

分散液液微萃取结合测汞仪分析水产食品中甲基汞

段建坤 林建国 叶咏薇 方慧文* 毛宏敏

(武汉产品质量监督检验所, 武汉 430048)

摘 要 建立了以分散液液微萃取技术作为分离富集手段,以测汞仪分析水产品中的甲基汞的方法。以测汞仪直接测定样品中总汞,并用差减法计算出无机汞的含量。实验优化了分散液相微萃取的条件。实验表明,以二氯甲烷为萃取剂,乙醇为分散剂,二者体积比为 1:5, HCl 浓度为 1 mol/L, NaCl 浓度为 120 g/L 时,可以得到较为理想的结果。本方法的动态线性范围为 0.2 ~ 20 $\mu\text{g/L}$, 检出限为 0.10 $\mu\text{g/L}$, 相对标准偏差 6.0%, 富集倍数为 8。仪器测定总汞的检出限为 0.1 $\mu\text{g/kg}$, 线性范围 0.2 ~ 50 $\mu\text{g/kg}$, 相对标准偏差 2.4%。本方法简单、快速, 溶剂消耗量少。以标准参考物质验证本方法的准确性, 其测定结果与标准值吻合较好。将本方法应用于实际水产制品的分析, 得到较满意的结果。

关键词 分散液液微萃取; 测汞仪; 甲基汞

1 引 言

汞是一种毒性较大、熔点低、易挥发的重金属,以多种形态存在于环境和生物体中。汞进入人体后,会对人体造成极大的危害。20 世纪 50 年代,日本化工厂排放含汞的废水,造成数千人中毒的“水俣事件”,引发了全世界对汞中毒的广泛关注。人体中汞的主要来源是被污染的食品,尤其是各种水产品。汞能够以多种形态存在于环境和生物体中,主要有无机形态(一价及二价的汞化合物)和有机态的甲基汞、二甲基汞、乙基汞、苯基汞等。水产品中的汞大部分是甲基汞,其在人体内的吸收效率高达 90% 以上。因此,对水样中和食品中汞的分析,不仅要提供食品中汞的总量信息,更重要的是要提供汞的形态信息。因此,对水产中的汞进行形态分析是十分有必要的^[1,2]。

汞的形态分析一般以色谱技术与原子光谱/质谱技术联用来实现,如气相色谱、液相色谱和原子荧光光谱法(AFS)^[3]、原子吸收光谱法(AAS)^[4,5]以及电感耦合等离子质谱法(ICP-MS)^[6]等的联用。这些方法准确度高,但在分析复杂样品(如海水、沉积物、生物样品等)和测定痕量组分时,由于样品基体的复杂性以及汞的低含量,实现汞的形态分析还存在一定难度,因此,样品的分离富集是必不可少的。传统的分离富集手段包括液液萃取和固相萃取、冷阱捕集等,但是样品和试剂的消耗较大,容易引发环境污染和安全事故。开发新型“绿色”萃取技术,成为了分析工作者的研究热点,固相微萃取(SPME)^[7,8]、液相微萃取(LPME)^[9,10]、浊点萃取(CPE)^[11,12]这些新型绿色萃取技术具有使用有机溶剂少,富集倍数大,操作简单,便于与其他分析仪器实现联用等优点。

分散液液微萃取(DLLME)是液相微萃取技术的一种,由 Rezaee 等^[13]于 2006 年提出。DLLME 萃取速度很快,操作简便,消耗低,环境友好,便于与其他分析仪器联用^[14]。分散液液微萃取用于甲基汞的萃取并对汞进行形态分析也有报道^[15],但萃取液一般均需要进一步的处理以便能应用于后续检测器。测汞仪无需样品前处理,适合于固体和液体的样品的直接分析,其检测灵敏度较高^[16],而且样品需求量较少,用于直接检测 DLLME 萃取液有着较大的优势。

基于此,本研究建立了以 DLLME 萃取样品中甲基汞,萃取液直接以测汞仪测定的分析方法,操作简单,分析速度快,灵敏度高,而且能实现汞形态的分离分析。方法用于标准物质和实际样品的分析,结果令人满意。

2014-08-05 收稿; 2014-09-30 接受

本文系国家质检总局科技计划项目(No. 2012QK151)

* E-mail: kang14@163.com

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

DMA-80 全自动固相测汞仪(意大利 Milestone 公司) 测定波长为 253.65 nm, β -48K 高速冷冻离心机(德国 Saitorius 公司) 超纯水机(美国 Millipore 公司) 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。实验所用器皿均用 10% HNO_3 浸泡 24 h 以上, 用去离子水淋洗干净, 晾干备用。

汞标准溶液甲基汞(GBW08675)、无机汞(GBW(E)080124) 购于中国计量科学研究院。上述标准溶液以超纯水稀释为标准使用液(1.00 mg/L)。汞标准参考物质 GBW10029 鱼肉、GBW 10051 猪肝、GBW 07601 人发均购自中国计量科学研究院。 NaOH 、 HCl 和 NaCl 为优级纯, 其余试剂为分析纯。超纯水电阻率 18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 。实际样品(鳕鱼酥、金枪鱼泥、墨鱼、鱿鱼、龙头鱼和紫菜) 购自武汉当地超市。

2.2 实验方法

总汞测定时, 直接称取约 0.05 g 样品于样品舟中, 以测汞仪分析。甲基汞的测定程序如下: 称取 0.2 ~ 0.5 g 样品于 15 mL 离心管中, 加入 6 mol/L HCl 5 mL, 混匀后超声萃取 2 h, 4°C 下 8000 r/min 离心 10 min。取 2.5 mL 上清液, 加入 5 mol/L NaOH 溶液 2 mL, 定容至 5 mL。以注射器向其中注入 1 mL 分散剂和萃取剂, 放置 5 min, 5000 r/min 离心 5 min, 去掉上层水溶液, 取 100 μL 下层萃取液注入测汞仪样品舟进行分析测定。

3 结果与讨论

3.1 萃取条件的优化

3.1.1 萃取剂的选择 分散相液相微萃取中萃取剂要求密度大于水。实验了四氯化碳、三氯甲烷、二氯甲烷作为萃取剂的萃取性能, 结果见图 1, 可以看出, 二氯甲烷的萃取性能要远好于另外两种。

3.1.2 分散剂的选择 分散液一般采用能与水互溶的溶剂, 实验中比较了甲醇、乙醇、乙腈和丙酮 4 种溶剂作为分散液时的萃取性能(图 2)。结果表明, 甲醇和乙醇效果相当, 萃取效率都高于丙酮和乙腈。考虑到乙醇的毒性较小, 选择乙醇作为分散剂。

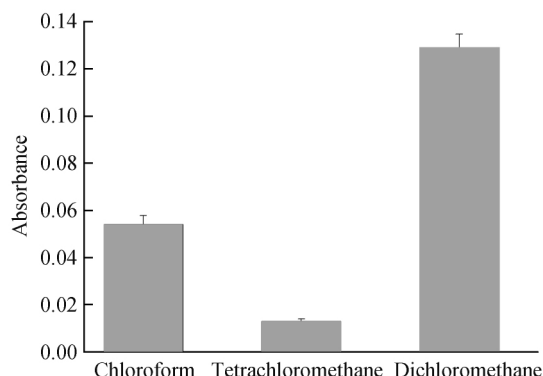


图 1 萃取溶剂的选择

Fig. 1 Selection of extractant

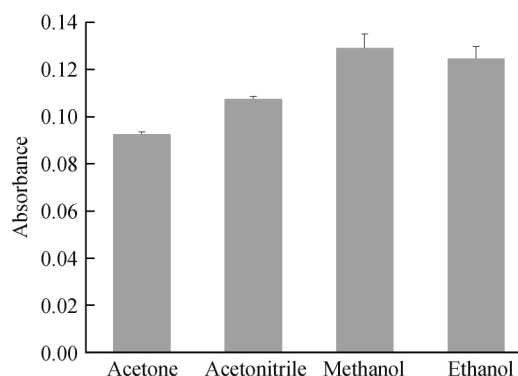


图 2 分散溶剂的选择

Fig. 2 Selection of dispersant

萃取液与分散液的体积比也是影响萃取效率的重要因素之一。考察了二者的体积比 1:1 ~ 1:5 时的萃取效率, 结果见图 3, 可见, 当二者体积比为 1:4 或 1:5 时, 萃取能力最强, 最终选择体积比为 1:5。

3.1.3 HCl 和 NaCl 浓度的影响 在样品提取过程中使用 HCl 作为提取液, 需要研究 HCl 基体对于萃取效率的影响。结果表明, 萃取效率随 HCl 浓度的增大而增加, 其浓度为 0.5 ~ 2.0 mol/L 时, 萃取效率最高, 继续增大 HCl 浓度, 萃取效率有所降低。另外, 以 NaOH 中和 HCl 后的产物为 NaCl 。样品溶液中 NaCl 浓度的增大, 会降低甲基汞在水中的溶解度, 从而提高萃取效率。实验结果也证明了加入 NaCl 会提高萃取效率(图 4)。样品经处理后加入 NaOH 定容, 其中 HCl 和 NaCl 的浓度分别为 1 mol/L 和 117 g/L, 故优化的条件为 1 mol/L HCl 和 120 g/L NaCl 。

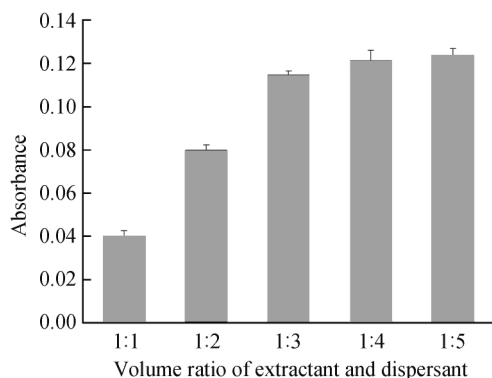


图3 萃取剂和分散剂体积比的影响

Fig.3 Effect of volume ratio of extractant and dispersant

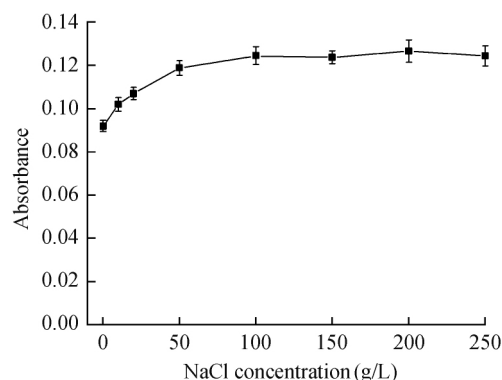


图4 NaCl 浓度的影响

Fig.4 Effect of NaCl concentration

3.2 干扰实验

本方法采用分散相液液微萃取手段分离甲基汞和无机汞,并实现对甲基汞的富集。因此,实验中还研究了无机汞对于甲基汞测定的影响。结果表明,50 倍的无机汞离子对于甲基汞的测定结果的影响小于 10%。因此,本方法可以用于实际水产食品中甲基汞的分析测定。

3.3 方法的分析性能

在选定的工作条件下,测定空白并计算其标准偏差,按 IUPAC 的定义 (3σ) 得到甲基汞的检出限为 $0.10 \mu\text{g/L}$,方法的相对标准偏差为 6.0% ($2.0 \mu\text{g/L}$, $n=11$),甲基汞浓度在 $0.2 \sim 20 \mu\text{g/L}$ 的范围内线性良好,相关系数为 0.9992,线性方程为 $y=0.0389x+0.0056$ 。甲基汞的富集倍数为 8。总汞的检出限为 $0.1 \mu\text{g/kg}$,线性范围 $0.2 \sim 50 \mu\text{g/kg}$,线性方程为 $y=0.0553x+0.00053$,相对标准偏差为 2.4%。

3.4 方法验证和样品分析

以汞标准参考物质 GBW 10029 鱼肉、GBW 07601 人发、GBW 10051 猪肝作为样品评价了方法的准确性和可靠性,并对实际样品进行了分析测定。样品分析结果见表 1

表1 样品分析结果

Table 1 Analytical results of samples (mg/kg , $n=3$)

	测定值 Found		标准参考值 Reference value	
	甲基汞 MeHg	总汞 Total-Hg	甲基汞 MeHg	总汞 Total-Hg
鱼肉 Fish GBW10029	0.85 ± 0.03	0.86 ± 0.08	0.84 ± 0.03	0.85 ± 0.03
人发 Human hair GBW07601	0.172 ± 0.013	0.35 ± 0.05	$0.167 \pm 0.016^{[17]}$	0.36 ± 0.08
猪肝 Pork liver GBW10051	0.0028 ± 0.0005	0.043 ± 0.004	—	0.045 ± 0.008
鳕鱼酥 Codfish crisp	0.034 ± 0.008	0.047 ± 0.006	—	—
金枪鱼泥 Tuna paste	0.024 ± 0.005	0.038 ± 0.004	—	—
鱿鱼 Squid	0.102 ± 0.007	0.099 ± 0.003	—	—
墨鱼 Cuttlefish	0.054 ± 0.004	0.052 ± 0.003	—	—
龙头鱼 Harpadon nehereus	0.036 ± 0.003	0.036 ± 0.002	—	—
紫菜 Porphyra	0.013 ± 0.001	0.017 ± 0.002	—	—

从表 1 可见,标准样品的分析结果与参考值或文献值保持一致,因此,本方法准确度较高。此外,实际样品鳕鱼酥和金枪鱼泥为婴幼儿辅助食品,其甲基汞含量均超过了 0.02 mg/kg ,因此应减少婴幼儿对此类辅助食品的摄入量。同样从结果可见,海产品中甲基汞为主要的汞形态,无机汞的含量远低于甲基汞的含量。可见在一般的海产品测定时,无机汞不会对甲基汞的测定产生干扰。总之,本研究所建立的方法操作简单,分析速度快,灵敏度高,很适合于实验室的日常分析测定。

References

- Zahir F, Rizwi S J, Haq S K, Khan R H. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **2005**, 20: 351–360
- Scheuhammer A M, Meyer MW, Sandheinrich M B, Murray M W. *Ambio*, **2007**, 36(1): 12–18

- 3 CAO Xiao-Dan , QIN De-Yuan , HAO Wei , JIAO Xiao-Lin. *Chinese J. Anal. Chem.* , **2014** , 42(7) : 1033–1038
曹小丹, 秦德元, 郝伟, 焦晓琳. 分析化学, **2014** , 42(7) : 1033–1038
- 4 Ferrúa N , Cerutti S , Salonia J A , Olsina R A , Martinez L D. *J. Hazard. Mater.* , **2007** , 141: 693–699
- 5 Escudero L B , Olsina R A , Wuilloud R G. *Talanta* , **2013** , 116: 133–140
- 6 SUN Jin , CHEN Chun-Ying , LI Bai , GAO Yu-Xi , CHAI Zhi-Fang. *Spectroscopy and Spectral Analysis* , **2007** , 27(1) : 173–176
孙瑾, 陈春英, 李少锋, 李柏, 高愈希, 柴之芳. 光谱学与光谱分析, **2007** , 27(1) : 173–176
- 7 CUI Zong-Yan , GE Na , CAO Yan-Zhong , LIU Yong-Ming , LI Jin , WU Yan-Ping. *Chinese J. Anal. Chem.* , **2013** , 41(12) : 1887–1892
崔宗岩, 葛娜, 曹彦忠, 刘永明, 李金, 吴艳萍. 分析化学, **2013** , 41(12) : pp 1887–1892
- 8 Muñoz J , Gallego M , Valcárcel M. *J. Chromatogr. A* , **2004** , 1055: 185–190
- 9 Li P J , Zhang X , Hu B. *J. Chromatogr. A* , **2011** , 1218(52) : 9414–9421
- 10 Li P J , Duan J K , Hu B. *Electrophoresis* , **2008** , 29(14) : 3081–3089
- 11 Li Y J , Hu B. *Spectrochim. Acta B* , **2007** , 62(10) : 1153–1160
- 12 Ulusoy H I , Gürkan R , Ulusoy S. *Talanta* , **2012** , 88(15) : 516–523
- 13 Rezaee M , Assadi Y , Hosseini M-RM , Aghaee E , Ahmadi F , Berijani S. *J. Chromatogr. A* , **2006** , 1116: 1–9
- 14 ZANG Xiao-Huan , WU Qiu-Hua , ZHANG Mei-Yue , XI Guo-Hong , WANG Zhi. *Chinese J. Anal. Chem.* , **2009** , 37(2) : 161–168
臧晓欢, 吴秋华, 张美月, 郗国宏, 王志. 分析化学, **2009** , 37(2) : 161–168
- 15 Jia X Y , Han Y , Liu X L , Duan T C , Chen H T. *Spectrochim. Acta B* , **2011** , 66(1) : 88–92
- 16 Maggi C , Berducci M T , Bianchi J , Giani M , Campanella L. *Anal. Chim. Acta* , **2009** , 641: 32–36
- 17 WANG Meng , FENG Wei-Yue , ZHANG Fang , WANG Bing , SHI Jun-Wen , LI Bai , CHAI Zhi-Fang , ZHAO Yu-Liang. *Chinese J. Anal. Chem.* , **2005** , 33(12) : 1671–1675
王萌, 丰伟悦, 张芳, 汪冰, 史俊稳, 李柏, 柴之芳, 赵宇亮. 分析化学, **2005** , 33(12) : 1671–1675

Determination of Methylmercury in Seafood after Dispersive Liquid-liquid Microextraction by Direct Mercury Analyzer

DUAN Jian-Kun , LIN Jian-Guo , YE Yong-Wei , FANG Hui-Wen* , MAO Hong-Min
(Wuhan Product Quality Supervision & Testing Institute , Wuhan 430048 , China)

Abstract A method for the determination of methylmercury in seafood has been developed using dispersive liquid-liquid microextraction followed by direct mercury analyzer. Total mercury was detected by direct mercury analyzer , and inorganic mercury was calculated by the difference. The parameters affecting the extraction efficiency , including the selection of extractant and dispersant , their volume ratio , concentration of HCl and NaCl have been optimized in this study. The results showed that CH₂Cl₂ as extractant , ethanol as dispersant , volumn ration of 1:5 , 1 mol/L HCl and 120 g/L NaCl were chosen. The detection limit and the dynamic liner range were 0.10 μg/L and 0.2–20 μg/L , respectively. The relative standard deviation was 6.0% for eleven replicates at the spiked level of 2.0 μg/L. The enrichment factor was 8. For total Hg determination , the detection limit and the dynamic liner range for methylmercury were 0.10 μg/kg and 0.2–50 μg/kg , respectively. The relative standard deviation was 2.4% . The method was simple , fast and a little solvent needed. Some certified reference materials were analyzed to validate the accuracy of the proposed method , and the results were in good agreement with the reference value. Besides , the method was applied to the real samples with satisfactory results.

Keywords Dispersive liquid-liquid microextraction; Direct mercury analyzer; Methylmercury

(Received 5 August 2014; accepted 30 September 2014)