

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

陈倩倩, 刘晓东*, 孙立广*, 姜 珊, 晏 宏, 刘 毅, 罗宇涵, 黄 婧

中国科学技术大学极地环境研究室, 安徽 合肥 230026

摘 要 建立了微波萃取-原子荧光光谱法测定海鸟生物粪中的甲基汞测量方法。优化了显著影响微波萃取甲基汞的两个因素: 萃取温度和盐酸用量。最终确定了 120 °C 和 200 μL 6 mol \cdot L⁻¹ 盐酸介质为最佳萃取条件。此条件下测定的生物标准参考物质人发粉的相对标准偏差为 0.74%, 回收率大于 90%, 测定的海鸟生物粪样品相对标准偏差为 6.61%, 回收率为 90%。微波辅助萃取和原子荧光光谱的联用, 具有操作简单, 高灵敏度, 低检出限, 低成本等一系列优点, 适用于生物粪样品中痕量成分甲基汞的快速分离与分析。采用此方法分析了西沙群岛古鸟粪颗粒和现代新鲜鸟粪中甲基汞含量, 发现大量海鸟粪的输入将会对偏远的西沙群岛生态环境造成严重的汞污染。

关键词 微波萃取; 原子荧光光谱; 甲基汞; 生物粪; 西沙群岛

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)01-0249-04

引 言

汞是一种生物非必须有害元素, 广泛存在于环境中, 其毒性随着形态的不同而迥异^[1]。一般而言, 有机汞的毒性较无机汞强, 其中甲基汞由于具有亲脂性、生物累积和生物放大效应, 其毒性是有机汞中毒性最强的化合物之一, 是无机汞的几百倍^[2]。无机汞的甲基化过程是汞的生物地球化学循环中的一个重要环节^[3], 环境和生物样品中甲基汞的快速测定, 将有利于我们更好地评估样品中汞的毒性作用及其迁移转化过程与途径。

目前关于甲基汞含量测定方法有很多类, 综合起来主要是利用气相色谱或液相色谱进行各种形态汞的分离, 然后利用各种具有元素选择性的检测手段如电化学检测器(CED)、原子吸收光谱(AAS)、原子荧光光谱(AFS)、电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)等进行测定。国内对土壤和沉积物样品中的甲基汞的分析通常采用溶剂萃取分离甲基汞^[2], 然后再予以检测。由于 CEM 密闭微波消解系统萃取快速, 操作简单, 而原子荧光光谱又具有灵敏度高, 检出限低和仪器使用费用低等优势^[4], 二者连用大大提高了萃取效率和测定时间, 因而得到了广泛的应用。

我国南海西沙群岛存在大量的“鸟粪磷矿”和“富磷岩性均腐土”^[5-7]。海鸟粪的输入为岛屿生态的演化和发展提供了

必需的营养成分, 同时也带来了大量的重金属和有机污染物^[8]。因为生物累积效应和食物链放大作用, 海洋中的汞由海鸟通过生物粪的形式转移到陆地生态系统, 从而对海岛生态系统和生物链产生重要影响^[8]。目前, 甲基汞含量的测定主要侧重于水环境中沉积物、动物器官和组织等, 而对于海鸟粪类生物样品还未见有成熟的方法报道。本文拟通过优化温度和酸度两个参数, 利用 CEM 密闭微波消解系统快速萃取-原子荧光光谱定量检测法测量海鸟粪中的甲基汞。

1 分析方法与样品

1.1 甲基汞的提取方法和原理

样品中甲基汞的提取有多种方法, 如 HCl 或 KBr/H₂SO₄-CuSO₄ 酸浸取法、碱消化萃取、固相微萃取法等^[9]。酸浸取法能取得较高的回收率, 但是酸性溴化钾体系中所含离子浓度过高, 容易产生多离子干扰, 而且随后的二次萃取亦对结果影响较大^[2]。碱消化法和巯基棉富集法提取效果较差。因此, 选用 HCl 作为提取液。孙瑾等证明甲基汞在 6 mol \cdot L⁻¹ 盐酸介质中最容易被浸取出来, 随后可用有机溶剂萃取。Vazquez 等^[10, 11]指出, 影响微波萃取甲基汞的因素有: 温度、盐酸的用量、萃取时间和溶剂体积, 其中具有显著影响的因素为温度和盐酸的用量。下面主要通过条件实验确定温度和酸度对鸟粪样品中甲基汞提取所产生的影响。

收稿日期: 2010-03-02, 修订日期: 2010-06-06

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2010CB428902)和国家自然科学基金项目(40730107 和 40876096)资助

作者简介: 陈倩倩, 女, 1987 年生, 中国科学技术大学极地环境研究室硕士研究生 e-mail: chenqq@mail.ustc.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: slg@ustc.edu.cn; ycx@ustc.edu.cn

1.2 仪器与试剂

萃取用的密闭微波消解系统由美国 CEM 公司制造。微波萃取程序包括两步：首先在 800 W 功率条件下，升温至 80 °C，保温 2 min，后在 1 600 W 功率条件下，继续升温至 120 °C 保温 10 min。分析用的 AFS-930 型双道原子荧光光度计由北京吉天仪器有限公司制造，其基本参数包括：灯电流为 32 mA，光电倍增管负高压 320 V，载气流量 400 mL · min⁻¹，检测限为 0.02 μg · L⁻¹。

1 000 μg · mL⁻¹ Hg 标准储备液 GBW 08617 由国家标准物质中心提供，放置于 4 °C 冰箱中保存。所需 Hg 工作溶液在实验当天逐级稀释，现用现配。使用的 CH₂Cl₂，H₂O₂，HNO₃ 和 HCl 由国药集团化学试剂有限公司提供，其中 CH₂Cl₂ 和 H₂O₂ 为分析纯，而 HNO₃ 和 HCl 均为 MOS 级。Milli-Q 超纯水由 Millipore 纯水器制备。监控分析质量的人发标准(GBW07601a)由地球物理地球化学勘探研究院制备。

1.3 萃取和测试流程

甲基汞的萃取：称取 0.25 g 鸟粪样品于微波消解管中，加入一定量 6 mol · L⁻¹ HCl 盐酸，放置过夜后，加入 8 mL 二氯甲烷，摇匀。一定温度下利用微波消解加热 10 min，取出冷却至室温，将萃取后的混合物通过 0.45 μm 的滤膜，再将滤液于 3 000 r · min⁻¹ 转速下离心 6 min，取下层有机相于 25 mL 比色管中，此时分离出的甲基汞主要存在于有机相中，用于下一步检测。

甲基汞测定：定量移取萃取分离的有机相于比色管中，依次加入 2 mL 浓硝酸，0.5 mL 30% 过氧化氢和 0.5 mL 三价铁盐催化剂，振荡使混合溶液充分反应后静置 30 min，待气泡冒尽，放置在低于 60 °C 水浴中赶尽有机相后，沸水浴消解 30 min，最后冷却转移定容至 5 mL 比色管中，利用原子荧光光度计进行测定。

总汞测定：称取 0.1 g 试样于 150 mL 三角烧瓶中，用水打散样品，加 5 mL 浓硝酸，1 mL 催化剂铁盐，3 mL 30% 过氧化氢，放置过夜，再加 2 mL 30% 过氧化氢，在低温电热板加热，微沸，蒸发至小体积，冷却后转移至 10 mL 比色管中，用水稀释至刻度，与标准样品一起利用原子荧光光度计 (AFS-930) 测定。每批样品带两个空白样和两个国家标准样 (GBW07604 和 GBW07405) 进行质量监控。

1.4 样品采集

2008 年 3 月对西沙群岛广金岛进行科学考察期间，现场用 10 目的筛子按 1.3 cm 间隔筛分沉积样品，分取古鸟粪颗粒等生物样品。在实验室用不锈钢镊子将沉积物中的古鸟粪颗粒挑出，并在东岛采集新鲜鸟粪。选取 21 个古鸟粪样品以及 4 个新鲜鸟粪样品，在超净实验室自然风干后磨细过 140 目筛，60 °C 烘干后用于实验分析。

2 酸度和温度对甲基汞萃取效率的影响

2.1 酸度影响

取 4 份鸟粪平行样，分别加入 50, 100, 200 和 300 μL 的 6 mol · L⁻¹ HCl 溶液浸取甲基汞。结果如图 1(a) 所示。由图可知，萃取效率先随 HCl 用量的增加而升高，在盐酸用

量为 200 μL 时测量值达到最大，而超过 200 μL 后甲基汞的提取效率反而有一个明显的下降趋势。因此，可以认为在 200 μL 6 mol · L⁻¹ 盐酸条件下，甲基汞可较完全地被提取出来。

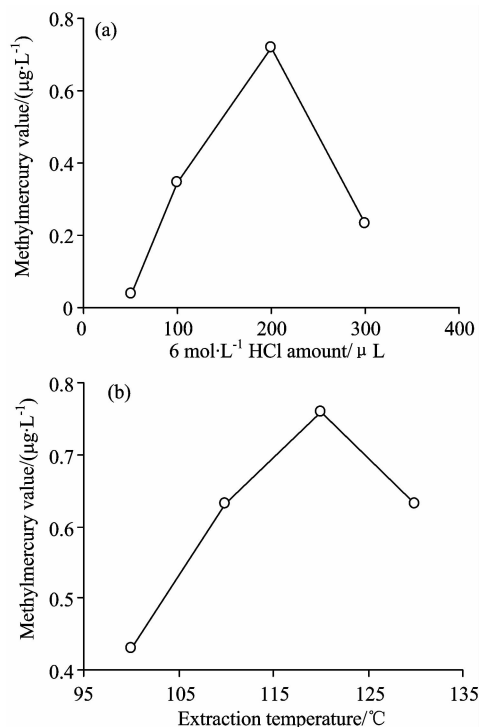


Fig. 1 Impact of amount of hydrochloric acid and extraction temperature on the extraction of methylmercury

2.2 温度对测量结果的影响

另取一组平行样品四份在 200 μL 6 mol · L⁻¹ 酸度和其他参数完全相同的条件下，选择不同的萃取温度测定其中甲基汞的含量。综合有关文献报道^[10, 11]，环境样品中甲基汞的合适萃取温度大概在 120 °C 左右，据此调宽温度梯度，分别选择 100, 110, 120 和 130 °C 进行温度实验，结果见图 1(b)。从图中可明显看出，同酸度对甲基汞提取所产生的影响类似，萃取效率先随温度的升高而增加，测量浓度由 100 °C 时的 0.43 μg · L⁻¹ 提高到 120 °C 时的 0.76 μg · L⁻¹，此后，甲基汞的提取效率开始显著下降，在 130 °C 时，AFS-930 的测量值为 0.63 μg · L⁻¹。据此可认为 120 °C 是鸟类样品中甲基汞最理想的萃取温度。

2.3 回收率和精度实验

为了检验方法的准确性，我们分别用国家标准物质人发粉(GBW07601a)和西沙鸟粪样品进行了加标回收率和精度实验。结果如表 1 和表 2 所示。人发粉和鸟粪样品的平均回收率分别为 100.1% 和 90.0%。相对标准偏差分别为 0.67% 和 5.14%，说明方法准确可行。

3 西沙鸟粪中甲基汞测定

利用本文所建立的微波萃取-原子荧光光谱法，对 21 个古鸟粪和 4 个新鲜鸟粪中总汞和甲基汞含量进行了分析。分

Table 1 Analytical results of standard reference materials($n=6$)

编号	MeHg 测量值 / $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	回收率 /%	平均值 / $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	标准 偏差	相对标准 偏差/%
人发-1	0.181	101.1			
人发-2	0.178	98.9			
人发-3	0.179	99.4			
人发-4	0.181	101.1	0.180	0.001 2	0.67
人发-5	0.179	98.9			
人发-6	0.181	101.1			

Table 2 Values of recovery and RSD ($n=7$)

编号	甲基汞测量值 / $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	回收率 /%	甲基汞平均值 / $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	标准 偏差	相对标准 偏差/%
1	20.61	86.0			
2	23.13	100.8			
3	20.20	92.8			
4	20.91	83.5	21.45	1.102 1	5.14
5	21.46	86.9			
6	22.78	91.0			
7	21.08	88.9			

析结果表明, 在古鸟粪和现代鸟粪中, 总汞含量平均为 (22.6 ± 5.45) 和 $88.3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 甲基汞平均含量分别为 (17.0 ± 3.11) 和 $(47.1 \pm 6.1) \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 甲基汞占总汞的比例分别为 $(76.7 \pm 20)\%$ 和 $(53.3 \pm 12.4)\%$ 。现代鸟粪样品中的甲基汞含量较古鸟粪高近三倍, 这与现代鸟粪样品中高含量总汞有关, 反映了现代人类源 Hg 污染对西沙群岛生态环境

的影响。以鱼类为食物的海鸟, 因鱼体内 Hg 几乎全为甲基汞, 通过食物链的进一步富集作用, 海鸟体内累积了大量的汞化合物, 尤其是甲基汞, 它们为了适应这种生物习性必须以其他方式排毒, 如换毛, 产卵和排粪等。已有研究证明, 海鸟羽毛和蛋壳中大部分的汞化合物为甲基汞, 其占总汞的比例可以达到 85% 以上^[12]。对比西沙海鸟生物粪样品与其他海鸟组织中甲基汞在总汞中的比例, 发现排便与换毛和产卵一样, 是海鸟自行排泄甲基汞的另一个重要过程。因此, 海鸟粪与羽毛、鸟蛋一样可被用作监测海洋环境汞污染的生物指示剂。这些鸟粪中的污染物可通过食物链进入当地生态系统, 被岛上生长的植物和种植的蔬菜所吸收, 从而有可能对岛上生活的居民健康造成严重威胁, 在今后的研究中有必要加强鸟粪带来的污染物对偏远岛屿生态安全的影响评估。

4 结 论

本文建立了微波萃取-原子荧光光谱法分析鸟粪生物样品中甲基汞含量的方法, 并对采自中国南海西沙群岛的古鸟粪和现代鸟粪进行了分析。实验结果表明, 反应体系在 $200 \mu\text{L } 6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸介质和萃取温度为 $120 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 鸟粪中甲基汞的提取效率最高。西沙岛屿古鸟粪和新鲜鸟粪富含甲基汞, 大量海鸟粪的输入为西沙群岛生态系统发育带来了必需的营养物质, 但同时也为偏远的岛屿生态环境带来了大量的污染物, 威胁岛上居民的身体健康。

致谢: 感谢梁有庆高工在实验过程中给予的指导和帮助! 感谢野外考察中给予大力支持和帮助的解放军官兵!

References

- [1] Winch S, Praharaj T, Fortin D, et al. Science of the Total Environment, 2008, 392: 242.
- [2] SHANG Li-hai, FENG Xin-bin, YAN Hai-yu, et al(商立海, 冯新斌, 阎海鱼, 等). Earth and Environment(地球与环境), 2004, 32: 17.
- [3] Birkett J W, Lester J N. Proceedings of the Royal Society Mathematical Physical and Engineering Sciences, 2005, 461: 1335.
- [4] LIU Qing-yang, HE Bin, HU Jing-tian, et al(刘庆阳, 何 滨, 胡敬田, 等). Chinese Journal of Analysis Laboratory(分析实验室), 2009, 28: 41.
- [5] Exploration Group of Xisha Islands of Institute of Soil Science of Chinese Academy of Sciences(中国科学院南京土壤研究所西沙群岛考察组编). The soil and Guano Phosphate of Xisha Island(我国西沙的土壤和鸟粪磷矿). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 1977. 1.
- [6] GONG Zi-tong, HUANG Biao, ZHOU Rui-rong(龚子同, 黄 标, 周瑞荣). Journal of Soil(土壤学报), 1997, 34: 10.
- [7] GONG Zi-tong, LIU Liang-wu, ZHOU Rui-rong(龚子同, 刘良梧, 周瑞荣). Quaternary Research(第四纪研究), 1996, (1): 88.
- [8] Blais J M, Macdonald R W, Mackey D, et al. Environmental Science & Technology, 2007, 41: 1075.
- [9] HE Bin, JIANG Gui-bin(何 滨, 江桂斌). Journal of Instrumental Analysis(分析测试学报), 2002, 25: 89.
- [10] Vazquez M J, Abuin M, Carro A M, et al. Chemosphere, 1999, 39: 1211.
- [11] Vazquez M J, Carro A M, Lorenzo R A, et al. Analytical Chemistry, 1997, 69: 221.
- [12] Bond A L, Diamond A W. Arch. Environ. Con. Toxicolog, 2009, 56: 286.

Analysis of Methylmercury in Biological Guano by the Optimized Atomic Fluorescence Spectrometry Coupled with Microwave Assisted Extraction

CHEN Qian-qian, LIU Xiao-dong*, SUN Li-guang*, JIANG Shan, YAN Hong, LIU Yi, LUO Yu-han, HUANG Jing
Institute of Polar Environment, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China

Abstract The analytical method for the determination of methylmercury in seabird excrements was established using atomic fluorescence spectrometry coupled with microwave-assisted extraction. In general, temperature and hydrochloric amount are the most important influencing factors on the extraction of MeHg in the samples, and the present paper optimized these two parameters. The result showed that 120 °C and 200 μL 6 mol \cdot L⁻¹ hydrochloric acid are the best extraction conditions. Under these experimental conditions, the relative standard deviation (RSD) values of reduplicative analyses on standard reference material (human hair powder) and the same seabird excrement sample were 0.74% and 6.61% respectively, and their percent recoveries were over 90%. The combination of microwave-assisted extraction and atomic fluorescence spectrometry has many advantages such as simple operation, high sensitivity, low detection limit and low cost, therefore, it is suitable for rapid separation and analysis of trace methylmercury composition in the biological guanos. Using this method, we analyzed the methylmercury contents in the ancient and fresh seabird droppings taken from Xisha Islands of South China Sea, and the result showed that the Xisha guanos were rich in methylmercury and the large input of seabird guanos will cause serious environmental contamination in the remote island ecosystem of Xisha Islands.

Keywords Microwave-assisted extraction; Atomic fluorescence spectrometry; Methylmercury; Seabird excrement; Xisha Island

(Received Mar. 2, 2010; accepted Jun. 6, 2010)

* Corresponding author