816
甲基汞标准值/ng·g ⁻¹	28.09 ± 0.31							840 ± 30						
相对误差/%	-1.98							-3.18						
相对标准偏差/%	1.38							1.86						
总汞测定值/ng·g ⁻¹	64	63	61	64	62	63	60	846	826	836	830	832	832	835
总汞标准值/ng·g ⁻¹	61.0 ± 3.6							850 ± 30						
相对误差/%	+2.29							-1.89						
相对标准偏差/%	2.16							0.75						

2.3 甲苯对甲基汞的萃取率

整个实验过程中,影响样品中甲基汞提取效率的步骤主要包括甲苯萃取和 L-半胱氨酸反萃取. 已有研究表明,当 L-半胱氨酸溶液与有机相的体积比为 1:2 时,有机相中的甲基汞可定量反萃取完全^[17-18]. 在甲苯萃取过程中,当样品甲基汞浓度较高时,一次甲苯萃取并不充分,未被完全萃取的甲基汞残留在氢溴酸相中,使得一次萃取率偏低. 为了验证甲苯萃取次数对萃取率的影响,本研究用金枪鱼肌肉组织标准物质(GBW 10029)进行甲苯分步萃取实验,结果列在表 3 中. 表 3 可见,一次甲苯萃取对标准物质中甲基汞的提取并不充分,萃取率在 81%—89% 之间;对一次提取后的氢溴酸相进行二次萃取,二次萃取率在 7%—17% 之间,经过二次萃取后,标准物质中甲基汞的总萃取率在 95%—99% 之间,近似可以认为萃取完全.

表 3 甲苯二次萃取分步实验结果

Table 3 Results of two-step extraction with toluene

标准物质	GBW 10029						
甲基汞标准量/ng	258.5	255.3	257.2	258.6	259.3	257.0	260.2
一次萃取实测值/ng	210.2	221.8	228.3	227.4	226.9	221.8	229.0
一次萃取率/%	81	87	89	88	88	86	88
二次萃取实测值/ng	43.6	30.8	27.5	22.5	18.9	23.6	23.8
二次萃取率/%	17	12	11	9	7	9	9
总萃取率/%	98	99	99	97	95	95	97

2.4 食用海鱼中总汞和甲基汞的测定

应用甲苯二次萃取-直接测汞法对常见食用海鱼中的总汞和甲基汞含量进行了测定. 选取海鱼的种类包括:小黄鱼、鲳鱼、三文鱼、银鳕鱼、带鱼. 为了验证该方法的稳定性,对同一样品在不同时间进行测定. 实验结果见表 4. 不同的海鱼中总汞和甲基汞的含量存在较大差异,总汞为 28.1—329.8 ng·g⁻¹,甲基汞为 25.6—305.0 ng·g⁻¹. 带鱼和银鳕鱼中总汞和甲基汞的含量均较高,带鱼中甲基汞的含量为

208.5 ng·g⁻¹, 银鳕鱼为 305.0 ng·g⁻¹. 带鱼和银鳕鱼是典型的海洋肉食性鱼类, 食性很杂, 以虾、乌贼及其它鱼类为食, 生活习性有利于甲基汞在鱼体内的富集.

表 4 常见食用海鱼中总汞及甲基汞测定结果

Table 4 Concentrations of THg and MeHg in sea fish muscles

样品	甲基汞浓度/ng·g ⁻¹ wet				总汞/ng·g ⁻¹ wet				甲基汞占 总汞比例/%
	第一天	第二天	均值	相对标准 偏差/%	第一天	第二天	均值	相对标准 偏差/%	
三文鱼	26.1	25.1	25.6	2.8	26.7	29.6	28.1	7.3	91
小黄鱼	57.8	56.3	57.0	1.8	61.7	63.9	62.8	2.6	91
鲳鱼	26.4	25.1	25.8	3.8	32.7	31.0	31.9	3.7	81
带鱼	207.4	209.7	208.5	0.8	282.1	268.0	275.0	3.6	78
银鳕鱼	306.8	303.2	305.0	0.8	334.1	325.5	329.8	1.8	92

已有研究表明, 长期食用被汞污染的鱼类产品是一般人群甲基汞暴露的重要来源. 本研究结果显示, 尽管不同种类海鱼中甲基汞和总汞的含量不同, 但甲基汞占总汞的比例均较高, 所测样品中甲基汞占总汞的 78%—92%. 根据中国国家食品安全标准《食品中污染物限量》(GB 2762—2005) 规定, 鱼(不包括食肉鱼类)及其它水产品中甲基汞的限值为 0.5 mg·kg⁻¹, 食肉鱼类(如鲨鱼、金枪鱼及其它)为 1.0 mg·kg⁻¹. 参照此标准, 本研究中分析的海鱼中甲基汞的含量均不超标.

根据 2003 年世界卫生组织关于饮食中汞的摄入量建议, 可接受的甲基汞摄入量为每周每公斤体重 1.6 μg. 根据本研究的样品测定结果, 以甲基汞含量较高的银鳕鱼(305.0 ng·g⁻¹湿重)和带鱼(208.5 ng·g⁻¹湿重)为例, 体重 60kg 的人每周银鳕鱼的可接受食用量是 314g, 带鱼的可接受食用量是 460g; 对于儿童, 按照体重 30kg 计算, 每周银鳕鱼的可接受食用量是 157g, 带鱼的可接受食用量是 230g. 因此, 对于甲基汞含量高的海鱼, 在食用时还是要注意限量, 尽可能选择食用甲基汞含量低的鱼.

3 结论

本研究建立了甲苯二次萃取-直接测汞法快速测定生物样品中的甲基汞. 样品经氢溴酸水解、甲苯萃取、L-半胱氨酸反萃取等前处理, 应用 DMA-80 直接测汞仪, 经过高温分解和汞齐化捕集, 由原子吸收光谱法检测. 结果表明, 该方法前处理简单快速、样品量少、结果稳定准确, 适用于鱼肉、贝类等生物体中甲基汞含量的分析. 同时, 可将总汞和甲基汞的测定在一台仪器上完成.

应用该方法对市场上常见食用海鱼中总汞和甲基汞含量的测定结果显示, 带鱼和银鳕鱼中总汞和甲基汞的含量均较高, 在食用时要注意限量.

参 考 文 献

- [1] 蔡文洁, 江研因. 甲基汞暴露健康风险评价的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(1): 77-80
- [2] 孙瑾, 陈春英, 李柏, 等. 北京市场 4 种食用淡水鱼的总汞和甲基汞的含量分析[J]. 卫生研究, 2006, 35(6): 722-725
- [3] Lawson N M, Mason R P. Accumulation of mercury in estuarine food chains[J]. Biogeochemistry, 1998, 40: 235-247
- [4] Horvat M, Covelli S, Faganeli J, et al. Mercury in contaminated coastal environments; a case study: the Gulf of Trieste[J]. Sci Total Environ, 1999, 237: 43-56
- [5] Allen-Gil S M, Gilroy D J, Curtis L R. An eco-region approach to mercury bioaccumulation by fish in reservoirs[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1995, 8: 61-68
- [6] Carbonell G, Bravo J C, Fernandez C, et al. A new method for total mercury and methyl mercury analysis in muscle of seawater fish[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2009, 83: 210-213
- [7] 刘庆阳, 何滨, 胡敬田, 等. 高效液相色谱与原子荧光光谱联用分析海产品中的甲基汞[J]. 分析试验室, 2009, 28(5): 41-44
- [8] 吕超, 刘丽萍, 董慧茹, 等. 盐酸提取-液相色谱-原子荧光联用技术检测水产品中甲基汞等汞化合物[J]. 分析试验室, 2010, 29(2): 64-68
- [9] 阎海鱼, 冯新斌, Liang Lian, 等. GC-CVAFS 法测定鱼体内甲基汞的分析方法研究[J]. 分析测试学报, 2005, 24(6): 78-80
- [10] 杨红霞, 刘巍, 李冰, 等. 碱消解-高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定生物样品中的甲基汞和乙基汞[J]. 矿物测试,

2008, 27(6):405-408

- [11] 王萌, 丰伟悦, 张芳, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用测定生物样品中无机汞和甲基汞[J]. 分析化学, 2005, 33(12):1671-1675
- [12] 高尔乐, 何滨, 江桂斌, 等. 利用碱消解-HPLC-ICP-MS 系统测定生物样品中的甲基汞与乙基汞[J]. 环境化学, 2009, 28(2): 310-312
- [13] 张兰, 陈玉红, 施燕支, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术测定二价汞、甲基汞、乙基汞与苯基汞[J]. 环境化学, 2009, 28(5):772-775
- [14] 高尔乐, 何滨, 江桂斌, 等. 酸浸提-HPLC-ICP-MS 系统测定土壤与底泥样品中的甲基汞、乙基汞[J]. 环境化学, 2008, 27(5): 698-700
- [15] 朱霞萍, 汪模辉, 倪师军, 等. 固相微萃取-原子荧光测定鱼样品中痕量甲基汞[J]. 分析实验室, 2006, 25(9):49-52
- [16] 李妍, 刘书娟, 江冬青, 等. 气相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术应用于水产品中汞形态分析[J]. 分析化学, 2008, 36(6): 793-798
- [17] Maggi C, Berduccia M T, Bianchi J, et al. Methylmercury determination in marine sediment and organisms by direct mercury analyser[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 641: 32-36
- [18] 刘现明, 谢立国. 苯萃取-气相色谱法测定沉积物中的甲基汞[J]. 海洋环境科学, 1996, 15(2): 32-37

DETERMINATION OF METHYL MERCURY IN SEA ORGANISMS BY TOLUENE EXTRACTION AND DIRECT MERCURY ANALYZER

TONG Yindong GUO Ming ZHANG Wei HU Dan WANG Xuejun

(College of Urban and Environmental Sciences, MOE Laboratory of Earth Surface Processes, Peking University, Beijing, 100871, China)

ABSTRACT

A method for the determination of methylmercury (MeHg) in organism was developed using a direct Hg analyzer (DMA-80). The analysis of MeHg in biota samples was performed by separating of MeHg from sample matrix with hydrobromic acid, extraction of MeHg with toluene and back-extraction of MeHg from organic solvent to cysteine aqueous solution. MeHg in cysteine aqueous solution was determined by the mercury analyzer. The relative error between the determined and the certified values of standard reference materials (GBW 10029, SRM 2976) was less than 4%, and the relative standard deviation of the determined values was less than 2%. The detection limit of MeHg was $0.64 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. The total extraction efficiency was between 95% and 99%. This method can yield accurate and reliable result, and allows routine analysis of both total mercury and MeHg in organisms using the same instrument.

Keywords: methylmercury, sea organisms, toluene extraction, direct Hg analyzer.