

文章编号: 1673-9868(2008)05-0023-04

汞、硒的氢化物发生原子光谱分析方法研究

王化杰¹, 胡尚伟¹, 李杰¹,
唐厚良¹, 黄玉明¹, 舒为群², 曹佳²

1. 西南大学 化学化工学院, 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715;
2. 第三军医大学 预防医学院, 重庆 400038

摘要: 建立了测定鱼样中汞和硒的氢化物发生原子吸收及原子荧光分析方法, 研究了不同消解方法对鱼组织中汞、硒测定的影响及生物样品中汞与硒之间的相关性。结果表明, 采用高锰酸钾及过氧化氢作氧化剂进行消解较适合鱼样中汞的分析, 而用硝酸和高氯酸进行消解适合于鱼样中硒的分析; 同时用微波消解进行鱼样前处理用于汞、硒的分析获得满意结果。不同年代和不同种类的 22 个鱼肉中 Hg 与 Se 含量间存在显著相关性。

关键词: 汞; 硒; 氢化物发生; 原子光谱; 前处理

中图分类号: O657

文献标识码: A

汞被人体肠道吸收后, 富集在肝、胃、脑组织等部位, 可对中枢神经造成危害^[1]。水产品鱼贝类是人类食物中汞的主要来源, 我国规定水产品中总汞应小于 0.3 mg/kg^[2]。因此, 建立一种准确快速测定水产品中汞含量的方法是必要的, 尤其是消解方法更为重要, 因为不同的消解方法对样品的消解程度不一致, 而且有的消解方法还会对样品中汞的测定产生严重干扰, 进而影响测定结果。

硒具有抗氧化性、能调节甲状腺荷尔蒙代谢和细胞生长^[3-5]。Diplock 等人研究发现少量硒有解毒功能^[6]。Koeman 等人^[7]对荷兰近海海豹的研究发现, 海豹肝脏中蓄积了大量汞, 而海豹却没有异常表现, 进一步研究发现海豹体内硒含量也异常高, 从而认为硒可能对汞有拮抗作用。Chai 等人^[8]对高汞低硒地区(第二松花江)29 对母子头发中汞和硒含量及相关性的研究表明, 子体发样中汞水平与其母体相当或稍高, 硒水平比其母体的高, 这些结果表明子体在其胎儿发育阶段需要更多的硒, 以减轻或抵御汞的毒性, 也证明了硒对汞毒性的拮抗作用。

本研究旨在建立并比较氢化物发生原子吸收及原子荧光法测定生物样品中汞和硒的分析方法, 评价湿法消解及微波消解等不同消解方法对鱼组织中汞和硒测定的影响, 研究不同营养级状态下鱼组织中汞与硒的相关性, 为进一步揭示生物体内硒与汞相互作用规律提供科学依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器、试剂及材料

TAS-986 型原子吸收光度计(北京普析通用公司); WHG-102A2 型流动注射氢化物发生器(北京浩天晖科贸有限公司); 长寿命 T 型石英管(北京浩天晖科贸有限公司); AFS-230E 原子荧光光度计(北京海光仪器公司); 高纯氩气, 99.999%; 高锰酸钾(优级纯, 重庆东方试剂厂); KBH_4 , 分析纯; NaBH_4 (Merck 公司, 德国), 分析纯; 硝酸、盐酸均为优级纯; 二氧化硒、 HgCl_2 、盐酸羟胺、过氧化氢及高氯酸为分析纯;

收稿日期: 2007-06-29

基金项目: 国家科技攻关西部引导资助项目(2003BA869C); 教育部“春晖计划”资助项目(2004-7-22); 重庆市自然科学基金重点资助项目(2004BA7019); 重庆市重大科技攻关资助项目(2006AA7003)。

作者简介: 王化杰(1982-), 男, 安徽蚌埠人, 硕士研究生, 主要从事环境化学研究。

通讯作者: 黄玉明, 教授, 博士生导师。

水为二次重蒸馏水. 黄鱼标准参考样(GBW08573, 国家标准物质研究中心). 用于湿法消解的鲫鱼两条(一条长 23 cm, 重 240 g, 另一条长 25 cm, 重 260 g, 来自重庆北碚区养殖鱼塘)、乌鳢一条(长 50 cm, 重 750 g, 来自嘉陵江)及鲢鱼一条(长 63 cm, 重 1 000 g, 来自嘉陵江), 带回实验室, 去鳞, 取出肝脏, 置于冰箱中冷冻保存备用. 不同年代和不同种类的 22 个鱼肉样由西南大学生命科学学院提供.

1.2 实验方法

1.2.1 标准曲线绘制

配制系列浓度的汞及硒标准液, 用原子吸收或原子荧光分析法进行测定, 绘制标准曲线.

1.2.2 湿法消解及原子吸收分析方法

鱼样中硒的分析: 称取 2 g 样品放入洁净的锥形瓶中, 加入优级纯的硝酸和分析纯的高氯酸混酸(体积比为 3:1) 10 mL, 放置过夜; 次日, 用电炉加热使消解液保持微沸状态, 若溶液出现黄色, 补加少量硝酸, 直到溶液透明时停止加热, 冷却后加入 10 mol/L 盐酸 5 mL, 于 60 ℃ 水浴将 Se(VI) 还原为 Se(IV), 用二次蒸馏水定容至 25 mL. 同时做空白实验. 按表 1 所示条件用峰高计量进行硒的测定.

鱼样中汞的分析: 准确称取样品 2 g 放入锥形瓶中, 先加入 10 mL 双氧水, 放置 1 h 后, 再加入硝酸 5 mL, 放置过夜; 次日, 再加入硫酸 2 mL 和 5% 高锰酸钾 5 mL, 80 ℃ 水浴加热 2 h. 若红色褪去, 补加少量的高锰酸钾溶液, 使溶液始终保持紫红色, 定容前加入几滴 2.5% 盐酸羟胺使高锰酸钾紫色刚好褪色, 然后用二次蒸馏水定容至 25 mL. 同时做空白实验. 按表 1 所示条件用峰高计量进行汞的测定.

表 1 氢化物发生原子吸收分析法测定汞和硒的条件

元素	波长 / nm	灯电流 / mA	光谱带 / nm	载气流量 / (mL · min ⁻¹)	积分时间 / s	NaBH ₄ 浓度 / %	盐酸浓度 / %
Se	196.0	5	0.4	150	15	1.5	1
Hg	253.7	3	0.4	150	15	0.5	1

1.2.3 微波消解及原子荧光分析方法

称取一定量的鱼样, 加入 8 mL HNO₃, 放置 2 h 后, 加入 2 mL 蒸馏水, 用 300 W 的功率在 5 min 内升至 120 ℃, 保持 5 min 后进行第二阶段消解, 即用 300 W 的功率在 10 min 内升至 170 ℃, 保持 10 min, 取出后赶尽硝酸, 定容至 25 mL 后, 用原子荧光法测定汞和硒, 同时做样品空白. 汞和硒测定的仪器工作条件除灯电流不同外, 其余条件均相同: 负高压 300 V、载气流量 400 mL/min、屏蔽气流量 1000 mL/min、观测高度 8 mm、延迟时间 1 s、读数时间 10 s; 测汞及硒灯电流分别为 2 mA 及 100 mA.

2 结果与讨论

2.1 氢化物发生原子吸收分析测定条件优化及方法特性

试验了 0.1%~6% 盐酸载液及 0.1%~2% 硼氢化钠溶液对汞及硒响应值的影响, 结果表明用 1% HCl 溶液作载液时测定硒及汞的响应最大, 实验选 1% HCl 溶液作载液. 分别选用 0.5% 及 1.5% 硼氢化钠溶液测定汞及硒可获得最大响应值. 发现流量在 120~180 mL/min 之间时, 吸光度稳定, 选用 150 mL/min 氩气作载气; 汞和硒测定所有条件列于表 1. 对汞含量在 0~100 ng/mL 范围内的标准溶液进行测试, 发现汞含量在 0~80 ng/mL 时, 曲线线性关系很好, 回归方程为 $y = 0.0076x + 0.0012$, $R^2 = 0.9996$. 检出限(3 σ)为 0.12 ng/mL. 对硒含量在 0~30 ng/mL 范围内的标准溶液进行测试, 发现硒含量在 0.0~30 ng/mL 时, 曲线线性关系很好, 回归方程为 $y = 0.0053x - 0.0069$, $R^2 = 0.994$, 检出限(3 σ)为 0.10 ng/mL.

2.2 氢化物发生原子荧光分析测定条件优化及方法特性

加入少量氢氧化钠可以增加硼氢化钾的稳定性, 实验发现当氢氧化钠浓度为 0.5% 时, 荧光强度最大, 同时试验了盐酸浓度在 1%~10% 范围内对荧光值的影响, 发现盐酸浓度为 5% 时荧光强度最大, 实验选择盐酸浓度为 5%. 实验结果表明硼氢化钾浓度在 1.5% 时荧光强度值最高且稳定, 选择硼氢化钾浓度为 1.5%. 对汞含量在 0~4 ng/mL 范围内的标准溶液进行测试, 发现汞含量在 0~1 ng/mL 时, 曲线线性关系很好, 回归方程为 $y = 73.141x - 1.4$, $R^2 = 0.9996$, 检出限(3 σ)为 0.02 ng/mL. 对硒含量在 0~10 ng/mL 范围内的标准溶液进行测试, 发现硒含量在 0~10 ng/mL 时, 曲线线性关系很好, 回归方程为 $y = 296.96x + 58.1$, $R^2 = 0.9968$, 检出限(3 σ)为 0.05 ng/mL. 用原子荧光法测定汞和硒具有更高的灵敏度.

2.3 消解方法

选取硝酸与硫酸水浴加热消解和硝酸与高氯酸水浴加热消解方法进行鱼样消解用于硒的测定, 发现硝酸

与硫酸消解处理后样品空白高, 回收率低; 而用硝酸与高氯酸进行消解后, 溶液清亮无色, 且空白低. 试验了硝酸与高氯酸体积比及用量对鱼样消解的影响, 结果表明硝酸与高氯酸体积比为 3 : 1, 体积为 10 mL 时可获得满意结果, 回收率在 85 % ~ 110 % 之间. 本实验选取了几种不同的消解方法^[9,10]用于测定汞: 硫酸、硝酸水浴 80 °C 消解法; 双氧水、硝酸、硫酸和高锰酸钾水浴 80 °C 消解法; 硫酸(1 : 1)和高锰酸钾水浴 80 °C 消解法; 硫酸(1 : 1)和高锰酸钾室温消解法; 硝酸和双氧水室温消解法. 利用上述 5 种方法测定同一鱼肉样品, 每种消解方法进行 3 次平行测定, 并同时测定空白. 取乌鳢肉, 不同消解方法测定汞的结果表明用双氧水、硝酸、硫酸和高锰酸钾水浴加热消解法最彻底, 效果最好, 其加标回收率在 84 % ~ 110 % 之间. 实验选用 25, 50, 80, 100 °C 等不同温度消解 3 h 进行对照实验, 结果发现在 80 °C 消解时效果最佳. 对消解时间进行了优化, 表明 1 h 可使样品基本消解完全, 为保证完全消解, 选用 2 h 进行实验.

湿法消解冗长、易引起目标物质损失, 进一步试验了用微波消解进行鱼样消解, 在 30 min 内可完成样品前处理, 为评估微波消解方法的可靠性, 用氢化物发生原子荧光法测定黄鱼标准参考样 (GBW08573) 中的汞和硒, 得到汞和硒浓度分别为 (0.148 ± 0.08), (1.95 ± 0.04) μg/g, 与汞和硒标示值 (分别为 (0.169 ± 0.01) 及 (1.76 ± 0.07) μg/g) 相吻合, 说明微波消解方法适用于鱼样中汞和硒的测定.

2.4 鱼肉中汞、硒含量及相关性

在最佳条件下, 用微波消解氢化物发生原子荧光法, 测定了不同种类的鱼肉组织中汞和硒的含量, 结果列于表 2. 可见, 长江上游鱼肉中汞含量范围为 71 ~ 603 ng/g, 平均值为 293 ng/g; 硒含量范围为 94 ~ 2 872 ng/g, 平均值为 1 114 ng/g. 不同采样年代间鱼样中的汞、硒含量无显著性差异 ($p > 0.05$), 但 1997 年斑鳅中汞含量比其它年代鱼高. 对不同品种鱼样中汞、硒含量进行方差分析, 发现鱼肌肉中汞、硒含量与鱼品种间无显著性差异 ($p > 0.05$), 其原因可能是研究的十二种鱼生活习性比较接近, 多数属杂食性鱼类. t 检验进行分析表明鱼肉中 Hg 与 Se 含量间存在显著相关性 ($p = 0.003$).

Chen 等人的^[11]研究表明在高分子量蛋白质中汞与硒的物质的量比趋近为 1 : 1. 也有研究表明动物组织中 Hg/Se 物质的量比值大体上有两个比值, 即 1 : 1 和 2 : 1^[12]. 前者表明在体内可能形成了 HgSe, 这里 Se 的作用类似于硫原子, 而后者表明可能形成了二甲基汞硒化合物 (CH₃-Hg-Se-Hg-CH₃). 本研究中 12 种鱼肉中汞硒物质的量比只有 2004 年胭脂鱼和 2002 年圆口铜鱼超过比值 1, 且圆口铜鱼比值超过 2, 说明该鱼富集汞的能力比硒大, 并且这两种鱼对硒富集较少, 提示上述两种鱼生活的水域可能受到污染. 其它鱼比值都在 1 以下, 平均比值约为 0.3. 斑鳅、大鳍鱮和长吻鮠主要以蚌、虾、蟹为食, 也食小鱼, 属于肉食性鱼类, 而其它大多数为杂食性鱼类, 斑鳅、大鳍鱮和长吻鮠汞硒物质的量比高于其它几种鱼. 另外, 鱼体内汞的含量年代有增加的趋势 (表 2).

表 2 22 种鱼样中汞和硒的含量及其物质的量比值 (Hg/Se) (平均值 ± 标准偏差) (n = 3)

年代	地点	鱼名称	汞的含量/(ng · g ⁻¹)	硒的含量/(ng · g ⁻¹)	汞硒物质的量比
1955	北碚	大鳍鱮	221 ± 9	763 ± 6	0.114
1955	北碚	马口鱼	71 ± 4	721 ± 5	0.039
1955	北碚	铜鱼	297 ± 3	2814 ± 9	0.042
1957	北碚	宽鳍鱮	583 ± 15	1401 ± 11	0.164
1976	嘉陵江	斑鳅	305 ± 7	1337 ± 13	0.090
1976	嘉陵江	大鳍鱮	300 ± 10	2035 ± 15	0.058
1976	北碚	中华倒刺鲃	292 ± 16	345 ± 8	0.333
1979	攀枝花	圆口铜鱼	201 ± 4	802 ± 7	0.099
1981	武隆	福建纹胸鮡	302 ± 6	2872 ± 16	0.041
1981	彭水	胭脂鱼	95 ± 5	425 ± 11	0.088
1984	北碚	长吻鮠	403 ± 6	579 ± 10	0.274
1986	北碚	岩原鲤	206 ± 18	743 ± 13	0.109
1997	合川	斑鳅	603 ± 12	909 ± 5	0.261
2000	合川	长吻鮠	199 ± 3	1450 ± 4	0.054
2000	木洞	福建纹胸鮡	329 ± 5	863 ± 3	0.150
2000	木洞	岩原鲤	214 ± 11	1528 ± 21	0.055
2001	木洞	铜鱼	122 ± 7	536 ± 14	0.090
2001	木洞	圆口铜鱼	381 ± 3	387 ± 8	0.387
2002	攀枝花	宽鳍鱮	317 ± 12	1393 ± 15	0.090
2002	阆中	圆口铜鱼	364 ± 10	55 ± 8	2.589
2004	木洞	胭脂鱼	465 ± 13	94 ± 5	1.937
2004	木洞	圆筒吻鮡	181 ± 9	2447 ± 16	0.029

参考文献:

- [1] Tchounwou P B, Ayensu W K, Ninashvili N, et al. Environmental Exposure to Mercury and Its Toxicopathologic Implications for Public Health [J]. *Environ Toxicol*, 2003, 18: 149-175.
- [2] 陈 斌, 罗文贤, 蒋瑾华, 等. 水产品中汞含量的测定与调查 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2003, 13(5): 639-640.
- [3] Rayman M P. The Argument for Increasing Selenium Intake [J]. *Proc Nutr Soc*, 2002, 61: 203-215.
- [4] Kryukov G V, Castellano S, Novoselov S V, et al. Characterization of Mammalian Selenoproteomes [J]. *Science*, 2003, 300: 1439-1443.
- [5] 刘兴艳. 攀枝花芒果中微量硒的测定 [J]. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 2007, 6(32): 29-32.
- [6] Diplock A T, Watkins W J, Heurson M. Selenium and Heavy Metals [J]. *Ann Clin Res*, 1986, 18: 55-60.
- [7] Koeman J H, Vandeven W S M, de Goeij J J M, et al. Mercury and Selenium in Marine Mammals and Birds [J]. *Sci Total Environ*, 1975, 3: 279-287.
- [8] Chai Z F, Feng W Y, Qian Q F, et al. Correlation of Mercury with Selenium in Human Hair at a Typical Mercury Polluted Area in China [J]. *Biological Trace Element Res*, 1998, 63(2): 95-104.
- [9] Suzuki K T, Sasakura C, Yoneda S. Binding Sites for the Hg-Se Complex on Selenoproteinp [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1429: 102-112.
- [10] Fabrizio R D F, Olaf M, Helen F W. Mercury Levels in Tissues of Giant Otters (*Pteronura Brasiliensis*) from the Rio Negro, Pantanal, Brazil [J]. *Environ Res*, 2005, 98: 368-371.
- [11] Chunying Chen, Liya Qu, Jiujiang Zhao, et al. Accumulation of Mercury, Selenium and Their Binding Proteins in Porcine Kidney and Liver from Mercury-Exposed Areas with the Investigation of Their Redox Responses [J]. *Sci Total Environ*, 2006, 366: 627-637.
- [12] 王 夔. 生命科学中的微量元素 [M]. 北京: 中国计量出版社, 1991.

Study of Hg and Se Determination by Hydride Generation-Atomic Spectrometry

WANG Hua-jie¹, HU Shang-wei¹, LI Jie¹,
TANG Hou-liang¹, HUANG Yu-ming¹, SHU Wei-qun², CAO Jia²

1. School of Chemistry and Chemical Engineering, the Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environments, Southwest University, Ministry of Education, Chongqing 400715, China;

2. School of Environmental Health, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Abstract: Methods for mercury and selenium determination in fish samples based on hydride generation-atomic fluorescence and atomic absorption spectrometry were established and the effect of digestion methods on mercury and selenium determinations and correlations between mercury and selenium in fish tissues were studied. The experimental results showed that the mixture of permanganate and hydrogen peroxide was found to be suitable for mercury analysis in fish, whereas the mixture of nitric acid and perchloric acid was suitable for selenium analysis in fish. When applied to mercury and selenium analysis in various fishes, microwave digestion pretreatment gave satisfactory results. Statistically significant differences were found between mercury and selenium concentrations in the flesh of the 22 fishes sampled at different times.

Key words: mercury; selenium; hydride generation; atomic spectrometry; pretreatment

责任编辑 潘春燕