

甲苯萃取-原子荧光光谱法检测鱼肉中甲基汞

史永富, 田良良, 黄冬梅, 蔡友琼, 黄宣运, 于慧娟*

(中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业部水产品质量监督检验测试中心, 上海 200090)

摘要: **目的** 建立甲苯萃取-原子荧光光谱检测鱼肉中甲基汞的方法。**方法** 样品经 48% 氢溴酸水解、甲苯萃取、0.05 mol/L 硫代硫酸钠反萃取后, 应用 AFS-9230 原子荧光光谱法进行测定, 同时经此前处理后的样品采用 DMA-80 直接测汞仪进行测定, 与原子荧光光谱法的结果进行对比。**结果** 原子荧光光谱法以及直接测汞仪直接测定的结果与标准物质定值吻合, 确证该方法的可靠性, 适用于鱼、贝等水产品中甲基汞的测定。采用该方法对鱼肉中总汞与甲基汞成分分析标准物质 GBW10029 以及英国食品分析水平评估计划(food analysis performance assessment scheme, FAPAS)的罐装鱼肉样品(样品编号 07189)进行了检测, 检测结果与参考物定值吻合, 回收率分别为 96.1%, 97.5%。**结论** 该方法操作简单, 灵敏度高, 重现性好, 适用于鱼肉中甲基汞含量的定量检测。

关键词: 水产品; 原子荧光光谱法; 甲基汞

Determination of methyl mercury in fish by toluene extraction and atomic fluorescence spectrometry

SHI Yong-Fu, TIAN Liang-Liang, HUANG Dong-Mei, CAI You-Qiong,
HUANG Xuan-Yun, YU Hui-Juan*

(Fishery Products Quality Inspection and Test Center, Ministry of Agriculture, East Sea Fishery Research Institute,
Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of methyl mercury in fish by toluene extraction and atomic fluorescence spectrometry (AFS). **Methods** Samples were digested by HBr(48%, v/v) for 30 min, and methyl mercury was extracted by methylbenzene. The extract was back-extracted into aqueous solution by $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. The aqueous solution was ready for the analysis by atomic fluorescence spectrometry (AFS). And the present method was used to determine the concentration of methyl mercury in reference materials. **Results** The result was in accordance with the assigned value. Recoveries were 96.1% and 97.5% respectively. **Conclusion** The method is effective to determine methyl mercury in fish for its high sensitivity and reproducibility.

KEY WORDS: fishery products; atomic fluorescence spectrometry; methyl-mercury

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研项目(2011M12)

Fund: Supported by Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund (2011M12)

*通讯作者: 于慧娟, 研究员, 主要研究方向为水产品质量安全与控制。E-mail: yuhuijuan607@sohu.com

*Corresponding author: YU Hui-Juan, Professor, Chinese Academy of Fishery Sciences, No.300, Jungong Road, Yangpu District, Shanghai 200090, China. E-mail: yuhuijuan607@sohu.com

1 引言

汞是一种典型的有毒重金属元素,在全球范围内备受关注。至今,全球每年约有 5000 t 各种形态的汞被排入环境中^[1,2]。环境中的无机汞也可以在微生物作用下转变成有机汞。汞的毒性与其形态密切相关,有机汞的毒性大于无机汞。甲基汞具有亲脂性、生物累积性和生物放大效应,它是有机汞中毒性最强的化合物之一^[3]。甲基汞在肠道内易被人体吸收,人体血液中甲基汞的含量若超过 0.2 $\mu\text{g/g}$ 时就会出现中毒症状^[1]。甲基汞中毒主要是以神经系统为主的全身性伤害,主要靶器官是大脑^[4],尤其是在发育过程中的大脑^[5]。甲基汞极易通过血脑屏障和胎盘屏障,在胎儿的脑部和其他组织蓄积,阻滞胎儿脑部发育^[2]。国际范围内广泛关注由甲基汞造成的污染及其对人体健康的危害。

水生生物由于生活在特定环境,其更加倾向于暴露在各种污染物中,且鱼、贝类中也有较高的脂肪含量。水生生物在食物链中处于较顶端的位置,容易富集高浓度的汞。已有的报道表明,水产品中的汞 70%~99% 为甲基汞^[2]。目前,对于一般人群而言,身体中摄入的甲基汞主要来自于食物摄入,而水产品为主要来源,由食用被污染的鱼、贝等海产品导致的汞摄入超标引起的公众健康问题越来越受到人们的关注^[6,7],准确地对水产品中甲基汞进行定量显得尤为重要。

目前,对于甲基汞的检测方法主要有气相色谱法(GC)^[8]、液相色谱法(HPLC)^[9]、原子吸收光谱法(AAS)^[10]、原子荧光光谱法(AFS)。仪器联用技术在甲基汞的检测方面发展较快,如液相色谱与原子荧光光谱联用(HPLC-AFS)、液相色谱与电感耦合等离子体质谱联用(HPLC-ICP-MS)。但是由于仪器的联用、操作较复杂,且仪器普及率低,限制了方法的适用性。在本研究中,开发的氢溴酸浸提、甲苯二次萃取,硫代硫酸钠反萃取后进行荧光光谱检测的方法,前处理时间短,直接采用原子荧光光谱法检测,能够准确地对水产品中甲基汞的含量进行检测。

2 材料与方法

2.1 试剂与仪器

甲苯(光学纯,国药集团)、氢溴酸(分析纯,国药

集团)、硫代硫酸钠(分析纯,国药集团)、氢氧化钠(优级纯,国药集团)、硼氢化钠(优级纯,国药集团)、盐酸(优级纯,国药集团)、氯化甲基汞(纯度 98%,德国 Dr.E 公司);实验用水均为超纯水;鱼肉中甲基汞标准参考物质(GBW 10029,国家标准物质中心)、英国食品分析水平评估计划(FAPAS)的罐装鱼肉样品(T07189)。

原子荧光光谱仪(AFS-9230,北京吉天仪器公司)、高性能汞空心阴极灯(北京吉天仪器公司)、高通量组织研磨仪(上海万柏生物科技公司)、低温高速离心机(日本 Hitach)、震荡机(Incubator Shaker Series, Eppendorf Company)、直接测汞仪 DMA-80(Milestone, 瑞士)。

2.2 样品前处理

取鱼可食部分切碎,匀浆后于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。

所用容器均用 30%硝酸浸泡 48 h,使用前用去离子水和超纯水分别清洗 3 次。

准确称取(2 ± 0.05) g 样品于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 48%氢溴酸水溶液,将离心管盖子拧紧后于高通量组织研磨仪中,65 Hz,混匀 30 s,后置于震荡机中震荡水解 30 min,以 4000 r/min 离心 10 min;将上清液转入另一 50 mL 离心管中,向上清液中加入 10 mL 甲苯,震荡 20 min,以 4000 r/min 离心 10 min;将甲苯层转移至另一 50 mL 离心管中,向上清液中再加入 10 mL 甲苯,重复操作一次,合并甲苯提取液。向甲苯提取液中加入 10 mL 0.05 mol/L 硫代硫酸钠溶液,震荡 20 min,以 3000 r/min 离心 5 min,将下层硫代硫酸钠转入另一 50 mL 离心管中,向甲苯中再加入 10 mL 硫代硫酸钠溶液,重复提取一次,合并硫代硫酸钠溶液,待上机分析,同时做试剂空白。

2.3 仪器分析条件

(1) 原子荧光光谱条件

光电倍增管负高压: 320 V;原子化器高度: 10 mm;高性能空心阴极灯电流: 60 mA;载气氩气流量: 600 mL/min;屏蔽气氩气流量: 800 mL/min;进样体积: 1 mL;读数时间: 9 s;延迟时间: 3 s;载流: 5% HCl 溶液;还原剂: 含有 0.5% 氢氧化钠和 1% 硼氢化钠。

(2) DMA-80 直接测汞仪条件

仪器参考条件: 氧气压力, 4×10^5 MPa。催化炉中最大起始温度为 250 $^{\circ}\text{C}$,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 ℃; 阶段 II 加热时间为 1.5 min, 温度从 200 ℃上升至 650 ℃; 阶段 III 加热时间为 1.5 min, 温度为 650 ℃。

2.4 甲基汞定量测定-原子荧光光谱法

准确称取 0.1252 g 氯化甲基汞, 用少量乙醇溶解后, 用 1%硝酸稀释定容至 100 mL, 换算成甲基汞浓度后, 此溶液甲基汞浓度为 1.0 mg/mL。在此基础上, 配制成浓度为 100 ng/mL 的甲基汞标准工作溶液, 吸取 100 ng/mL 甲基汞标准中间溶液 1 mL, 用硫代硫酸钠溶液定容至 10 mL, 仪器自动稀释, 标准曲线浓度点为 1.0、2.0、5.0、10.0 ng/mL, 以浓度为横坐标、荧光强度为纵坐标绘制标准曲线。

2.5 甲基汞的测定

按照上述仪器条件以及定量测定条件, 吸取一定量的硫代硫酸钠反萃取溶液进行测定。

3 结果与分析

3.1 标准曲线及方法检出限

用甲基汞标准工作液绘制标准曲线, 量程范围为 0~10 ng/mL, 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 11 次空白样品)的标准偏差计算。

3.2 方法的准确度与精密度

以所选择的鱼肉标准物质(GBW10029)和 FAPAS 鱼肉罐头(T07189)两种标准物质进行实验, 验证方法的准确度和精密度。平行测定 3 个样品, 计算相对标准偏差(RSD)。原子荧光光谱法测定甲基汞结果见表 2。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 3%, 准确度和精密度满足痕量分析的需要。

在实验中, 影响甲基汞回收率的步骤主要为甲苯萃取以及硫代硫酸钠反萃, 已有研究表明, 甲苯二次萃取对于标准物质中甲基汞的萃取率为 95%~99%之间, 可认为萃取完全^[6], 在已有研究中采用 L-半胱氨酸盐、醋酸钠、无水硫酸钠混合配制的溶液进行反萃^[6], 本研究中采用硫代硫酸钠溶液进行反萃取, 经过两次萃取后, 对于鱼肉(GBW10029)和鱼罐头(FAPAS, T07189)两种标准物质, 萃取率分别达到 96.1%和 97.5%, 证明此前处理方法可用于甲基汞提取, 此方法可对水产品中甲基汞进行准确测定。

3.3 原子荧光光谱法与 DMA-80 直接测汞仪结果的比较

样品经过实验前处理后, 得到的硫代硫酸钠反萃取液, 直接采用原子荧光光谱法检测, 同时也采用 DMA-80 直接测汞仪进行检测, 检测所得结果对比见表 3。DMA-80 直接测汞仪得到的结果与标准物质定值的相对误差小于 4%。

表 1 甲基汞标准曲线
Table 1 Regression equation of MeHg and detection of limit

序号	浓度值/C	荧光强度/I	回归方程	相关系数	检出限 (μg/kg)
1	1.0	222.85	$I=254.6454 \times C - 42.3820$	0.998	0.5
2	2.0	467.58			
3	5.0	1125.95			
4	10.0	2555.32			

表 2 标准物质中甲基汞测定的结果
Table 2 Results of MeHg in certified reference materials

样品名称	测定值(μg/kg)	平均值(μg/kg)	定值(μg/kg)	相对误差(%)
鱼肉标准物质(GBW10029)	797.8	818.7	840.0	2.50
	828.4			
	829.8			
鱼肉罐头标准物质(FAPAS T07189)	264.2	261.5	272	3.86
	258.4			
	262.0			

表 3 直接测汞仪测定结果
Table 3 Results of MeHg determined by DMA-80

样品名称	测定值(μg/kg)	平均值(μg/kg)	定值(μg/kg)	相对误差(%)
黄鱼标准物质(GBW10029)	785.6	810.6	840.0	3.50
	819.5			
	826.7			
鱼肉罐头标准物质(FAPAS T07189)	275.7	276.3	272	1.58
	274.1			
	278.1			

与原子荧光光谱法测得的结果进行比较,两种检测方法所得的结果均在标准物质定值范围内,这表示经此前处理后,甲基汞也可以采用 DMA-80 直接测汞仪进行检测,采用直接测汞仪法,不需要配制载流和还原剂,操作步骤简便。

3.4 实际样品含量的测定

采用本文建立的方法,对市售鱼样品中甲基汞含量进行测定,结果见表 4。

表 4 市售水产品中甲基汞的含量
Table 4 Contents of methyl mercury in seafood samples

样品名称	甲基汞含量(μg/kg)
青斑	37.3
牙鲆	15.6
牙鲆	7.43
笋壳鱼	13.6

目前,对于甲基汞的分析,较常用的分析方法为液相色谱与原子荧光(AFS)或者电感耦合等离子体质谱联用(ICP-MS)。ICP-MS 的仪器灵敏度高,但是仪器昂贵、运转费用高,较难在实验室中普及应用。根据已有报道^[6],采用甲苯萃取法可检测生物样品中的甲基汞,本研究经过对方法的改进,采用甲苯萃取,硫代硫酸钠反萃取后得到甲基汞提取液,不需要液相色谱与元素分析仪器的联用,可以采用直接测汞仪和原子荧光光谱法检测甲基汞,直接测汞仪和原子荧光光谱的灵敏度较高,可以进行样品中痕量甲基汞的分析,且实验室普及率较高。

研究发现,本实验采用直接测汞仪上机分析时,样品的体积为 200 μL,实验过程中发现,由于上机分析的样品体积小,采用序列进样时,在样品分析的过程中,等待进样的样品舟中待测的甲基汞会由于挥发等造成损失,导致检测结果的偏差。研究发现,在

采用直接测汞仪分析甲基汞时,采用单个进样的模式进行,有助于获得准确的检测结果,而采用原子荧光光谱法检测时,则不存在此类问题,可采用序列进样模式分析,节省分析时间,适用于大批量样品检测,所以本研究将所建立的前处理方法用于国家标准物质(GBW10029)以及 FAPAS 鱼肉罐头(T07189)中甲基汞的提取,采用原子荧光光谱法进行定量检测,检测结果均在定值范围内,此方法在灵敏度和准确度方面满足了痕量检测的要求。

在国家标准 GB/T 5009.17-2003 中,由于对于甲基汞的前处理方面存在可操作性和重复性差等原因,难以在大批量样品检测中实施。建立本研究方法后,对市售鱼肉样品中甲基汞的含量进行了检测,为水产品中甲基汞含量的普查和风险监测提供了技术支持。

4 结 论

本研究以 48%氢溴酸对样品进行消解,甲苯二次提取,硫代硫酸钠反萃取,建立了原子荧光光谱法检测鱼肉中甲基汞的方法,以鱼肉中总汞和甲基汞标准物质(GBW10029)以及 FAPAS 鱼肉罐头(T07189)对方法的准确度和精密度进行了验证,该方法对两种标准物质中甲基汞的回收率分别为 96.1%、97.5%,满足痕量分析的要求。该方法简单快速、准确度高、重复性好,对水产品中甲基汞的检测及水产品安全监管具有现实意义。

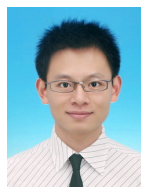
参考文献

[1] 颜雪,司友斌,邹嫣,等. 碱消解-HPLC 同时测定土壤中的无机汞和甲基汞[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(9): 89-93.
Yan X, Si YB, Zou Y, et al. Simultaneous Determination of Inorganic Mercury(II) and Methyl Mercury in Soil by Alkaline Digestion-High Performance [J]. Environ Sci Technol, 2012, 35(9): 89-93.

- [2] 尚晓虹, 赵云峰, 张磊, 等. 水产品中甲基汞测定的液相色谱-原子荧光光谱联用方法的改进[J]. 色谱, 2011, 29(7): 667-672.
- Shang XH, Zhao YF, Zhang L, *et al.* Improvement of the method for methylmercury determination in aquatic products using liquid chromatography on line coupled with atomic fluorescence spectrometry[J]. Chin J Chromatogr, 2011, 29(7): 667-672.
- [3] 陈倩倩, 刘晓东, 孙立广, 等. 微波萃取-原子荧光光谱法优化测定海鸟生物粪中的甲基汞[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(1): 249-252.
- Chen QQ, Liu XD, Sun LG, *et al.* Analysis of Methylmercury in Biological Guano by the Optimized Atomic Fluorescence Spectrometry Coupled with Microwave Assisted Extraction[J]. Spectrosc Spect Anal, 2011, 31(1): 249-252.
- [4] 王嵩, 李宏林, 胡明明, 等. 甲基汞检测研究进展[J]. 化学研究与应用, 2011, 23(2): 129-136.
- Wang S, Li HL, Hu MM, *et al.* Progress in detection of methylmercury[J]. Chem Res Appl, 2011, 23(2): 129-136.
- [5] Björnberg KA, Marie V, Kierstin PG, *et al.* Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption[J]. Sci Total Environ, 2005, 341: 45-52.
- [6] 童银栋, 郭明, 张巍, 等. 甲苯二次萃取-直接测汞法快速测定海产品中的甲基汞[J]. 环境化学, 2011, 30(4): 766-770.
- Tong YD, Guo M, Zhang W, *et al.* Determination of Methyl Mercury in Sea Organisms by Toluene Extraction and Direct Mercury Analyzer [J]. Environ Chem, 2011, 30(4): 766-770.
- [7] Al-Majed NB, Preston MR. Factors influencing the total mercury and methyl mercury in the hair of the fishermen of Kuwait[J]. Environ Pollut, 2000, 109: 239-250.
- [8] 朱霞萍, 张勇, 汪模辉, 等. 毛细管气相色谱法测定生物样品中痕量甲基汞[J]. 理化检验: 化学分册, 2006, 42(5): 344-346.
- Zhu XP, Zhang Y, Wang MH, *et al.* GC Determination of Trace Amounts of Methyl-mercury in Biological Samples with Capillary Chromatographic Column[J]. PTCA(Part b: Chem Anal), 2006, 42(5): 344-346.
- [9] 梁立娜, 江桂斌. 高效液相色谱及其联用技术在汞形态分析中的应用[J]. 分析科学学报, 2002, 18(4): 338-343.
- Liang LN, Jiang GB. High Performance Liquid Chromatography and Related Hyphenated Techniques for the Speciation Analysis of Mercury[J]. J Anal Sci, 2002, 18(4): 338-343.
- [10] Oliveira Ribeiro CA, Belger L, Pelletier E, *et al.* Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*) [J]. Environ Res, 2002, 90: 217-225.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



史永富, 副研究员, 主要研究方向为水产品质量安全与控制。
E-mail: xyzmn530@sina.com



于慧娟, 研究员, 主要研究方向为水产品质量安全与控制。
E-mail: yuhuijuan607@sohu.com