

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОРМ РТУТИ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

М.А. Бабенко. С.В. Темерев

Цель работы - определить методом атомной абсорбции формы ртути в биологических объектах в частности, рыбе и морепродуктах.

Выполнен анализ методом холодного пара на общее содержание ртути в 12 кислотных минерализатах биологических образцов. Экстрагирование неорганических форм ртути из образцов биоты с помощью органической фазы расслаивающейся системы вода-антипирин-сульфосалициловая кислота использовано для оценки количества органических форм ртути.

Данный метод может, рекомендован для химического мониторинга биологических объектов.

Ключевые слова: ртуть, метод «холодного пара», расслаивающейся система вода-антипирин-сульфосалициловая кислота

Ртуть – особо токсичный элемент [1]. Природные источники ртути отмечены в районах месторождений и рудопроявлений. Ртуть геохимически рассеянный элемент с низким глобальным геохимическим фоном, на который накладываются локальные аномалии рудопроявлений и техногенные источники человеческой деятельности. Вещественный анализ химических форм металлов разделяет экзогенные и эндогенные формы [2]. К экзогенным формам относят неорганические формы металлов и металлоорганические соединения, образовавшиеся ещё до поступления в живые организмы и не претерпевшие в них существенных изменений. Типичной экзогенной формой считают алкилированную ртуть. Эндогенные химические формы – это соединения, присутствующие в организме и образующиеся в результате деятельности живых клеток в результате трансформации экзогенных форм при взаимодействии с макромолекулами (протеинами, аминокислотами и другими биологическими структурами) и низкомолекулярными органическими лигандами [3]. Жизненно-важных функций ртути в организме человека и животных не обнаружено [4]. Летучесть форм ртути способствует перераспределению в компоненты экосистем от природных и техногенных источников, сорбируются на мелкодисперсных частицах и участвуют в биохимических превращениях [5].

Образованию органических соединений ртути, в том числе метилированной ртути, способствуют микроорганизмы. Метилирование может происходить в почве [6] и донных отложениях, но активнее всего

метилирование протекает в гидробионтах водных экосистем.

Внутренними факторами метилирования ртути: общая концентрация неорганической ртути, низкие рН, высокая температура, отрицательный редокс-потенциал, видовой состав микроорганизмов, содержание сульфидов и органического вещества в поровых водах донных осадков [7], трансформируется под действием природных и техногенных внешних факторов [7,8], гидролизует даже в слабокислой среде [9], обладает биологической аккумуляцией и мигрирует по трофическим цепям [10].

С токсикологической точки зрения важны следующие формы ртути: элементная ртуть Hg(0), неорганические соединения Hg(II) и органические формы (метилртуть MeHg⁺, этилртуть EtHg⁺, фенилртуть PhHg⁺) как фрагменты эндогенных форм ртути в биологических объектах [11].

Токсичные формы ртути поступают к человеку с морепродуктами и гидробионтами [12,13,14]. Рыба в целях аналитического контроля используется как биологический индикатор в оценке опасности загрязнения экосистем. Высокие уровни содержания ртути часто обнаруживаются в рыбах, обитающих в недавно созданных водохранилищах [14-16].

Химический мониторинг неорганических форм и оценка содержания органических форм ртути в биологических объектах актуален как теоретически, так и практически. Настоящее исследование посвящено экстрагированию неорганических форм ртути из биологических образцов дисульфосалицилатом антипириния и оценке

органических форм токсиканта по разности неорганических форм из общего количества ртути в кислотном минерализате точной навески параллельно приготовленного образца.

Экстрагирование ртути из твердых биологических объектов дисульфосалицилатом антипириния

Органическую фазу для экстрагирования ртути из объектов готовили при комнатной температуре. Смешивали в соотношении 2:1 2 М раствор антипириния с водным раствором сульфосалициловой кислоты такой же концентрации. Антипирин использовался «фармокопейный» (брутто-формула $C_{11}H_{12}N_2O$, температура плавления 113 °С, молярная масса 188,23 г/моль), двух водную сульфосалициловую кислоту (брутто -формула $C_7H_6O_6S \cdot 2H_2O$, молярная масса 254,21 г/моль). После расслаивания и разделения отделяли нижнюю органическую фазу (ОФ), которую в дальнейшем использовали для экстрагирования неорганических форм ртути из объектов. Объем 26,0 мл ОФ было достаточно для получения экстрактов из 12 образцов и 1-го контрольного образца. Массу навески взятых образцов без учета влажности равную = 0,5000 г предварительно измельчали блендером, затем помещали в стеклянные бюксы, добавляли 2 мл экстрагента ОФ, тщательно перемешивали стеклянной палочкой, до образования однородной массы, выдерживали в течение суток при комнатной температуре (25°С). Экстракционные образцы помещали в реакционную колбу, доводили фоновым раствором 0,1н HCl объёмом до 5,0 мл, т.к. вследствие высокой плотности фазы во избежание пенообразования и определяли в них содержание неорганических форм ртути.

Атомно – абсорбционное поглощение ртути измеряли в Т-образной кварцевой кювете с внешним индукционным нагревом однолучевым атомно-адсорбционным спектрометром ААС 1 N без корректора фона. Ток аргона использовали для подачи восстановителя 3 % NaBH₄ из склянки (Поляжаева) в количестве 1,0 мл во вторую склянку (Поляжаева) с определяемым образцом. Газ пропускали со скоростью 0,5-0,6 л/мин и регистрировали сигнал поглощения «холодного пара» ртути в виде пика с помощью регистратора ПДА-1.

Принцип действия атомно - адсорбционного спектрометра основан на измерении величины поглощения луча света, от лампы полого катода 253,7 нм, проходящего через атом-

ный пар ртути исследуемой пробы. Для превращения исследуемого вещества в атомный пар используется атоизатор. После прохождения через атомные пары исследуемой пробы луч света поступает на монохроматор, а затем на приемник, который и регистрирует интенсивность излучения от лампы полого катода, сигнал дейтериевой лампы служит для вычитания интенсивности ультрафиолетового света лампы полого катода и мешающих компонентов матрицы.

Кислотное озоление биологических образцов

Для определения общего содержания ртути в качестве образцов для исследования использовались: фитопланктон (морская капуста) и зоопланктон (рыба, морепродукты). Образцы, которые находились в замороженном виде, покупали в торгово-розничном магазине. Кислотное озоление проводилось следующим образом. На аналитических весах взвешивали навески образцов массой в пределах 0,50000 г без учета влажности. Затем, образцы помещали в термостойкие колбы и озолляли в смеси концентрированных кислот (1,0 мл H₂SO₄, 2,0 мл HNO₃, 1 мл HCl) при нагревании на водяной бане, при T=90°С. Каждый вид кислоты в указанной смеси определяют определенную роль: концентрированная серная кислота служит для растворения образцов; азотная кислота – для окисления металлов, хлороводородная - для образования хлоридных комплексов. Полученные, кислотные минерализаты переносили в мерные колбы и разбавляли до 25,0 мл 0,1 М HCl при комнатной температуре.

Приготовленные таким образом кислотные минерализаты образцов, анализировали атомно – адсорбционным методом. Аналитический сигнал получали с помощью однолучевого атомно – абсорбционного спектрометра ААSc внешним индукционным нагревом Т – образной кварцевой кюветы без корректора фона. Восстановитель 3 % NaBH₄ из первой склянки (Поляжаева) в количестве 1,0 мл подавали во вторую склянку, содержащую 10,0 мл раствора определяемого образца, с помощью газообразного аргона. Газ пропускали со скоростью 0,5-0,6 л/мин и регистрировали сигнал поглощения «холодного пара» ртути [50] в виде пика регистратором ПДА-1.

Принцип действия атомно – адсорбционного спектрометра основан на измерении величины поглощения луча света, от лампы полого катода 253,7 нм, проходящего через атомный пар ртути исследуемой пробы. Для

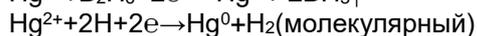
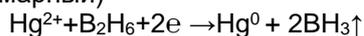
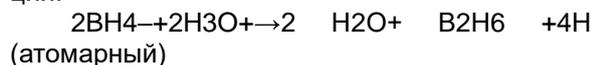
ОПРЕДЕЛЕНИЕ РТУТИ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

превращения исследуемого вещества в атомный пар используется атомизатор. После прохождения через атомные пары исследуемой пробы луч света поступает на монохроматор, а затем на приемник, который и регистрирует интенсивность излучения от лампы полого катода. Сигнал дейтериевой лампы служит для вычитания интенсивности ультрафиолетового света лампы полого катода и мешающих компонентов матрицы.

Также параллельно готовили контрольный или «холостой» аналитический образец, аналитический сигнал которого вычитали из сигнала абсорбции ртути для поправки на содержание ртути в кислотах.

В «кислотных минерализатах», приготовленных таким образом, определяли суммарное содержание ртути.

При этом протекают следующие реакции:



Боран, диборан, атомарный водород в момент выделения восстанавливают окисленные формы ртути(II) до атомных паров. В справочнике химика-технолога [17] сообщается о восстановлении ртути(II) до гидрида HgH_2 но однозначного представления о конечном продукте восстановления ртути в литературе нет.

Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика приготовлен, рабочий раствор с содержанием ртути 926,1 мкг/мл, который получен растворением 0,10000 г оксида ртути в 100,0 мл 0,1 М хлороводородной кислоты. Модельные растворы с концентрацией (табл.1) для градуировочного графика готовили из рабочего раствора непосредственно в день выполнения измерений (рис. 1).

В качестве фонового электролита применяли 0,1 М хлороводородную кислоту. В реакционную пробирку вносили необходимое количество ртути, довели реакционный объем до 10 мл раствором HCl и регистрировали кинетические кривые абсорбции ртути.

Таблица 1 – Результаты эксперимента для построения типичного градуировочного графика

№ образца	C, мкг/мл	S, см ²	h, мм
1	0,0019	0,28	2
2	0,0037	0,49	5
3	0,0056	0,71	8
4	0,0093	1,05	11
5	0,0111	1,27	13
6	0,0133	1,58	18

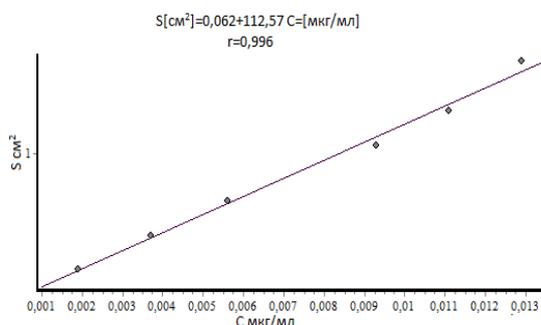


Рисунок 1 – Градуировочный график модельных растворов ртути (II)

Для построения градуировочного графика органической фазы готовили модельные растворы с сульфосалицилатом антипириния (табл. 2). Для этого брали 2,0 мл ОФ, вносили необходимое количество ртути и довели объем до 5 мл раствором децимолярной HCl . Затем строили градуировочный график в координатах площадь пика абсорбции ртути S см² от концентрации ртути в сульфосалицилате антипириния, мкг/мл (рис.2).

Таблица 2 – Результаты анализа ртути(II) ($C_{\text{исх}}=0,185$ мкг/мл) в гидратосольвате сульфосалицилата антипириния для построения градуировочного графика

№ образца	C, мкг/мл	S, см ²	h, мм
1	0,0037	0,15	2
2	0,0074	0,44	4
3	0,0111	0,63	8
4	0,0148	0,88	10
5	0,0185	1,23	14

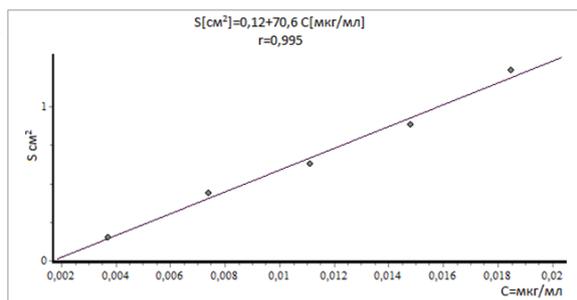


Рисунок 2 – Градуировочная зависимость модельных растворов сульфосалицилата в антипирине с добавлением Hg(II)

Методом градуировочного графика анализировали содержание ртути в биологических образцах (табл. 3), (рис. 3).

Таблица 3 – Результаты определения ртути в минерализатах (КВ) и экстрактах (Э) биологических образцов

№п/п. Образец	Содержание Hg, мкг/г		
	КМ	Э (масс.%)	ОФ
1.Горбуша (рыба)	<0,001	0,0035(6)	<0,001
2.Морская капуста	0,0026	<0,001	0,0016
3.Скумбрия (рыба)	0,0054	0,0031(57)	0,0023
4.Ряпушка (рыба)	0,047	0,035(74)	0,012
5.Кальмар	0,0087	<0,001	0,0077
6.Королевская креветка	0,029	0,0050(17)	0,024
7. Окунь (рыба)	0,012	0,0041(34)	0,008
8. Щука (рыба)	0,0056	0,0034(61)	0,0022
9. Морской сиг (рыба)	0,0034	0,0020(59)	0,0014
10.Горбуша (рыба)	0,0050	0,0013(26)	0,0037
11. Кета (рыба)	0,0041	0,0038(93)	0,0003
12. Креветка тигровая	0,0072	0,0057	0,0015
<Hg> ± ε ^а	0,01±0,003	0,006±0,002	0,006±0,001
Доля НФ <%> ± ε ^а		51 ± 20	

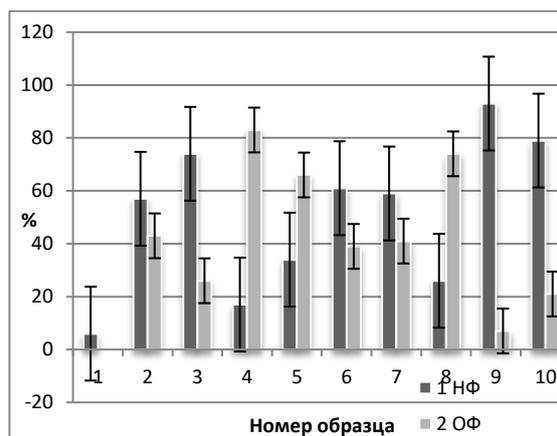


Рисунок 3 – Процентное содержание неорганических (НФ) и органических (ОФ) форм ртути в биологических объектах

Методика определения ртути (II) методом «холодного пара»

Для определения ртути в объектах различной природы часто используется специфическая особенность ртути образовывать пар в элементарном состоянии при комнатной температуре – метод «холодного пара».

Соединения Hg(II) восстанавливают до элементной ртути щелочным 3% раствором борогидрида натрия. В процессе образования летучих паров происходит одновременное отделение ртути от других элементов и компонентов, которые содержатся в анализируемом объекте, и нередко мешающих определению.

Концентрацию паров ртути определяют по резонансному абсорбционному поглощению УФ света с длиной волны 253,7 нм от лампы полого катода [18].

Из раствора соли хлорида ртути готовят рабочие растворы, методом последовательного разбавления. Строили градуировочный график в координатах площадь пика адсорбционного поглощения-концентрация ртути мкг/мл. Параллельно готовили контрольный «холостой» кислотный минерализат.

Процесс отгонки ртути(II) инертным газом аргоном из реактора в кварцевую кювету регистрируют самопишущим прибором в виде пиков, кинетических кривых атомно - адсорбционного поглощения.

Заключение

Из обзора мировой литературы по проблеме определения ртути в природных объектах следует актуальность предварительного концентрирования ртути для определения низких концентраций. Ранее запатентован [19,20] эффективный способ селективного извлечения неорганических форм ртути органической фазой расслаивающейся системы вода – антипирин – сульфосалициловая кислота. В работе извлечение реализовано на стадии пробоподготовки биологических образцов. Для оценки доли неорганических форм извлечение ртути в кислотный минерализат принято за 100%.

Методом беспламенной атомно – адсорбционной спектрометрией «холодного пара» получены аналитические сигналы поглощения ртути рабочих растворов, приготовленных из окиси ртути (рис.2), а также модельных хлоридных растворов после взаимодействия с органической фазой. Градуировочные графики для водной фазы (рис.3) и органической (рис. 4) фазы системы вода – антипирин - сульфосалициловая кислота: $S [см^2]=0,062 + 112,57 C_{Hg} = [мкг/мл]$ и $S = [см^2]=0,12 + 70,6 C_{Hg} = [мкг/мл]$ характеризуется удовлетворительной линейностью $r = 0,99$

По результатам определения форм ртути в 12 образцах биологических объектов и 12 экстрактах тех же параллельных образцов исследования выявлены статистически значимое превышение фоновых содержаний в 11 образцах из 12. Величины содержания ртути в экстрактах идентифицированы как не органические формы ртути. За вычетом содержания неорганических форм из общего количества ртути в кислотном минерализате можно оценить вклад токсичных органических форм ртути.

Данный метод может, рекомендован для химического мониторинга биологических объектов.

Библиографический список:

1. Wood J.M. Biological cycles for toxic elements in the environment//Science. - 1974. -Vol. 183. - P. 1049 - 1052.
2. Szpunar J., Łobinski R., Prange A. Hyphenated Techniques for Elemental Speciation in Biological Systems // Appl. Spectrosc. 2003. V. 57 P. 102A-112A.

3. Иваненко Н.Б. Определение Химических форм микроэлементов в биологических объектах/Н.Б. Иваненко, Н.Д. Соловьев, А.А. Иваненко, Л.Н. Москвин //Аналитика и контроль. 2012. Т. 16. № 2.

4. Оберлис Д., Харланд Б., Скальный А. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных / [Под. ред. А.В. Скального]. СПб: Наука, 2008. 542 с.

5. Кузубова Л. И. Метилртуть в окружающей среде (распространение, образование в природе, методы определения) / Л. И. Кузубова, О. В. Шуваева, Г. Н. Аношин. – Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 2000. – 82 с.

6. Selective extraction to biogeochemically relevant fractionation of inorganic mercury in sediment and soils / N. S. Bloom [et al.]//Anal. Chim. Acta. – 2003. – Vol. 479, N 2. – P. 233–248.

7. Петросян В.С. Ртуть и ее соединения в окружающей среде// Человек и среда его обитания. М.: Мир, 2003. С. 282–290.

8. Zhang L., Wright L.P., Blanchard P. A review of current knowledge concerning dry deposition of atmospheric mercury // Atmos. Environ. 2009. V. 43. P. 5853-5864.

9. Линник П.Н. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах / П.Н.Линник, Б.И. Нибиванец.-Л.: Гидрометеоиздат, 1986.-С. 156-166.

10. Кондратьева Л.М. Влияние крупных притоков на содержание тяжелых металлов в воде и донных отложениях реки амур. /Кондратьева Л.М., Канцыбер В.С., Зазулина В.Е., Боковенко Л.С. // Тихоокеанская геология. 2006. Т. 25. № 6. С. 103-114.

11. Michalke V., Halbach S., Nischwitz V. JEM spotlight: metals speciation related to neurotoxicity in humans // J. Environ. Monit. 2009. V. 11. P. 939-954.

12. Коваль П.В., Калмычков Г.В., Лавров С.М. Антропогенная компонента и баланс ртути в экосистеме Братского водохранилища // Доклады Академии наук РАН. – 2003. – Т. 388.-С.1-3. 10.

13. Пастухов М.В., Гребенщикова В.И., Шелвелёва Н.Г. Оценка накопления ртути разными группами планктона Братского водохранилища // Проблемы геохимии эндогенных процессов в окружающей среде. – Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН. – 2007. – Т. 1. – С.214-218.

14. Савченков М.Ф. Ртуть в окружающей среде и ее влияние на здоровье / В.С. Рукавишников, Н.В. Ефимова // Сибирский медицинский журнал, 2010, № 8.

15. Рукавишников В.С., Ефимова Н.В., Коваль П.В. и др. Медико-биологическое проблемы ртутного загрязнения территории Иркутской области // Бюл. Восточно-Сибирского научного центра СО РАН. – 1998. – №2(8).

16. Mercury(II) and methyl mercury determinations in water and fish samples by using solid phase extraction and cold vapour atomic absorption spectrometry combination / M. Tuzen et [al.] // Food Chem. Toxicol. 2009. V. 47. P. 1648-1652.

17.Лидин Р. А., Молочко В.А., Андреева Л.Л. Химические свойства неорганических веществ: Учеб.пособие для вузов. 2-е изд., испр. — М.: Химия, 1997 — 480 с.

18.Лапердина Т.Г. Определение ртути в природных водах /Т.Г.Лапердина//Новосибирск: Наука, 2000. -222с.

19.Темерев С.В., Архипов И.А., Пузанов А.В. Неорганические формы ртути и селена в почвах и растениях в области влияния Акштанского рудника // Химия в интересах устойчивого развития. 2009. Т. 17. С. 305-311.

20.С. В. Темерев, И. А. Архипов, А. В. Пузанов. Неорганические формы ртути и селена в почвах и растениях в области влияния Акташского рудника// Химия в интересах устойчивого развития, 2009. - Т. 17, № 3. – С. 305-311.

Temerev S. V., Head. Chair of "Technosphere Security and Analytical Chemistry" department, Doctor of chemical sciences, associate professor. Altai State University (Lenina 61, Barnaul, 656049, e-mail: temerev@mail.ru)

Babenko M. A., Master of " Pedagogy " department, Altai State University (Lenina 61, Barnaul, 656049, e-mail: mari6ka602@mail.ru)