

仪器装置与实验技术

固体热解塞曼原子吸收光谱法在毛发痕量汞
分析中的应用黄汝锦¹, 庄峙厦^{1,2}, 杨妙峰¹, 张淑琼¹, 王小如^{1,2}

(1. 厦门大学 化学化工学院 化学系 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005;

2. 国家海洋局第一海洋研究所, 山东 青岛 266061)

摘要: 建立了一种采用固体热解塞曼原子吸收光谱快速测定毛发中痕量汞的方法, 样品不需要经过消解即可直接测定。在优化的实验条件下, 方法的相对标准偏差为 3.9% (峰面积) 和 7.2% (峰高), 检出限为 26 ng/g (3), 回收率为 94% ~ 103%。使用标准参考物质进行对照分析和通过与 ICP-MS 分析结果进行比较, 结果令人满意。应用本法通过对实验动物样本的检测表明, 动物毛发中汞的含量与其体内受汞毒害程度存在一定的相关性。

关键词: 固体热解; 原子吸收; 汞; 毛发

中图分类号: O657.31; O614.243 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2005)01-0093-03

Determination of Mercury in Hair by Atomic Absorption Spectrometry with Pyrolysis

HUANG Ru-jin¹, ZHUANG Zhi-xia^{1,2}, YANG Miao-fen, ZHANG Shu-qiong¹, WANG Xiao-ru^{1,2}

(1. Department of Chemistry and the Key Laboratory of Analytical Sciences of the Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Qingdao 266061, China)

Abstract: A rapid and simple method for the determination of total mercury in hair by using atomic absorption spectrometry with pyrolysis is developed. No sample digestion was needed. Under optimum conditions, the reproducibilities of the method were 3.9% for peak area and 7.2% for peak height, respectively. The detection limit was 26 ng/g (3) and the recovery was within the range of 94% ~ 103%. Several Standard Reference Materials were analyzed and the results obtained agreed well with the certified values. The performances of the method were compared with those of the inductively coupled plasma - mass spectrometry (ICP-MS) and excellent agreements were observed.

Key words: Pyrolysis; Atomic absorption spectrometry; Mercury; Hair

近年来, 重金属(如: As, Cr, Hg 等)引起的污染受到越来越广泛的重视, 其中, 汞由于具有破坏神经系统、蛋白质及核酸等危害, 尤其受到人们的关注, 已被英国环保局列为首要的污染物^[1,2]。

毛发具有排泄汞的功能, 富集在毛发中的汞有很长的生物学半衰期, 并且发汞与体内总汞含量相关, 因此, 毛发可以作为一段时期内人体内汞代谢情况的“记录丝”, 对生物体内汞蓄积情况起“监视器”的作用。由于毛发中汞含量较低, 并且基体较复杂, 因此, 对其进行准确的分析仍有一定的困难。目前已经建立并不断完善的分析方法主要有电感耦合等离子体-质谱(ICP-MS)、冷原子发生-原子吸收光谱(CV-AAS)、原子荧光(AFS)、中子活化(INAA)等^[3]。但这些方法都存在一些共同的缺点, 如: 需要经过复杂的样品前处理, 费时费力, 消解过程中易产生消解不完全和挥发而造成汞损失等。为了实现对毛发样品中痕量汞进行“快速准确”的分析, 本文建立了基于固体热解, 塞曼(Zeeman)效应的原子吸收光谱测定汞的方法, 样品不需经过消解即可以以固体进样的方式直接进行分析, 单个样品的分析时间不超过 4 min, 并且由于塞曼效应校正背景, 使分析结果准确可靠。

1 实验部分

1.1 仪器

实验中采用 RA-915 型汞元素分析仪 (Lumex LTD, Scientific-Production Company, Analytical Equipment,

收稿日期: 2004-02-13; 修回日期: 2004-11-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20175022); 福建省科技攻关计划重大招标资助项目(2003Y005)

作者简介: 黄汝锦(1979-), 男, 福建连城人, 硕士研究生; 庄峙厦, 联系人, Tel: 0592-2184510, E-mail: zzzhuang@xmu.edu.cn

St. Petersburg, Russia) 进行固体粉末样品的分析。

1.2 样品前处理

1.2.1 大鼠样品 取 30 只体重 180~240 g 的雄性大鼠, 随机分为 3 组, 每组 10 只。朱砂组以每天 10 g/kgbw (bw 为体重) 的灌胃量连续灌胃朱砂 4 周, HgCl₂ 组以每天 500 μg/kgbw 的灌胃量连续灌胃 HgCl₂ 1 周, 对照组灌胃蒸馏水 4 周。各灌胃组大鼠处死后取肾脏和背毛。肾脏用生理盐水冲洗干净, 冷冻真空干燥后研磨过筛至颗粒不大于 175 μm, 背毛按 IAEA 法清洗, 即用丙酮 超纯水 超纯水 超纯水 丙酮, 每次清洗 10 min, 室温下阴干后剪成约 1 mm 的小段。

1.2.2 人发样品 以实验室有不同触汞历史的人群为直接污染考察对象, 以长期食用水产品的人群为间接污染考察对象, 正常人群为对照组。所有采集样品均为后发际发样, 处理方法与大鼠背毛一致。

1.3 ICP-MS 的对照分析

称取样品或标准参考物质各约 0.1 g, 置于聚四氟乙烯消解罐中。加入 5 mL 浓硝酸 (65%~68%, 优级纯) 预消解过夜后, 于微波消解系统中以 15 MPa 的大气压消解 5 min, 冷却, 加入 1 mL H₂O₂ (30%, 分析纯) 以 10 MPa 的大气压消解 3 min, 冷却后转移至 50 mL 的容量瓶中定容, 然后用 Agilent 4500 ICP-MS 进行分析。实验中所用水均为 Milli-Q 超纯水。在分析中空白、样品与标准溶液均加入 50 × 10⁻⁹ (w) 的 In(115) 作为内标以减少或消除仪器的漂移、噪音以及基体效应的影响^[4]。

2 结果与讨论

2.1 标准工作曲线

本方法采用标准参考物质 (CRM7183-95) 建立工作曲线, 依次准确称取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 和 6.0 mg 标准参考物质粉末, 分别进行测定, 获得积分峰面积 A 与汞含量 m (ng) 之间的标准工作曲线方程 $A = 181.83 m + 5.933 3$, 相关系数 $r = 0.993$ 。

2.2 方法的重现性与检出限

通过对对照组大鼠背毛的 6 次平行测定 (质量 $m = 5$ mg), 对峰面积的相对标准偏差 (RSD) 为 3.9%, 而峰高的相对标准偏差为 7.2%。对空白的 11 次平行测定可得检出限 (3 σ) 为 26 ng/g。

2.3 加标回收实验

取人发及对照组大鼠背毛进行平行测定, 通过加入标准参考物质桃叶 (GBW08501) 进行回收实验 (表 1), 回收率为 94%~103%。

表 1 方法的回收率
Table 1 Recovery of the method

Sample	Hg content ($n = 5$) ($\bar{w} \pm SD$) / 10 ⁻⁶	Added m_A / ng	Found m_F / ng	Recovery R / %
Human hair # 6 (人发 # 6)	0.518 ± 0.011	0.46	0.43	94
Human hair # 13 (人发 # 13)	1.52 ± 0.03	0.23	0.22	97
Rat hair (contrast) (大鼠背毛 (对照))	0.156 ± 0.005	0.46	0.47	103

2.4 方法的准确性

实验测定了 3 种标准参考物质——桃叶 (GBW08501)、大米 (GBW08508) 及人发 (GBW09101) 中汞的含量, 见表 2。测定值与标准参考值表现出良好的一致性。

表 2 标准参考物质分析结果
Table 2 Analytical results of SRMs

Standard Reference Materials	Certified value $w / 10^{-6}$	Found ($\bar{w} \pm SD$) / 10 ⁻⁶ ($n = 3$)
Peach leaves (桃叶, GBW08501)	0.046 ± 0.006	0.047 ± 0.002
Rice (大米, GBW08508)	0.038 ± 0.006	0.038 ± 0.001
Human hair (人发, GBW09101)	2.16 ± 0.21	2.08 ± 0.08

2.5 方法对照实验

以固体热解 - 原子吸收光谱和 ICP - MS 对人发 # 3、人发 # 13 及标准参考物质桃叶 (GBW08501) 分别进行测定, 结果如表 3 所示。两种方法之间的偏差为 1.7% ~ 4.8%。

表 3 方法对照实验

Table 3 Comparison of analytical results obtained with pyrolysis - AAS and ICP - MS

Sample	Hg contents ($\bar{w} \pm SD$) / 10^{-6} ($n=6$)		Differences between methods/ %
	Pyrolysis - AAS	ICP - MS	
Peach leaves (GBW08501)	0.047 \pm 0.002	0.051 5 \pm 0.001 2	3.6
Human hair # 3 (人发 # 3)	0.271 \pm 0.005	0.262 \pm 0.008	1.7
Human hair # 13 (人发 # 13)	1.52 \pm 0.03	1.34 \pm 0.10	4.8

2.6 动物实验结果

大鼠在不同灌胃条件下肾组织与背毛中总汞含量如表 4 所示。

表 4 大鼠不同组织中总汞含量(干重)

Table 4 Total mercury concentration in different tissues of rat (dry weight)

Sample	Hg contents ($\bar{w} \pm SD$) / 10^{-6} ($n=5$)		
	Contrast	Oral intake of cinnabar	Oral intake of HgCl ₂
Kidney (肾)	0.228 \pm 0.002	4.27 \pm 0.04	31.6 \pm 0.3
Hair (背毛)	0.156 \pm 0.005	2.72 \pm 0.09	5.11 \pm 0.13

由实验结果可知, 大鼠被灌胃朱砂和 HgCl₂ 后肾、背毛中汞的含量都比对照组有显著提高, 在肾组织中分别提高至 19.3 和 143 倍, 而背毛中则分别提高至 17.4 和 32.8 倍。可见, 灌胃后汞在肾、背毛中都有不同程度的蓄积, 其中 HgCl₂ 的毒害都比朱砂显著, 这是由于 Hg²⁺ 易于与体内含巯基的蛋白结合, 而朱砂 (主要成分为 HgS) 在人工胃液、肠液中的溶出率都相当低^[4], 其对组织的毒害可能是来自于 HgCl₂ 的污染。同时, 实验结果还表明, 背毛中汞的含量总是比肾组织中低, 但是两者表现出一定的相关性, 随着肾组织中汞含量的提高, 背毛中汞含量也相应的提高。可见, 毛发中汞含量可以作为体内受汞毒害的指示剂。

2.7 人发样品分析

本实验考察了实验室有不同触汞历史的人群 (5 年以下, 5 ~ 10 年, 10 年以上) 受汞直接污染的情况, 同时考察了长期食用大量水产品人群受汞污染的情况, 其毛发中汞含量如表 5 所示。

表 5 触汞不同时间及食用大量鱼的人发中汞含量

Table 5 Mercury concentration in human hair contaminated at different periods of time and ingesting plenty of fish

Sample	Hg contents ($\bar{w} \pm SD$) / 10^{-6} ($n=5$)	Average \bar{w} / 10^{-6}				
			Contrast (对照组)	Human hair # 1 Human hair # 2	0.134 \pm 0.003 0.126 \pm 0.002	0.130
Contaminated (触汞组)	< 5 years	Human hair # 3 Human hair # 4 Human hair # 5	0.271 \pm 0.005 0.297 \pm 0.004 0.279 \pm 0.004	0.282		
		5 ~ 10 years	Human hair # 6 Human hair # 7 Human hair # 8 Human hair # 9		0.518 \pm 0.011 0.413 \pm 0.009 0.346 \pm 0.009 0.796 \pm 0.015	0.518
			> 10 years		Human hair # 10 Human hair # 11	
	Ingesting plenty of fish (食用大量鱼)			Human hair # 12 Human hair # 13	0.858 \pm 0.014 1.52 \pm 0.03	

实验结果显示, 与对照组比较, 触汞组人发中汞含量都有一定程度的增加。随着触汞时间的延长, 汞在人发中有明显的蓄积效应, 甚至高达 2.4×10^{-6} (w)。其中 # 6 由于接触汞蒸气, 其头发中汞含量明显高于同期平均水平, 这是由于汞蒸气弥散性及可溶性很强, 主要经呼吸道进入人体, 并迅速通过肺泡膜弥散而被吸收。

(下转第 99 页)

2.7 方法的适用性

对不同蜜种的几批蜂蜜样品随机抽样得 10 个样品, 在 100、250、500 ng/mL 3 个添加水平, 分别进行 10 种磺胺类药物的添加回收率实验, 所做样品空白实验(图 2a)证明, 在 10 种磺胺类药物出峰区域里, 未见干扰峰出现, 说明方法的选择性很好。

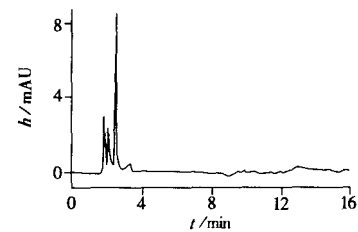


图 2 空白样品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of blank sample

3 结 论

固相萃取 - 高效液相色谱法测定蜂蜜中残留的磺胺类药物, 由于前处理使用固相萃取小柱, 可以排除蜂蜜中大部分干扰物质的影响。使用紫外检测器, 能够达到很高的灵敏度, 保证了外标法定量的准确性和重现性。与其他方法相比, 本方法具有快速、灵敏、专属的特点。

致谢: 感谢南京大学环境学院王晓蓉教授和孙成教授给予支持和帮助。

参考文献:

- [1] KISHIDA K, FURUSAWA N. Matrix solid-phase dispersion extraction and high-performance liquid chromatographic determination of residual sulfonamides in chicken[J]. *J Chromatogr, A*, 2001, 937(1-2): 49-55.
- [2] POSYNIKA K, SNEGOCCHI T. Solid phase extraction and liquid chromatography analysis of sulfonamide residues in honey[J]. *Bull Vet Inst Pulawy*, 2002, 46: 111-117.
- [3] STOEV G, MICHALOVA A. Quantitative determination of sulfonamide residues in foods of animal origin by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *J Chromatogr, A*, 2000, 871(1-2): 37-42.
- [4] TAKEDA N, AKIYAMA Y. Pre-column derivatization of sulfa drugs with fluorescamine and high-performance liquid chromatographic determination at their residual levels in meat and meat products[J]. *J Chromatogr*, 1991, 558(1): 175-180.
- [5] COMBS M T, ASHRAF-KHORASSANI M. HPLC/atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry of eight regulated sulfonamides[J]. *J of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1999, 25(3): 301-308.
- [6] HELLER D N, NGOH M A, DONOGHUE D, *et al.* Identification of incurred sulfonamide residues in eggs: methods for confirmation by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and quantitation by liquid chromatography with ultraviolet detection[J]. *J Chromatogr, B*, 2002, 774(1-2): 39-52.
- [7] MOATS W A, ROMANOWSKI R D. Multiresidue determination of lactam antibiotics in milk and tissues with the aid of high-performance liquid chromatographic fractionation for clean up[J]. *J Chromatogr, A*, 1998, 812(1-2): 237-247.
- [8] 林海丹, 谢守新, 冯德雄, 等. 动物源性食品中磺胺类药物残留的固相萃取 - 高效液相色谱法测定[J]. *分析测试学报*, 2003, 22(1): 94-96.
- [9] 王建华, 林黎明, 陈长法. 鸡肉中多种磺胺兽药残留量测定的高效液相色谱 - 电化学检测法[J]. *分析测试学报*, 2002, 21(4): 79-81.

(上接第 95 页)

由于汞的甲基化是在微生物的作用下完成的, 而甲基汞具有强烈的亲脂性, 易与蛋白质、氨基酸作用, 极易被鱼类吸收, 并通过食物链逐级富集与迁移。因此, 当人体长期摄入大量受汞污染的鱼类时, 将间接受到汞的毒害^[3,5]。实验结果亦证实长期食用大量鱼类后人发中汞的含量与对照组比较有显著提高。

参考文献:

- [1] ALLOWAY B J, AYRES D C. Chemical principles of environmental pollution[M]. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1993. 162.
- [2] LOBINSKI R, MARCZENKO Z. Wilson and Wilson's comprehensive analytical chemistry[M]. Amsterdam: Elsevier, 1996(30): 517.
- [3] COSTLEY C T, MOSSOP K F, DEAN J R, *et al.* Determination of mercury in environmental and biological samples using pyrolysis atomic absorption spectrometry with gold amalgamation[J]. *Anal Chim Acta*, 2000, 405: 179-180.
- [4] WU X H, SUN D H, ZHUANG Z X, *et al.* Analysis and leaching characteristics of mercury and arsenic in Chinese medicinal material[J]. *Anal Chim Acta*, 2002, 453: 317.
- [5] BUZINA R, STEGNAR P, BUZINA-SUBOTICANEE K, *et al.* Dietary mercury intake and human exposure in an Adriatic population[J]. *The Science of the Total Environment*, 1995, 170: 199-208.