

共振光散射法测定鱼中汞含量

李咏梅¹, 李人宇²

(1. 淮海工学院化学工程学院, 江苏连云港 222005) (2. 连云港师范高等专科学校, 江苏连云港 222006)

摘要: 采用微波消解对鱼进行前处理, 根据 Hg^{2+} 在乙酸-乙酸钠缓冲液中对 1,10-菲啉和灿烂黄所产生的共振光散射具有显著增强作用, 建立了共振光散射法测定痕量汞的新方法。考察实验影响因素, 确定最佳测定条件为 10 mL 比色管中加入 pH 5.7 乙酸-乙酸钠缓冲液 1.5 mL、 1.0×10^{-4} mol/L 1,10-菲啉溶液 1.0 mL 和 4.0×10^{-5} mol/L 灿烂黄溶液 0.8 mL, 反应温度 25 °C, 反应时间 5 min。最大共振光散射峰位于 451.6 nm, 共振散射光强度增加值与 Hg^{2+} 质量浓度在 0~50 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好, 方法的检出限为 0.54 $\mu\text{g/L}$ 。大量的共存离子不干扰测定, Cu^{2+} 和 Fe^{3+} 的干扰可加入氟化钠-硫脲混合掩蔽剂消除。将该法用于测定鱼中汞含量, 结果与冷原子吸收光谱法一致, 相对标准偏差为 1.38~2.19% ($n=5$), 平均回收率为 99.33~102.00%。该方法灵敏准确、简便快速、精密度高、选择性好, 高效环保, 适用于鱼中汞的测定。

关键词: 共振光散射; 微波消解; 汞; 1,10-菲啉; 灿烂黄; 鱼

文章编号: 1673-9078(2013)12-3026-3030

Resonance Light Scattering Method for Determination of Mercury Content in Fish

LI Yong-mei¹, LI Ren-yu²

(1. School of Chemical Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

(2. Lianyungang Teacher's College, Lianyungang 222006, China)

Abstract: The fish samples were pretreated by using microwave digestion Based on the obvious enhancing effect of Hg^{2+} in acetic acid-sodium acetate buffer solution on resonance light scattering (RLS) produced by 1,10-phenanthroline monohydrate and brilliant yellow, RLS method for determination of trace amount of mercury in fish was established. The results showed that the optimal determination conditions were: 1.5 mL acetic acid-sodium acetate buffer solution at pH 5.7, 1.0 mL 1.0×10^{-4} mol/L 1,10-phenanthroline monohydrate solution and 0.8 mL 4.0×10^{-5} mol/L brilliant yellow, reaction temperature 25 °C and reaction time 5 min. Good linear relationship was obtained between the enhanced RLS intensity and Hg^{2+} concentration in the range of 0~50 $\mu\text{g/L}$ with the maximum RLS peak at 451.6 nm. The detection limit was 0.54 $\mu\text{g/L}$. Interfering ions as Cu^{2+} and Fe^{3+} could be masked by a mixture of sodium fluoride and thiourea. The result of measured mercury content in fish was in accordance with that measured by cold vapor atomic absorption spectrometry. The relative standard deviation was 1.38~2.19% ($n=5$), and the average recovery was 99.33~102.00%. This method was sensitive, accurate, simple, rapid and environmentally friendly, which was suitable for determination of mercury in fish.

Key words: resonance light scattering; microwave digestion; mercury; 1,10-phenanthroline monohydrate; brilliant yellow; fish

近年来, 随着工农业的快速发展和环境资源的开发利用, 环境污染的程度日益严重, 食品中汞污染问题越来越受到广泛关注。环境中的汞被生物体吸收后, 通过食物链的生物放大作用进入人体, 影响人体酶的活性、蛋白质的合成、核糖核酸的合成和脑神经传递质代谢等^[1]。鱼类对汞有较强的富集作用, 若消

收稿日期: 2013-04-18

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 国家自然科学基金项目 (21101069)

作者简介: 李咏梅 (1973-), 女, 高级实验师, 研究方向为食品分析

通讯作者: 李人宇 (1972-), 男, 博士, 教授, 研究方向为食品分析

费者食用受汞污染的鱼, 健康会受到一定的影响。因此, 准确测定鱼中的汞含量具有重要意义。

目前, 汞的测定方法主要有分光光度法^[2]、荧光法^[3]、共振光散射法^[4-5]、冷原子吸收光谱法^[6-7]、原子荧光光谱法^[8]、电化学法^[9]、质谱法^[10]等。这些方法各有利弊。传统的双硫脲分光光度法试验条件苛刻, 萃取操作繁琐费时, 灵敏度较低, 选择性较差, 若结合固相萃取技术, 可简化操作, 提高灵敏度。荧光法和电化学法操作相对复杂, 灵敏度较低。冷原子吸收光谱法和原子荧光法灵敏度高, 干扰少, 但试验条件苛刻, 操作要求严格, 需克服样品前处理与分析测试

过程中汞的吸附和挥发, 否则难以保证测试的准确性和精密度。质谱法准确、选择性好, 但仪器昂贵, 运行成本较高, 需技术人员熟练操作。

共振光散射法是一种简便、快速、灵敏、经济的分析方法, 自1993年创立以来, 已广泛应用于生化分析、药物分析、环境分析等领域, 但在食品分析领域应用极少^[11-12]。实验研究发现, Hg^{2+} 在乙酸-乙酸钠缓冲液中能与1, 10-菲啰啉和灿烂黄发生反应, 使共振光散射显著增强, 国内外未见文献报道。通过试验对反应条件进行优化, 结合微波消解样品前处理技术, 建立了鱼中汞含量灵敏、准确的测定方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜鲫鱼、小黄鱼和黑鱼, 连云港市购。

Hg^{2+} 标准储备溶液(国家标准物质中心)(100 mg/L)于冰箱4℃保存, 标准工作溶液(500 μg/L)用 Hg^{2+} 标准储备溶液稀释即可; 乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 5.7): 准确称取100.0 g三水醋酸钠溶于适量水中, 加入6 mol/L冰醋酸13 mL, 稀释至500 mL, 经酸度计校正; 1.0×10^{-4} mol/L 1,10-菲啰啉溶液; 4.0×10^{-5} mol/L 灿烂黄溶液。除硝酸和过氧化氢为优级纯外, 其他试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水。

1.2 仪器与设备

970CRT 荧光分光光度计、PHS-3C 酸度计, 上海精密科学仪器有限公司; MK-II 压力自控微波溶样系统, 上海新科微波技术研究所; DHC2010 低温恒温槽, 重庆四达实验仪器有限公司; SYZ-550 石英亚沸高纯水蒸馏器, 江苏金坛市白塔石英玻仪厂。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

取新鲜鱼肉可食部分置匀浆机中制浆, 准确称取(精确至0.0001 g)匀浆1.0 g于聚四氟乙烯内胆中, 加入5 mL硝酸, 混匀后放置过夜, 再加入3 mL过氧化氢, 摇匀, 盖上内盖进行微波消解。2档3 min, 3档5 min。消解完毕得淡黄色或无色溶液。取出, 冷却至室温, 将消解液转移至烧杯, 于110℃电热板上加热直至近干, 冷却后转移至10 mL比色管中, 待测。

1.3.2 实验方法

在10 mL比色管中, 依次加入1.5 mL pH 5.7乙酸-乙酸钠缓冲液, 一定量 Hg^{2+} 标准工作溶液(或样品溶液), 1.0 mL 1.0×10^{-4} mol/L 1,10-菲啰啉溶液和0.8 mL

4.0×10^{-5} mol/L 灿烂黄溶液, 用水稀释至刻度并摇匀, 控温25℃反应5 min。取适量溶液于石英比色皿中, 置于荧光分光光度计上, 在激发光和发射光狭缝宽度均为10 nm, 灵敏度为3, $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}} = 451.6$ nm的条件下, 测量溶液的共振散射光强度(I_{RLS})。以不加 Hg^{2+} 的溶液为试剂空白, 测量其共振散射光强度(I_{RLS}^0), 计算

$$\Delta I_{\text{RLS}} = I_{\text{RLS}} - I_{\text{RLS}}^0$$

2 结果与分析

2.1 反应条件的优化

2.1.1 共振散射光谱

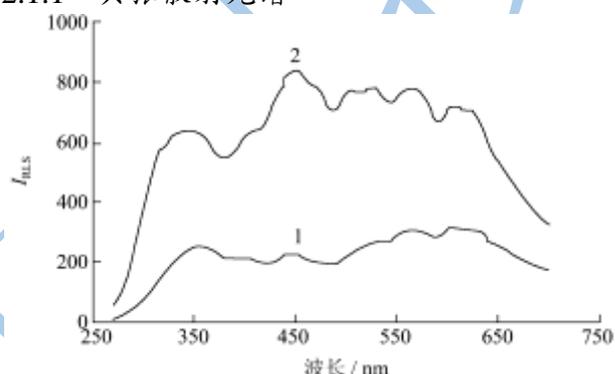


图1 共振散射光谱

Fig.1 Resonance light scattering spectra

注: 1.试剂空白; 2.离子缔合物 $\rho(\text{Hg}^{2+})=50 \mu\text{g/L}$ 。

按1.3.2节方法在 $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}} = \Delta\lambda = 0$ 条件下同步扫描获得共振散射光谱, 如图1所示。在270 nm~700 nm范围内, 试剂空白的共振光散射强度较弱(曲线1), 当 Hg^{2+} 加入其中生成离子缔合物后, 体系的共振光散射明显增强, 在451.6 nm处出现最大共振光散射峰, 且此波长处共振光散射强度增幅最大(曲线2)。本实验选择 $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}} = 451.6$ nm为测定波长。

2.1.2 酸度的影响

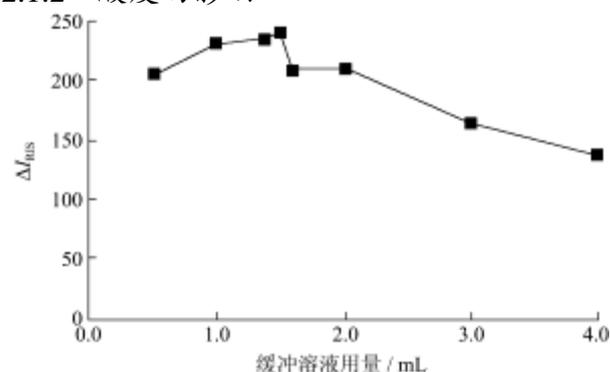


图2 缓冲液用量的影响

Fig.2 Effect of buffer solution dosage

分别以乙酸-乙酸钠(pH 3.6~5.7), 乙酸铵(pH

7.0) 和氨-氯化铵 (pH 7.5~10.5) 缓冲液作为反应介质进行实验, 结果表明, 在 pH 5.7 乙酸-乙酸钠缓冲液中反应, 体系灵敏度最高。这是由于在 pH=5.7 左右的弱酸性介质中, 灿烂黄分子中的磺酸基离解而以负一价阴离子形式存在; 当 pH 值减小时, 因磺酸基不离解而呈电中性, 不能发生离子缔合反应; 当 pH 值增大时, Hg^{2+} 因水解而降低其有效浓度, 使反应不完全。当缓冲液用量为 1.0~1.5 mL 时, ΔI_{RLS} 值最大, 如图 2 所示。当用量继续增大时, 由于乙酸根对 Hg^{2+} 与 1,10-菲啰啉和灿烂黄结合产生竞争反应, 使 ΔI_{RLS} 值减小。选用 1.5 mL pH 5.7 乙酸-乙酸钠缓冲液。

2.1.3 1,10-菲啰啉用量的影响

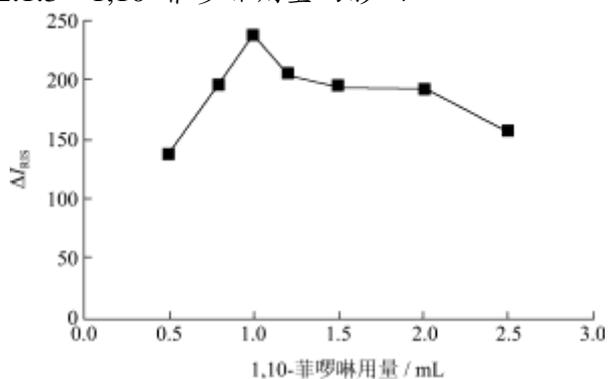


图 3 1,10-菲啰啉用量的影响

Fig.3 Effect of 1,10-phenanthroline monohydrate dosage

当 1.0×10^{-4} mol/L 1,10-菲啰啉溶液用量为 1.0 mL 时, ΔI_{RLS} 值最大, 如图 3 所示。当 1,10-菲啰啉用量较小时, Hg^{2+} 未反应完全, ΔI_{RLS} 值较小, 影响测定的准确性; 当 1,10-菲啰啉用量较大时, 可形成 $Hg(phen)_2^{2+}$ 和 $Hg(phen)_3^{2+}$ 两种络合物, 但前者的稳定性显著好于后者^[3], 因此, 需控制 1,10-菲啰啉用量, 确保形成 $Hg(phen)_2^{2+}$ 络合物, 促使其与离解的灿烂黄进一步发生离子缔合反应。选用 1.0 mL 1,10-菲啰啉溶液。

2.1.4 灿烂黄用量的影响

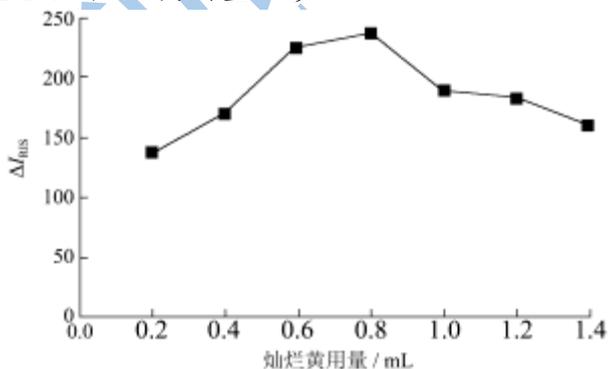


图 4 灿烂黄用量的影响

Fig.4 Effect of brilliant yellow dosage

当 4.0×10^{-5} mol/L 灿烂黄溶液用量为 0.8 mL 时,

ΔI_{RLS} 值最大, 如图 4 所示。当灿烂黄用量较小时, 反应不完全, ΔI_{RLS} 值较小; 当灿烂黄用量较大时, 试剂空白光散射强度明显增大, 使 ΔI_{RLS} 值减小。选用 0.8 mL 灿烂黄溶液。

2.1.5 反应温度的影响

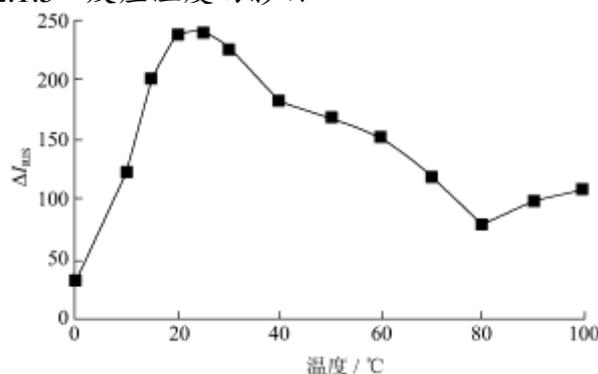


图 5 反应温度的影响

Fig.5 Effect of reaction temperature

当反应温度在 0~25 °C 时, ΔI_{RLS} 值随着温度升高而增大, 这是由于低温时反应速度很慢, 适当升温有利于加快反应速度; 当反应温度在 25 °C 时, ΔI_{RLS} 值达到最大; 当反应温度在 25~80 °C 时, ΔI_{RLS} 值随着温度升高而减小, 这是由于温度升高, 分子热运动加剧, 破坏离子缔合物的形成; 当反应温度在 80~100 °C 时, 离子缔合体系因生成沉淀而变得浑浊, 使 ΔI_{RLS} 值略增大, 如图 5 所示。故选择 25 °C 为反应温度。若室温不适宜, 需在控温条件下测定, 以保证测定的灵敏度。

2.1.6 反应时间与稳定性

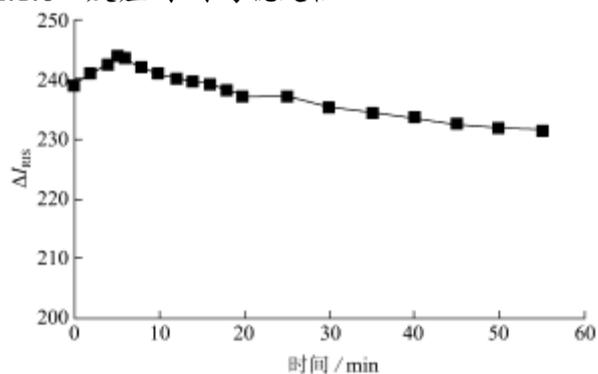


图 6 反应时间的影响

Fig.6 Effect of reaction time

室温 25 °C 下开始反应, ΔI_{RLS} 值迅速增大。当反应 5 min 时, ΔI_{RLS} 达到最大, 并保持 50 min 基本不变 (相对误差 < 5%), 如图 6 所示。由此说明反应迅速, 反应 5 min 后即可测定, 且体系稳定性良好。故选择反应时间为 5 min。

2.2 标准曲线与检出限

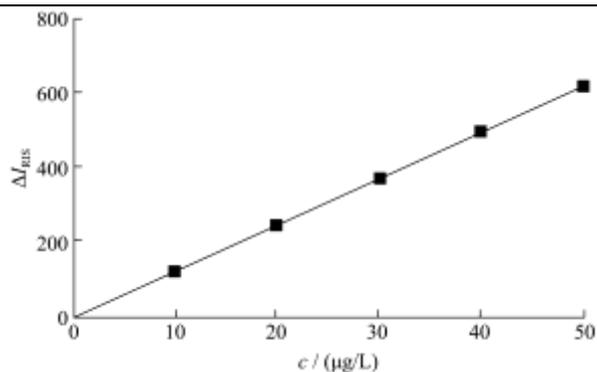


图7 标准曲线

Fig.7 Standard curve

在一组 10 mL 比色管中, 分别准确加入 500 μg/L Hg²⁺标准工作溶液 0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL, 按实验方法测量其散射光强度, 绘制标准曲线(见图 7)。结果表明, 线性范围为 0~50 μg/L, 线性回归方程为 $\Delta I_{RLS}=12.5c-4.328$, c 为 Hg²⁺质量浓度(μg/L), 相关系数 $r=0.9995$ 。重复 11 次测定试剂空白溶液的散射光强度, 求得标准偏差 $s=2.23$, 按式 $DL=3s/k$ (k : 斜率) 计算出方法检出限为 0.54 μg/L, 显著低于文献报道的共振光散射法检出限 (28 μg/L^[4]和 4.01 μg/L^[5])。

2.3 共存离子的影响

在最佳实验条件下, 对 50 μg/L Hg²⁺进行测定, 相对误差 $\leq \pm 5\%$ 范围内, 常见离子的允许倍量如下: Na⁺、K⁺、NH₄⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Ba²⁺、Zn²⁺、Al³⁺、F⁻、Cl⁻、Br⁻、I⁻、NO₃⁻、SO₃²⁻、SeO₃²⁻(2000), Co²⁺、CO₃²⁻、HCO₃⁻(250), Cu²⁺、Pb²⁺、Cd²⁺、Cr³⁺、Fe³⁺(20)。加入 1 mL 氟化钠-硫脲混合掩蔽剂(1 g/L 氟化钠和 0.5 g/L 硫脲), 可允许 500 倍量的 Cu²⁺和 Fe³⁺。结果表明, 方法有良好的选择性。

2.4 样品分析

表 1 样品中汞的测定结果 (n=5)

Table 1 Results for the determination of mercury in samples

样品	国标法		本法	
	测定值 (/10 ⁻¹ μg/g)	RSD /%	测定值 (/10 ⁻¹ μg/g)	RSD /%
鲫鱼	1.10±0.03	2.74	1.09±0.02	2.19
小黄鱼	1.36±0.03	2.35	1.35±0.03	1.92
黑鱼	1.73±0.03	1.81	1.74±0.02	1.38

按 1.3.1 方法处理样品, 将样品溶液转移至 10 mL 比色管中, 加入 1 mL 氟化钠-硫脲混合掩蔽剂, 按 1.3.2 方法测定汞含量, 并与国标法-冷原子吸收光谱法对照^[6], 结果见表 1。同时做加标回收实验, 结果见表 2。由表 1 可知, 本法与国标法测定结果一致, 且相对标

准偏差 RSD 为 1.38~2.19% ($n=5$), 表明该方法准确可靠, 精密度高。由表 2 可知, 回收率为 99.33~102.00%, 表明该方法测定结果准确。

表 2 加标回收实验结果 (n=5)

Table 2 Results for spiked recovery test

样品	加入量 (/10 ⁻¹ μg/g)	测得总量均值 (/10 ⁻¹ μg/g)	回收率 /%	RSD /%
鲫鱼	1.50	2.62	102.00	1.81
小黄鱼	1.50	2.86	100.67	1.47
黑鱼	1.50	3.23	99.33	1.01

3 结论

本实验对 Hg²⁺-1,10-菲啰啉-灿烂黄体体系反应条件进行优化, 确定了最佳条件, 采用微波消解对鱼进行前处理, 建立了共振光散射法测定鱼中的汞含量。方法灵敏准确、简便快速、精密度高、选择性好, 试剂用量少, 高效环保, 有实际应用价值。实验结果表明, 连云港市场鲫鱼、小黄鱼和黑鱼中汞含量明显低于国家规定的食品中污染物限量 (GB 2762-2012), 可放心食用。

参考文献

- [1] 柴之芳, 祝汉民. 微量元素化学概论[M]. 原子能出版社, 1994
Chai Z F, Zhu H M. An Introduction to Trace Element Chemistry [M]. Atomic Energy Press, 1994
- [2] Rajesh N, Gurulakshmanan G. Solid Phase Extraction and Spectrophotometric Determination of Mercury by Adsorption of Its Diphenylthiocarbazone Complex on An Alumina Column [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2008, 69(2): 391-395
- [3] 雷兆静, 张存政, 胡秋辉, 等. 核酸适体识别荧光法检测汞离子[J]. 分析化学, 2012, 40(12): 1827-1831
LEI Z J, ZHANG C Z, HU Q H, et al. Aptamer-Based Fluorescence Assay for Hg²⁺ Determination [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2012, 40(12): 1827-1831
- [4] Fan Y, Long Y F, Li Y F. A Sensitive Resonance Light Scattering Spectrometry of Trace Hg²⁺ with Sulfur Ion Modified Gold Nanoparticles [J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 653(2): 207-211
- [5] 王莹莹, 李华春, 谭克俊. 硫代乙酰胺共振光散射法检测环境水样中痕量汞[J]. 应用化学, 2012, 29(2): 233-237
WANG Y Y, LI H C, TAN K J. Determination of Trace Mercury with Thioacetamide in Environmental Water Samples by Resonance Light Scattering [J]. Chinese Journal of

- Applied Chemistry, 2012, 29(2): 233-237
- [6] GB/T5009.17-2003, 食品中总汞及有机汞的测定[S]
GB/T5009.17-2003, Determination of Total Mercury and Organic-Mercury in Foods [S]
- [7] Voegborlo R B, Adimado A A. A Simple Classical Wet Digestion Technique for the Determination of Total Mercury in Fish Tissue by Cold-Vapour Atomic Absorption Spectrometry in a Low Technology Environment [J]. Food Chemistry, 2010, 123(3): 936-940
- [8] Liu Q Y. Direct Determination of Mercury in White Vinegar by Matrix Assisted Photochemical Vapor Generation Atomic Fluorescence Spectrometry Detection [J]. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2010, 65(7): 587-590
- [9] Ashrafi A M, Vyřas K. Stripping Voltammetric Determination of Mercury (II) at Antimony-Coated Carbon Paste Electrode [J]. Talanta, 2011, 85(5): 2700-2702
- [10] Yin Y G, Chen M, Peng J F, et al. Dithizone-Functionalized Solid Phase Extraction-Displacement Elution-High Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for Mercury Speciation in Water Samples [J]. Talanta, 2010, 81(4-5): 1788-1792
- [11] Huang C Z, Li Y F. Resonance Light Scattering Technique Used for Biochemical and Pharmaceutical Analysis [J]. Analytica Chimica Acta, 2003, 500(1-2): 105-117
- [12] 梁金虎,唐英,张进,等.共振光散射技术的原理与研究进展 [J].重庆文理学院学报:自然科学版,2010,29(4):31-36
LIANG J H, TANG Y, ZHANG J, et al. Principle and Research Progress of Resonance Light Scattering Technology [J]. Journal of Chongqing University of Arts and Sciences: Natural Science Edition, 2010, 29(4): 31-36
- [13] 曾云鹗,张华山,陈震华.现代化学试剂手册(第四分册)无机离子显色剂[M].北京:化学工业出版社,1989
ZENG Y E, ZHANG H S, CHEN Z H. Handbook of Modern Chemical Reagents [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1989