

東海大學環境科學系碩士班

碩士論文

以 DMPS 作為複合劑及使用石墨式原子吸光法測定  
魚肉中總汞之研究

Determination of Total Mercury in Fish by Graphite-  
Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry Using  
2,3-Dimercaptopropane-1-sulfonate (DMPS) as a  
Complexing Agent



研究生：林芳儀

指導教授：郭茂松 博士

中華民國九十四年七月

## 摘要

本研究秤取 10 mg 已經乾燥的魚肉樣品粉末，放入 7 mL 鐵氟龍瓶中，先加入 500  $\mu$ L 濃硝酸，進行第一段之微波消化(85°C，10 分鐘)，再加入 100  $\mu$ L 過氧化氫，進行第二階段之微波消化(85°C，10 分鐘)，將魚肉中的總汞萃出。以氫氧化鈉溶液(1 N)調整消化混合物之 pH 值至 5 - 6，然後，加入醋酸鈉緩衝溶液(1 mmol)及複合劑(DMPS,  $1.2 \times 10^{-3}$  M 500  $\mu$ L)，與汞反應約 1 小時使生成汞-DMPS 之複合物，然後流經兩個自製串聯之 C<sub>18</sub> cartridge，使汞-DMPS 的複合物滯留於 C<sub>18</sub> cartridge 上。每個 cartridge 各用甲醇洗出複合物，並定量至 0.50 mL。取出部份(50  $\mu$ L)注入石墨式原子吸光儀(GFAAS)，測定汞的含量。

使用本方法測得三種魚肉參考標準樣品 NRC TORT-2 【certified value  $270 \pm 60$  (ng/g)】之值為  $270 \pm 4$  (ng/g)；NRC DLOT-3 【certified value  $3370 \pm 140$  (ng/g)】經稀釋 5 倍後，測得魚肉中汞的含量為  $6.74 \pm 0.04$  ng，換算為濃度後，相當於  $3370 \pm 20$  (ng/g)；NRC DORM-2 【certified value  $4640 \pm 260$  (ng/g)】經稀釋 10 倍後，測得魚肉中汞的含量為  $4.60 \pm 0.11$  ng，換算為濃度後，相當於  $4600 \pm 110$  (ng/g)，表示本方法的準確度良好，添加回收率為 96.7 - 102.2%。本方法偵測極限(MDL,  $3\sigma$ )之絕對量為 0.22 ng Hg，相當於濃度為 22 (ng/g) Hg，線性可達 1350 (ng/g)。

## Abstract

In this thesis, an amount (10 mg) of dried fish sample was placed in a 7-mL teflon microreaction vessel. Two-stages of microwave digestion (500  $\mu$ L of nitric acid and then 100  $\mu$ L of hydrogen peroxide) were performed at 85°C for 10 min. After cooling to room temperature, the pH of the acidic fish mixture was adjusted to 5 - 6 by NaOH. Appropriate amounts of 2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate (DMPS, 500  $\mu$ L) and sodium acetate buffer (pH=6.0, 1 mmol) were added to the mixture to form a mercury-DMPS complex. The complex was preconcentrated on two home-made C<sub>18</sub> cartridges in series, and then each cartridge was eluted with methanol and adjusted to 0.50 mL. A portion (50  $\mu$ L) was introduced into a graphite cuvette and then measured by GFAAS ( $\lambda$ =253.7 nm). The peak heights in absorbance were used for a quantitative analysis.

The observed values [270  $\pm$  4 (ng/g), 3370  $\pm$  20 (ng/g), and 4600  $\pm$  110 (ng/g)] of total Hg in three fish certified reference materials (NRC TORT-2, NRC DOLT-3, NRC DORM-2) were in good agreement with the certified values [270  $\pm$  60 (ng/g), 3370  $\pm$  140 (ng/g), and 4640  $\pm$  260 (ng/g) Hg, respectively]. The method detection limit (MDL, 3 $\sigma$ ) for Hg was found to be 22 (ng/g); the calibration graph was linear up to 1350 (ng/g). Recoveries of 96.7 - 102.2% were obtained by spiking known amounts of mercury to the three CRM fish samples.

# 總目錄

摘要 .....	i
總目錄 .....	iii
表目錄 .....	vii
圖目錄 .....	viii

## 第一章 前言

一、環境中的汞 .....	1
二、魚肉中汞的相關規範 .....	2
三、石墨式原子吸收光譜儀的基本原理 .....	3
1. 中空陰極燈管 .....	4
2. Zeeman 背景校正系統 .....	4
3. 基質修飾劑 .....	6
4. 合適加溫程式 .....	6
(1) 乾燥 .....	6
(2) 灰化 .....	6
(3) 原子化 .....	7
(4) 清除 .....	7
四、適當的前處理步驟 .....	7
1. 微波消化 .....	8
2. 固相萃取 .....	8
五、選用 2,3-dimercaptopropane-1- sulfonate(DMPS) 作為汞離子的複合劑 .....	9

六、研究目的與方法概述.....	11
第二章 文獻回顧	
一、魚肉中汞的分析方法.....	12
1. 魚肉中總汞的測定方法.....	12
2. 魚肉中甲基汞的測定方法.....	14
二、以石墨式原子吸收光譜法測定汞曾使用的基質修飾劑.....	19
三、DMPS 與汞形成複合物的可能結構.....	20
第三章 儀器與藥品	
一、儀器設備及材料.....	22
二、藥品與試劑.....	26
三、玻璃器皿之清洗.....	29
四、實驗步驟.....	29
1. 藥品和溶液之配製.....	29
2. 預濃縮 C <sub>18</sub> cartridge 之製備.....	31
3. 魚肉樣品之前處理、保存及 添加已知量的汞於魚肉中之配製.....	31
4. 魚肉中總汞的測定步驟.....	32
5. 檢量線之配製.....	35
(1) 直接將汞配製在甲醇中之檢量線.....	35
(2) 使用標準添加法及經微波消化的方式.....	35
6. 魚肉中汞經 C <sub>18</sub> cartridge 之固相濃縮步驟.....	36
7. 石墨式原子吸光儀之設定條件	

及魚肉樣品之定量分析 .....	40
8. 以添加回收率作為本方法可行性之評估 .....	41
第四章 結果與討論	
一、微波消化條件之建立 .....	43
1. 酸液種類之選擇 .....	43
2. 酸液用量之選擇 .....	44
3. 微波消化時間及溫度之選擇 .....	47
二、分析條件之建立 .....	52
1. 醋酸鈉緩衝溶液(pH=6.0)用量之選擇 .....	52
2. DMPS 複合劑用量之選擇 .....	53
3. 使用 C <sub>18</sub> cartridge 作為固相濃縮萃取時填充量之選擇 .....	54
三、石墨式原子吸光儀加溫程式之探討 .....	56
1. 灰化步驟之探討 .....	57
2. 原子化步驟之探討 .....	59
四、分析結果之探討 .....	61
1. 總汞之檢量線建立 .....	61
2. 準確度測試 .....	65
3. 回收率之測試 .....	68
4. 方法偵測極限之測定 .....	71
第五章 結論與建議 .....	76
參考文獻 .....	78

附錄一	自然界中汞的循環.....	87
附錄二	使用直接將汞配製在甲醇之檢量線求得魚肉標準參考樣品中 總汞之含量.....	88
附錄三	求魚肉標準參考樣品(NRC TORT-2)方法偵測極限(Method Detection Limit, MDL)值之範例.....	89

## 表目錄

表 3-1. 使用石墨式原子吸光儀測定汞之加溫程式 .....	34
表 3-2. 使用石墨式原子吸光儀測定汞之設定條件 .....	40
表 4-1. 直接將無機汞配製於甲醇中之檢量線.....	62
表 4-2. 直接將甲基汞配製在甲醇中之檢量線.....	62
表 4-3. 使用標準添加法之檢量線及由外插法求得 TORT-2 魚肉中總 汞的含量 .....	63
表 4-4. 本方法準確度測試 .....	67
表 4-5. 添加無機汞(2.70-10.0 ng)於魚肉標準參考樣品(TORT-2) 中，測試本方法之回收率 .....	69
表 4-6. 添加無機汞(34.0 ng)於魚肉標準參考樣品(DOLT-3)中，測試 本方法之回收率 .....	70
表 4-7. 添加無機汞(46.0 ng)於魚肉標準參考樣品(DORM-2)中，測試 本方法之回收率 .....	71
表 4-8. 使用本方法求得魚肉樣品中汞之 MDL 值.....	74
表 4-9. 本方法所得之 MDL 值與其他文獻值之比較 .....	75



## 圖目錄

圖 1-1. 中空陰極燈管之構造圖 .....	4
圖 1-2. 以 Zeeman 效應為基礎作為原子吸收光譜的背景校正系統..	5
圖 1-3. 2,3-Dimercaptopropane-1-sulfonate (DMPS)之結構式.....	10
圖 2-1. 改變 DMPS 的用量對回收 50 ng 總汞的情形.....	21
圖 3-1. 微量樣品鐵氟龍消化瓶 .....	23
圖 3-2. 預濃縮 C <sub>18</sub> cartridge 之製備.....	31
圖 3-3. 鐵氟龍消化瓶鎖瓶工具圖.....	34
圖 3-4. 汞-DMPS 之水溶液流經兩個串聯 C <sub>18</sub> cartridge 之圖形....	38
圖 4-1. 微波消化酸液的種類對測定魚肉中汞吸光度之影響 .....	44
圖 4-2. 硝酸用量對測定魚肉中汞吸光度之影響.....	45
圖 4-3. 過氧化氫用量對測定魚肉中汞吸光度之影響.....	47
圖 4-4. 一階段微波消化及二階段微波消化對測定魚肉中汞吸光度之 影響.....	48
圖 4-5. 微波消化溫度對測定魚肉中汞吸光度之影響.....	50
圖 4-6. 微波消化時間對測定魚肉中汞吸光度之影響.....	51
圖 4-7. 醋酸鈉緩衝溶液之用量對測定魚肉中汞吸光度之影響.....	53
圖 4-8. DMPS 複合劑用量對測定魚肉中汞吸光度之影響.....	54
圖 4-9. C <sub>18</sub> cartridge 之填充量對測定魚肉中汞吸光度之影響.....	56
圖 4-10. 灰化溫度對測定魚肉中汞吸光度之影響.....	58
圖 4-11. 灰化時間對測定魚肉中汞吸光度之影響 .....	58
圖 4-12. 原子化溫度對測定魚肉中汞吸光度之影響 .....	60
圖 4-13. 原子化時間對測定魚肉中汞吸光度之影響 .....	60
圖 4-14. (a)直接將 Hg <sup>2+</sup> 配製於甲醇中之檢量線與(b)使用標準添加法	

將  $\text{Hg}^{2+}$  加入魚肉標準參考樣品(TORT-2)中，經實驗步驟所得之檢量線 ..... 64

圖 4-15. (a)直接將  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  配製於甲醇中之檢量線與(b)使用標準添加法將  $\text{Hg}^{2+}$  加入魚肉標準參考樣品(TORT-2) 中，經實驗步驟所得之檢量線..... 64

# 第一章 前言

## 一、環境中的汞

汞，俗稱水銀，化學元素為 Hg，原子量 200.59，氧化價數有 0、+1、+2，在常溫常壓下是唯一為液態的金屬。沸點(boiling point)約為 356°C；熔點(melting point)約為-39°C；密度為 13.55 g/mL@ 20°C。蒸氣壓(vapor pressure)大約為  $1.6 \times 10^{-4}$  KPa @ 20°C<sup>[1]</sup>，即具有高揮發性。容易與一些金屬元素如銅、金等形成汞齊合金(amalgam)。

自然環境是一個開放循環系統，各種型式之汞物種會在大氣、水體、土壤、底泥及生物體之間轉換與流動，如附錄一所示<sup>[2]</sup>。在自然界中，汞的濃度不高但分佈卻很廣，如：地殼中約含有 80 ppb(ng/g)<sup>[3]</sup>；大氣中的汞，以大都市為例，約為 5 - 50 ng/m<sup>3</sup><sup>[4]</sup>；一般的淡水水域，約為 20 - 60 ng/L<sup>[5]</sup>；海水中約有 10 - 30 ng/L<sup>[6]</sup>；一般土壤中約為 10 - 300 ppb(ng/g)<sup>[5,6]</sup>。

人類很早就知道汞具有毒性。十九世紀以後，隨著工業的發展，汞的用途愈廣，生產量遽增，由於人類的活動使得大量的汞進入環境中。環境中汞的來源大致可分為自然逸散與人為排放<sup>[7]</sup>，自然逸散全球每年約有 2500 噸；人為排放約有 3500 噸<sup>[8]</sup>。自然界地殼中含有汞(約 80 ng/g)<sup>[3]</sup>，因此自然逸散主要來自含汞岩層受風化與火山地熱氣體之逸散；人為排放大致可分為人們的日常生活(如使用含汞的日光燈、水銀電池)、實驗藥品(含汞試劑或溫度計)、工廠製造產品【如鹼氯工廠、含汞之農藥、殺菌劑(fungicides)】、燃煤【因煤碳中約含有 0.1 - 0.2 µg/g Hg】<sup>[3,9,10]</sup>火力發電廠之排煙及飛灰等排至大氣中、落

到土壤中，或經由下雨，流到河川、水庫、或流至河海交叉口，或到大海中。無論是自然逸散或人為排放，最終的承受體即是大地與海洋。

一般而言汞進入人體後，將與體內細胞(-SH group)結合，而影響人們的腎臟、傷害神經系統、引起麻痺、染色體異常分裂或甚至畸形兒童<sup>[3,11]</sup>。自然界中汞大致可區分為三種物種：元素汞、無機汞和有機汞。各物種對人體毒害的程度也不同，其毒性大小依序為：有機汞 > 元素汞 > 無機汞<sup>[12]</sup>。有機汞因有較高的脂溶性，會累積在人體內，傷害中樞神經系統<sup>[3,13-17]</sup>；元素汞蒸氣在進入人體後，可穿透細胞膜，擴散到腦部的血管進而危害大腦，引起慢性神經病症狀；無機汞則危害腎臟和免疫系統<sup>[1,3,11,17,18]</sup>。

在自然界的食物鏈中，河海中的魚貝類生物會吸食底泥，可能將底泥中的無機汞和有機汞吃入。在底泥中，無機汞可被微生物細菌轉化為甲基汞<sup>[19-21]</sup>或其他的有機汞，而被累積在魚類的脂肪和肝臟<sup>[22-24]</sup>。由於甲基汞是親油脂性，進入魚類之後，可能會累積(約 100 至  $10^7$  倍)於魚體中<sup>[22-24]</sup>；或當無機汞經由魚鰓呼吸器官或到達內臟時，將被轉為有機汞<sup>[25]</sup>。在魚體中的有機汞大都以甲基汞為主，因乙基汞和苯基汞在魚肉中的濃度很低，可以忽略不計<sup>[26-28]</sup>。魚體被人們食用，無機汞及甲基汞將轉到人們體內，對人們造成傷害<sup>[29,30]</sup>。

## 二、魚肉中汞的相關規範

在未受污染的自然水體，魚肉中總汞的濃度約為 10-500 ng/g Hg，其中甲基汞的濃度通常小於 300 ng/g<sup>[31]</sup>，約佔魚肉中總汞濃度之 80 - 95%<sup>[13,31-34]</sup>。為了維護人們的健康，各國對於魚肉中汞的可許濃度都有限值。例如：美國<sup>[12,29,35]</sup>(US Food and Drug Administration)在 1974 年規定可被吃的魚肉部分(edible portion)和

海產食品(sea food)中，含有甲基汞(或總汞)的濃度應 $< 1000$  ng/g by wet weight；英國<sup>[36]</sup>、澳洲<sup>[37]</sup>、加拿大<sup>[29,31]</sup>和台灣則建議魚類和魚製品中總汞的濃度應 $< 500$  ng/g；日本<sup>[12]</sup>更建議魚肉中汞的濃度需 $\leq 300$  ng/g，才能供給人們食用。

### 三、石墨式原子吸收光譜儀(graphite-furnace atomic absorption spectrophotometry, GFAAS)的基本原理

GFAAS 主要是用來測定溶液中重金屬的濃度，通常可達 $\mu\text{g/L}$ ，即 ppb 的程度。其操作方法為將已前處理妥之樣品，取適量(10 - 50  $\mu\text{L}$ )注入石墨管內，藉著電流加熱的方式使石墨管持續升溫，經加溫程式的四個步驟：乾燥(drying，將樣品中的水分和溶劑蒸發，在本實驗中是以甲醇為溶劑)、灰化(ashing，盡量移除樣品中可被揮發的有機物質或樣品基質)、原子化(atomization，提供一較高的溫度，使待測金屬由化合物分解為原子蒸氣(atomic vapor)，測定其吸光度，作為定量之用)和清除(cleaning，提供一更高的溫度，維持數秒，將殘留在石墨管內的雜質盡量移除)之後，使用氫氣和冷卻水在 40 秒內，將石墨管冷卻至室溫，即可再注入樣品。

若樣品基質不複雜時，通常可省略消化之前處理步驟，而直接將樣品注入石墨管內分析；但若樣品基質複雜時，則常產生基質的干擾問題。基質干擾大致分為兩種類型：即光譜干擾與化學干擾。產生光譜干擾的原因有二，其一是干擾物與待測物在原子化時的吸收波長相近，使得偵測器無法解析辨別。另外是金屬化合物在灰化時，未能將樣品基質分解完全，因此，在原子化時，樣品基質隨著待測金屬之原子蒸氣一同被偵測器測得，造成正干擾。通常藉由添加適量的基質修

飾劑或合適的加溫程式來降低基質的干擾，或使用 Zeeman 背景校正器來校正其背景值。至於化學干擾，則是待測物在原子化時受到化學反應而干擾其測定值，通常可使用合適的加溫程式或是添加適當的基質修飾劑來降低干擾。

### 1. 中空陰極燈管(hollow cathode lamp, H.C.L.)

中空陰極燈管是原子吸收光譜儀測定重金屬時最常使用的光源之一，如圖 1-1 所示，此燈管包含鎢(tungsten)陽極和圓柱形的中空陰極，燈管內充滿 1 - 5 torr 之氖氣(neon)或氬氣(argon)，且陰極上鍍有待測元素之金屬，本實驗所用的汞中空陰極燈管是填充氖氣。當兩電極間施以 300 伏特的電壓時，氖氣被離子化，當電壓足夠大時，氖離子( $\text{Ne}^+$ )可以得到足夠的動能而撞擊陰極表面的金屬原子，產生電子雲，此種過程稱為濺射(sputtering)，一部份被濺射的金屬原子處於激發態，當其回到基態時放出特定波長的能量，作為測定  $\text{Hg}^0$  原子吸光儀的光源<sup>[38]</sup>。

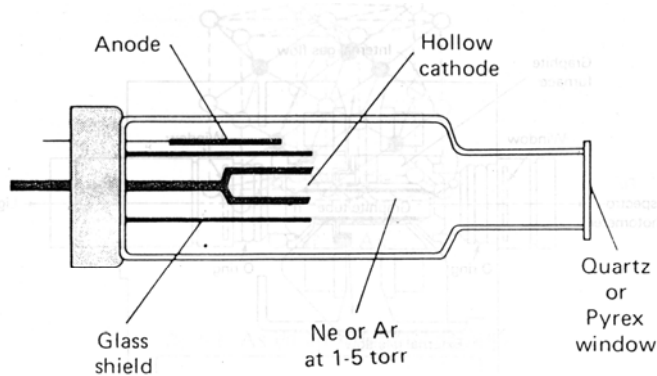


圖 1-1 中空陰極燈管之構造圖<sup>[38]</sup>

### 2. Zeeman 背景校正系統(Zeeman background correction)

當原子蒸氣暴露在一強磁場(0.1 至 1 tesla)時，原子的電子能階

將會被分裂，導致每個電子躍遷形成數個吸收光譜線，這些吸收光譜線的差異約在 0.01 nm，而其總吸光度與分裂前的原始吸收光譜線相等，這種現象稱為 Zeeman 效應(Zeeman effect)，對原子光譜而言是很常見的。在原子吸收光源的過程中，按照電子躍遷的型態有數種分裂的形式，最簡單的分裂圖形是單一態躍遷(singlet transitions)，有一中央( $\pi$ )譜線和二條等間隔的附屬 $\sigma$ 譜線，中央譜線位於原始波長上，其吸光度為 $\sigma$ 譜線的兩倍。更複雜的躍遷時，則 $\pi$ 譜線和 $\sigma$ 譜線將產生更多的分裂譜線。

Zeeman 效應應用於原子吸光儀是基於兩種不同型態的吸收峰，其中 $\pi$ 波峰只吸收與外加磁場呈平行的極化輻射，而 $\sigma$ 波峰僅吸收與外加磁場呈垂直的極化輻射，此吸光度通常很小或可忽略不計。圖 1-2 顯示利用 Zeeman 效應作為背景校正的石墨式原子吸收光譜儀，來自中空陰極燈管未極化的光源通過一旋轉的極化器(rotating polarizer)，將光源分成與磁場呈平行和垂直的兩平面極化光。當與磁場呈平行方向的光源通過時，可測得待測物及背景之吸光度；當與磁場呈垂直方向之光源通過時，僅測得背景之吸光度，兩者相減可得到樣品之實際吸光度<sup>[38,39]</sup>。

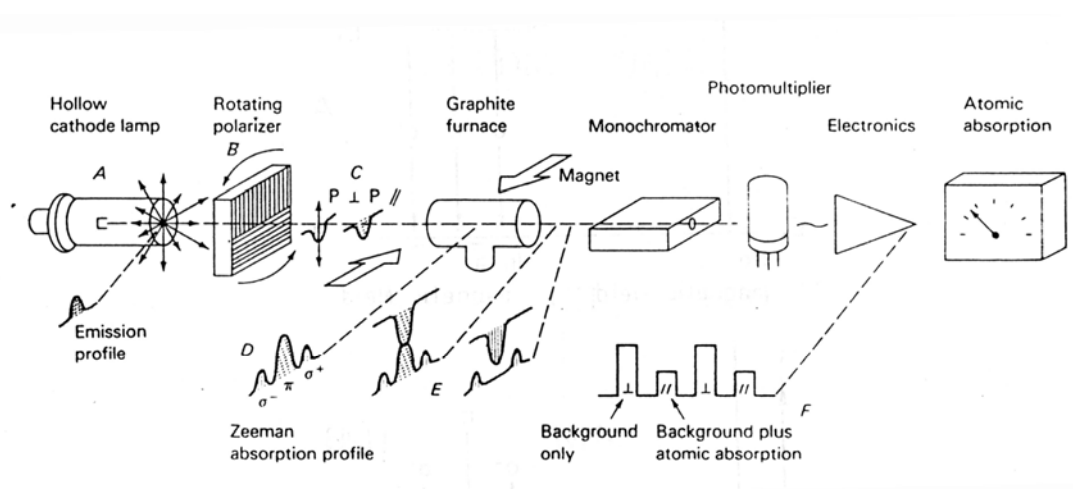


圖 1-2 以 Zeeman 效應為基礎作為原子吸收光譜的背景校正系統<sup>[39]</sup>