



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

高尔乐¹ 何 滨¹ 江桂斌^{*} 陈登云²

(1 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京, 100085; 2 安捷伦科技有限公司)

摘 要 建立了以碱消解为萃取技术, 高效液相色谱与电感耦合等离子体质谱联用系统 (HPLC-ICP-MS) 作为检测手段测定生物样品中甲基汞 (MeHg) 与乙基汞 (EtHg) 的分析方法. 该方法选择 25% (M/V) KOH/CH₃OH 作为萃取溶剂. 在优化的检测条件下, 该方法对样品中甲基汞和乙基汞的检出限分别为 0.8 ng·mL⁻¹ 和 3 ng·mL⁻¹. 对标准参考物质 (DORM-2) 的测定和加标回收实验的结果进一步验证了该方法的可靠性与准确性, 并用该方法测定了另外 4 个生物样品中甲基汞与乙基汞的含量.

关键词 生物样品, 碱消解, 甲基汞, 乙基汞, HPLC-ICP-MS

汞是一种环境中普遍存在的剧毒元素. 它的毒性与其存在形态密切相关, 有机汞的毒性要远大于无机汞. 最毒的汞化合物甲基汞 (MeHg) 一直受到人们的关注, 而乙基汞 (EtHg) 的毒性虽不及甲基汞, 但其在环境中也可能存在^[1], 并且不同汞形态的化合物具有不同的生物可利用性, 因此, 测定生物样品中的汞形态对于我们了解不同汞形态的化合物对生物机体造成的损伤具有极其重要的意义. ICP-MS 作为一种特征检测器, 对汞具有很高的灵敏度^[2]. 本实验建立了一套碱消解 HPLC-ICP-MS 系统对生物样品中甲基汞与乙基汞的测定方法.

1 仪器与试剂

Agilent 7500Ce ICP-MS Rheodyne Model 7725i Injection 阀 (Rheodyne, Cotati, USA); Agilent 1200 HPLC 泵; Agilent ZORBAX XDB-C18 色谱柱 (2.1 mm × 50 mm, 5 μm); 流动相由 5% (V/V) 甲醇, 60 mmol L⁻¹ 醋酸铵, 0.1% (V/V) 2-巯基乙醇组成, 并经过 0.2 μm 的膜; 流动相经过色谱柱后直接进入 ICP-MS 检测.

色谱条件及 ICP-MS 的一些工作参数如下:

HPLC 色谱柱: Agilent ZORBAX XDB-C18 色谱柱, 2.1 mm × 50 mm, 5 μm; 流动相: 5% (V/V) CH₃OH; 60 mmol L⁻¹ CH₃COONH₄; 0.1% (V/V) 2-mercaptoethanol 流动相流速: 0.4 mL·min⁻¹; 进样体积: 20 μL

ICP-MS 发射功率: 1210 W; 载气流速: 0.93 L·min⁻¹; 辅助气流速: 0.16 L·min⁻¹; 雾化器: 石英; 采样模式: 时间解析; 单点采样时间: 0.1 s 分析时间: 700 s

1 mg·mL⁻¹ (以汞计) 母液由溶解适量的氯化甲基汞和氯化乙基汞 (均来自于 Merck-Schuchardt, 美国) 于甲醇中配制而成, 储存在冰箱中; 母液经适当稀释后作为工作溶液使用并新鲜配制.

25% (M/V) KOH/CH₃OH 溶液: 25 g KOH 固体溶于 75 mL 甲醇中; 0.01 mol L⁻¹ 硫代硫酸钠溶液由溶解适量的 Na₂S₂O₃·5H₂O 于去离子水中配制而成; 所有试剂均为分析纯或更高级别, 去离子水均来自于 EASY pure LF (Barnstead Co., 美国) 超纯水系统.

2 样品碱消解萃取步骤

所有生物样品均经过 -45℃ 冷冻干燥后放置冰箱 -18℃ 保存. 称取 0.2 g 生物样品于 50 mL 玻璃离心管中. 对于加标样品, 在提取开始 12 h 前加入 100 ng·g⁻¹ 甲基汞和乙基汞的标准溶液于样品中. 再加入 2 mL 25% 的 KOH/CH₃OH 溶液, 振荡过夜; 然后逐滴加入 1.5 mL 浓盐酸以中和过量的碱, 加入 6 mL 二氯甲烷, 振荡 60 min, 使得有机汞进入有机相. 3500 r·min⁻¹ 离心 20 min 后, 取出 3 mL 左右二氯甲烷于 10 mL 玻璃刻度离心管中. 加入 1 mL 硫代硫酸钠溶液, 3500 r·min⁻¹ 离心 60 min 使有机汞从二氯甲烷相反萃进入到水相. 取 0.6~0.8 mL 水相于 1 mL 塑料离心管中, 高速离心 12000 r·min⁻¹ 离心 30 min, 然后直接进样检测.

* 通讯作者: gbjiang@ricees.ac.cn +86-10-62849179.

3 HPLC-ICP-MS 色谱分离系统

HPLC-ICPMS 色谱图 (100 ng•mL⁻¹ 混标) 如图 1 所示, 甲基汞和乙基汞在 10min 内达到完全分离, 甲基汞和乙基汞的保留时间分别为 2.8min 和 8.5min. 一些定量实验的参数详见表 1. 甲基汞和乙基汞的线性检测范围为 0—1000 ng•mL⁻¹, 检出限 (三倍信噪比) 甲基汞为 0.8 ng•mL⁻¹, 乙基汞为 3.0 ng•mL⁻¹. 浓度为 50 ng•mL⁻¹ 的混标平行进样 5 次, 色谱峰面积的相对标准偏差 (RSD) 分别为 2.8% 和 2.1%.

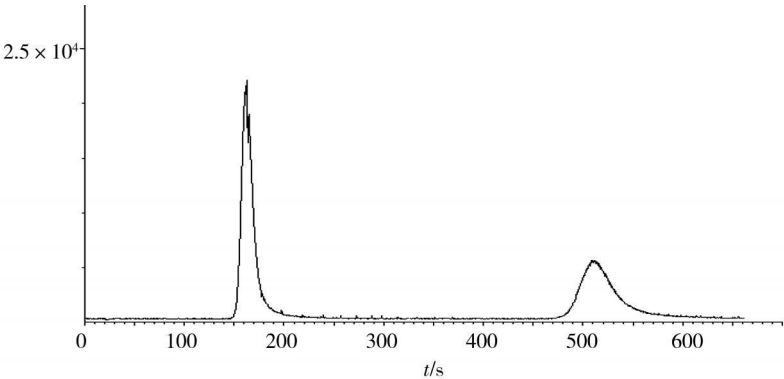


图 1 100ng•mL⁻¹甲基汞和乙基汞的标准色谱图

表 1 联用系统的一些定量参数

汞化合物	线性方程	相关系数	线性范围 /ng•mL ⁻¹	检出限 /ng•mL ⁻¹	相对标准偏差 /% ^{a)}
甲基汞	y= 37920x- 22543	0.9997	0—1000	0.8	2.8
乙基汞	y= 25968x- 22797	0.9992	0—1000	3.0	2.1

a) 浓度为 50 ng Hg•mL⁻¹, n= 5.

4 样品分析与加标回收实验

分析了标准参考物质 DORM-2(Dogfish Muscle)以验证该消解方法的准确性与精密性. 所得结果可以看出测定值 (4470±320)与标准值 (4631±233)相一致. DORM-2中未检出乙基汞. 另外, 对样品还进行了加标回收实验, 甲基汞和乙基汞的回收率分别为 100% 和 91%, 结果令人满意, 见表 2和图 2. 以上结果证明了运用碱消解 HPLC-ICPMS 系统测定生物样品中的甲基汞与乙基汞是可行与可靠的. 运用此方法对另外四个生物样品进行了分析, 测定结果见表 3.

表 2 加标回收试验结果

汞化合物	未加标测定值 /ng•g ⁻¹	加标量 /ng•g ⁻¹	加标后测定值 /ng•g ⁻¹	回收率 /%
甲基汞	112.3 ±9.3	100	211.3 ±6.8	100±4
乙基汞	未检出	100	90.0 ±2.0	91±2

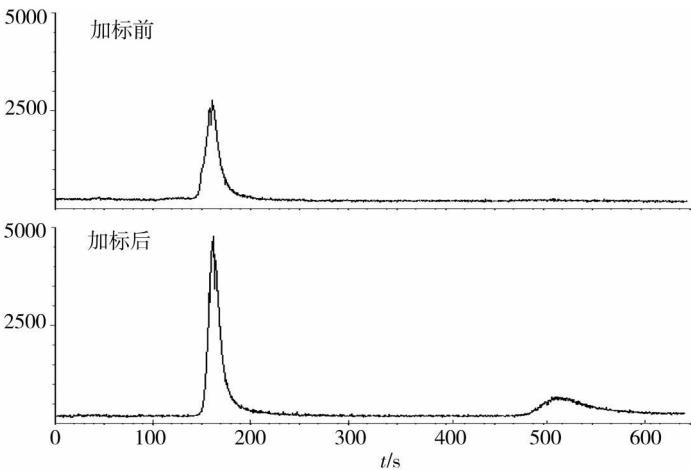


图 2 加标实验色谱图

表 3 四种生物样品中甲基汞与乙基汞测定结果 ($n = 3$)

样品	S1	S2	S3	S4
甲基汞含量 / $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	22.6 ± 1.3	25.6 ± 2.2	26.1 ± 3.1	81.3 ± 2.4

注: 乙基汞未检出.

参 考 文 献

[1] Yong C, Rudolf J, Ronald J. Ethylmercury in the Soils and Sediments of the Florida Everglades. *Environmental Science & Technology*, 1997, **31**, 302

[2] Wang Meng, Feng Weiyue, Shi Junwen et al., Development of a Methylmercaptoethanol Extraction Method for Determination of Mercury Species in Biological Samples by HPLC-ICP-MS. *Talanta*, 2007, **71**, 2034—2039

DETERM INATION OF METHYLMERCURY AND
ETHYLMERCURY IN BIOLOGICAL SAMPLES USING
ALKALINE DIGESTION-HPLC-ICP-MS

GAO Er-le¹ HE Bin¹ JIANG Gui-bin¹ CHEN Deng-yun²

(1 State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences
Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2 Agilent Technology Co., Ltd.)

ABSTRACT

A method for determination of methylmercury (MeHg) and ethylmercury (EtHg) in biological samples by HPLC-ICP-MS coupled system using alkaline digestion has been established. 25% (M/V) KOH/CH₃OH was using as the extractant. In optimized conditions, the detection limits for methylmercury was 0.8 ng·mL⁻¹, and for ethylmercury was 3 ng·mL⁻¹, respectively. This method was validated by analyzing the CRM (DORM-2) and spiked experiment. Then four biological samples were analyzed using this method.

Keywords biological samples, alkaline digestion, methylmercury, ethylmercury, HPLC-ICP-MS