

Phân tích methyl thủy ngân và thủy ngân tổng trong thủy hải sản bằng kỹ thuật dòng chảy kết hợp phổ hấp thụ nguyên tử hóa hơi lạnh

Nguyễn Văn Đông, Lê Thị Huỳnh Mai, Huỳnh Vinh Đức, Hồ Thị Hồng Diễm,
Nguyễn Thanh Phương

Tóm tắt – Methyl thủy ngân (MeHg) và thủy ngân tổng số trong các loại hải sản được xác định bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử hóa hơi lạnh dùng chất khử NaBH_4 . Methyl thủy ngân được ly trích bằng HBr 47% và hợp chất MeHgBr được chiết định lượng vào toluene. MeHgBr trong pha toluene được chiết ngược vào pha nước chứa L-cysteine. Phức MeHg-L-cysteine và các hợp chất hữu cơ trong pha nước được oxy hóa bằng $\text{KMnO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$ để chuyển thành Hg^{2+} . Mẫu hải sản được vô cơ hóa trực tiếp trong $\text{HNO}_3:\text{HCl}$ (1:3) thành Hg^{2+} cho phân tích thủy ngân tổng số. Giới hạn phát hiện và giới hạn xác định của phương pháp phân tích đối với MeHg lần lượt là 0,69 ng/g và 1,3 ng/g (tính theo Hg). Hiệu suất thu hồi của quy trình phân tích đối với MeHg và Hg tổng số lần lượt là 96,5–105% và 93–101% trong khoảng nồng độ 2–700 ng/g Hg. Hàm lượng MeHg và Hg tổng số trong các loại hải sản thông dụng là 1,2 – 483,5 ng/g và 4,0–663,4 ng/g.

Từ khóa – MeHg, tổng Hg, thủy hải sản

1 MỞ ĐẦU

Từ xa xưa tính độc hại của thủy ngân đã được con người biết đến nhưng thủy ngân vẫn được sử dụng nhiều trong đời sống và sản xuất. Các dạng thủy ngân đều gây ra ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người và chất lượng của hệ sinh thái. Hiện nay, thông tin về nguyên dạng của các hợp chất thủy ngân trong môi trường nói chung và trong cá nói riêng đang là mối quan tâm lớn của cả thế giới vì khả năng tích lũy sinh học qua chuỗi thức ăn và độc tính của các hợp chất này với các mức độ khác nhau gây ra cho động vật và cả con người [1].

Ngày nhận bản thảo: 10-01-2017, ngày chấp nhận đăng: 30-9-2017, ngày đăng: 10-08-2018

Tác giả: Nguyễn Văn Đông, Lê Thị Huỳnh Mai, Huỳnh Vinh Đức, Hồ Thị Hồng Diễm, Nguyễn Thanh Phương - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM (winternguyenvan@yahoo.com)

Thông qua chuỗi thức ăn các hợp chất thủy ngân được tích lũy vào sinh vật, đặc biệt là cá, khi con người ăn cá phơi nhiễm thủy ngân, các hợp chất thủy ngân nhất là MeHg sẽ tác động tiêu cực đến sức khỏe gây ra hậu quả nghiêm trọng.

Hiện nay, việc xác định hàm lượng kim loại nặng trong thực phẩm vẫn đang là một trong những mối quan tâm trên toàn cầu, trong đó vấn đề định danh và định lượng các hợp chất của thủy ngân được đặc biệt quan tâm. Trước đây các tiêu chuẩn đánh giá thủy ngân trong thực phẩm của Việt Nam chỉ dựa trên chỉ tiêu thủy ngân tổng số, gần đây các nguyên dạng thủy ngân được quan tâm nhiều hơn, cụ thể là hàm lượng methyl thủy ngân trong thực phẩm vì đây là dạng có độc tính cao nhất. Để đáp ứng được yêu cầu này, các phòng thí nghiệm phân tích đã và đang phát triển các phương pháp phân tích và thiết bị phân tích nguyên dạng Hg chủ yếu dựa vào sắc ký lỏng (LC) ghép nối khối phổ ghép cặp cảm ứng cao tần (ICP-MS). Việc phân tích nguyên dạng các hợp chất Hg dựa trên hệ LC-ICPMS tương đối phức tạp và chi phí mua sắm/vận hành thiết bị rất cao. Trong thực tế Hg trong thực phẩm tồn tại chủ yếu ở 2 dạng: methyl thủy ngân và thủy ngân vô cơ [2] vì vậy gần đây EU chấp nhận phương pháp phân tích đơn giản hơn: phân tích Hg tổng số và riêng MeHg trong đó MeHg được tách khỏi các hợp chất Hg vô cơ bằng phương pháp không sắc ký và phân tích bằng đầu dò đủ nhạy và chọn lọc.

Hiện nay các thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng kỹ thuật hóa hơi lạnh (CV-AAS) rất phổ biến và có độ nhạy với Hg rất cao đủ đáp ứng yêu cầu phân tích Hg trong thủy sản. Do đó, việc nghiên cứu quy trình phân tích riêng rẽ MeHg và tổng Hg trong thủy sản trên thiết bị AAS là cần thiết. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành kiểm định và hiệu lực hóa phương pháp phân tích

T-Hg và MeHg trong thủy sản theo phương pháp CV-AAS.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Hóa chất

Tất cả dung dịch được chuẩn bị trong nước cất một lần. HNO_3 (65–67%), HBr (47%), HCl (37%), toluene, MeHgCl , Hg^{2+} 1000 ppm, KMnO_4 , CH_3COONa , Na_2SO_4 hạng tinh khiết phân tích, L-cysteine, NaBH_4 được mua từ hãng Merck, Đức.

Thiết bị

Máy phân tích thủy ngân chuyên dụng FIMS 100 (Perkin Elmer) kèm theo bộ autosample S10 tự động lấy mẫu, loop lấy mẫu dung tích 500 μL . Cân phân tích (Mettler Toledo, Switzerland) chính xác đến 0,1 mg, bể điều nhiệt (Lauda, Germany), máy vortex (WTW, Germany), máy ly tâm và các dụng cụ thí nghiệm thông thường khác. Máy FIMS 100 vận hành dùng khí mang Ar lưu lượng 100 mL/phút, bơm nhu động 120 vòng/phút.

Lấy mẫu và xử lý sơ bộ

Mẫu hải sản được mua ngoài chợ hoặc siêu thị. Đối với các cá thể có kích thước lớn thì chọn mua phần thịt ăn được khoảng 100–200 g. Đối với các cá thể nhỏ thì chọn nhiều cá thể sao cho tổng khối lượng khoảng 300–400 g.

Dao, thớt và cối xay đều được rửa bằng xà phòng, tráng rửa bằng HNO_3 10 % sau đó rửa lại bằng nước thường và nước cất trước và sau mỗi lần sử dụng.

Mẫu cá được rửa sạch, bỏ đi phần nội tạng, xương và da, chỉ giữ lại phần thịt cho vào cối xay thịt xay nhuyễn. Mẫu sau khi xay cho vào túi zipper, ký hiệu tên cho từng mẫu và bảo quản trong tủ đông. Mẫu được rã đông tự nhiên cho đến nhiệt độ phòng trước khi thực hiện xử lý mẫu.

Xử lý mẫu xác định Hg tổng số

Khoảng 1 g ($\pm 0,0001$ g) mẫu thủy sản tươi đã đông nhất được cân vào ống thủy tinh 10 mL có nắp vận (loại ống dùng phân tích COD), thêm 2 mL $\text{HNO}_3:\text{HCl}$ (1:3), đậy nắp, để yên 30 phút. Khi phần cá tan hoàn toàn, dịch mẫu được đun trong lò COD ở 120 °C trong 2 giờ. Mẫu được để nguội và phần lipid được tách bỏ bằng cách chiết 3 lần mỗi lần với 2 mL hexane. Pha nước được định mức 50 mL bằng nước cất. Dung dịch này sử dụng để xác định tổng Hg trên thiết bị FI-CV-AAS.

Xử lý mẫu xác định MeHg trong mẫu thủy sản

Khoảng 0,7–0,8 g ($\pm 0,0001$ g) mẫu thủy sản tươi đã đông nhất được cho vào ống ly tâm polypropylene 50 mL. Sau khi thêm 10 mL HBr (48 %), hỗn hợp được lắc xoáy (vortex) cho đến

khi mẫu tan hoàn toàn (1–5 phút). Dịch mẫu được vortex 10 phút với 20 mL toluene rồi ly tâm khoảng 5 phút. Pha toluene được chuyển sang ống ly tâm khác có sẵn 6 mL L-cysteine 1%. Phần dịch cả trong HBr được tiếp tục chiết 2 lần nữa, mỗi lần với 15 mL toluene và pha toluene thu được từ các lần chiết được gộp chung. MeHg trong pha toluene được vortex với L-cysteine trong 5 phút và được ly tâm. Pha L-cystein được chuyển vào vial thủy tinh 40 mL và được thêm 1 mL H_2SO_4 đặc, 4 mL KMnO_4 5% và 2 mL HCl 1%. Hỗn hợp này được đun cách thủy trong khoảng 2 h ở 95°C. Kết tủa đen MnO_2 được hòa tan hoàn toàn bằng một lượng tối thiểu (2 giọt) hydroxylamine 10% trong khoảng 5 phút.

3 KẾT QUẢ- THẢO LUẬN

Xác định MeHg- tối ưu hóa quá trình chiết lỏng-lỏng

Tỷ lệ thể tích pha nước: pha hữu cơ

Tối ưu tỷ lệ thể tích pha nước/toluene và số lần chiết được thực hiện trên dung dịch MeHgCl tiêu chuẩn 2,5 mL chuẩn MeHgCl 100 ppb + 10 mL HBr 47% và một thể tích toluene nhất định được lấy vào vial thủy tinh 40 mL có nắp lót septum silicon/PTFE. Tỷ lệ thể tích HBr: toluene và số lần chiết như sau :

- V1: HBr : toluene = 2:1 và 4 lần chiết (mỗi lần 5 mL toluene, tổng thể tích toluene: 20 mL)
- V2: HBr : toluene = 1:1, và 3 lần chiết (mỗi lần 10 mL toluene, tổng thể tích toluene: 30 mL)
- V3: HBr : toluene = 1:2, và 2 lần chiết (mỗi lần 20 mL toluene, tổng thể tích toluene: 40 mL)

Kết quả cho thấy MeHg được chiết hiệu quả sang toluene với tỷ lệ thể tích mẫu/toluene 1:2 sau 2 lần chiết (97,1 $\pm$ 1,6 %, n=4, P=95 %) so với tỷ lệ thể tích mẫu/toluene 1:1 sau 3 lần chiết (79,6 $\pm$ 2,7 %, n=4, P=95 %) và tỷ lệ thể tích mẫu/toluene 2:1 sau 4 lần chiết (68,1 $\pm$ 6,8 %, n=4, P=95 %). Thể tích toluene nhỏ (5 mL hoặc 10 mL so với 20 mL) và số lần chiết lặp nhiều hơn (3 hoặc 4 so với 2) tỏ ra kém hiệu quả về hiệu suất chiết cũng như thời gian chiết mặc dù dùng ít toluene hơn.

Tính chọn lọc của quá trình chiết MeHg

Hg trong cá tồn tại ở cả hai dạng: Hg vô cơ và MeHg đều ở dạng liên kết khá chặt với các protein/peptide. Việc xác định riêng rẽ MeHg chỉ có giá trị khi quá trình chiết MeHg là chọn lọc tức là Hg^{2+} không bị chiết sang toluene cùng với MeHg. Khi có mặt HBr nồng độ cao, các hợp chất Hg vô cơ và MeHg hình thành các phức $\text{HgBr}_i^{(2-i)+}$ (i=1÷4) hay MeHgBr . MeHgBr ít phân cực nên dễ

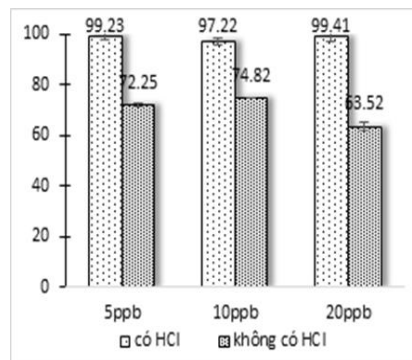
dàng chiết qua toluene trong khi các phức $\text{HgBr}_i^{(2-i)+}$ phân cực cao nên khó chiết vào toluene. Kết quả khảo sát hiệu quả quá trình chiết các hợp chất Hg^{2+} , MeHgCl và hỗn hợp $\text{Hg}^{2+} + \text{MeHgCl}$ ở các nồng độ khác nhau (Bảng 1) từ pha nước cho thấy Hg^{2+} bị chiết sang toluene rất nhỏ (<3 %) trong khi đó MeHg được chiết sang toluene khá hoàn toàn (>97 %). Xu hướng tương tự cũng xảy ra trong nền mẫu thực (cá) cho thấy độ tin cậy của phương pháp chiết chọn lọc trong việc xác định MeHg trong mẫu cá hay mẫu thủy hải sản nói chung (Bảng 1).

Bảng 1. Khả năng chiết chọn lọc MeHg khỏi Hg^{2+} từ pha nước

Khoảng nồng độ	Hợp chất trong pha nước	% tìm thấy (tính theo Hg) sau khi chiết			
		Nền nước cất		Nền mẫu cá	
		Pha nước	Pha hữu cơ	Pha nước	Pha hữu cơ
10ppb	Hg^{2+}	94,8±0,61	-	89,3±1,3	-
	MeHg	-	98,5±3,2	-	97,6±0,89
	$\text{Hg}^{2+} + \text{MeHg}$	91,8±1,63	102,9±1,2	91,8±1,7	90,4±0,79
100ppb	Hg^{2+}	98,3±0,23	1,7±2,1	98,3±1,1	2,9±1,5
	MeHg	2,0±0,61	98,0±1,1	3,0±2,0	98,2±1,7
	$\text{Hg}^{2+} + \text{MeHg}$	98,2±2,7	96,2±1,8	101,8±0,88	102,1±0,91
1000ppb	Hg^{2+}	101,8±1,9	0,29±0,91	101,5±1,1	0,56±1,1
	MeHg	0,56±2,0	97,3±1,6	0,26±0,72	101,3±1,7
	$\text{Hg}^{2+} + \text{MeHg}$	94,4±0,68	91,7±1,5	95,4±0,24	96,8±0,59

Quá trình chuyển hóa phức MeHg với L-cysteine thành Hg^{2+}

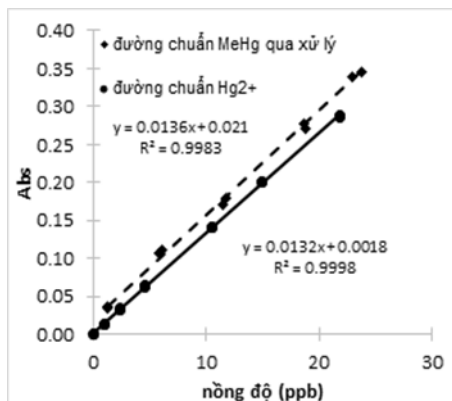
Hg^{2+} có thể bị mất trong quá trình vô cơ hóa mẫu nếu môi trường oxy hóa không đủ mạnh do phản ứng khử cục bộ giữa Hg^{2+} với một số chất khử trong mẫu mặc dù xét về mặt tổng thể, môi trường phản ứng vẫn có tính oxy hóa. Để khắc phục tình trạng này, trước khi đun cách thủy cần có mặt ion Cl^- để giữ Hg^{2+} ở dạng phức bền HgCl_2 ($\beta=10^{17.33}$), biện pháp này được chứng tỏ là có hiệu quả (Hình 1) trong việc vô cơ hóa MeHg trong dịch chiết với L-cysteine.



Hình 1. Hiệu suất thu hồi MeHg^+ tính theo Hg khi không có ion Cl^- và có 2 mL HCl 1 %

Đường chuẩn

Đối tượng phân tích trong nghiên cứu là MeHg , trong khi đó đường chuẩn phân tích bằng phương pháp CV-AAS lại dựa vào mối tương quan giữa nồng độ Hg^{2+} và độ hấp thụ nên độ đúng của kết quả phân tích chỉ có thể có được nếu chuyển hóa MeHg thành Hg^{2+} là ổn định và định lượng. Điều này được chứng minh qua việc xử lý các dung dịch chuẩn MeHg có nồng độ khác nhau theo cùng quy trình như xử lý mẫu và xác lập tương quan nồng độ và độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn này. Đường chuẩn dựng từ Hg^{2+} pha trực tiếp và đường chuẩn dựng từ MeHgCl có qua xử lý mẫu lần lượt là $A_{\text{Hg}} = (0,01318 \pm 0,00010)C_{\text{Hg}} + (0,0018 \pm 0,0011)$ và $A_{\text{Hg}} = (0,01374 \pm 0,00046)C_{\text{Hg}} + (0,0210 \pm 0,0067)$. So sánh thống kê cho thấy hệ số góc của hai đường chuẩn này là khác biệt nhau ($p=0,000011$; 95 %), tuy nhiên sự chênh lệch nhau về độ nhạy là 4,2 % ở mức chấp nhận ở hàm lượng ppb. Độ tuyến tính của đường chuẩn MeHg qua xử lý mẫu ($R^2 = 0,9983$) kém hơn đường chuẩn Hg^{2+} ($R^2 = 0,9998$) là do bất ổn của quá trình xử lý mẫu. Tung độ góc của đường chuẩn qua xử lý thể hiện nhiễm bẩn Hg từ hóa chất và thuốc thử. Nhiễm bẩn do hóa chất được thể hiện qua tung độ góc của đường chuẩn MeHg qua xử lý là tương đối nhỏ và dễ dàng khắc phục qua việc bù trừ mẫu trắng. Như vậy từ đây có thể dùng đường chuẩn Hg^{2+} để định lượng MeHg .

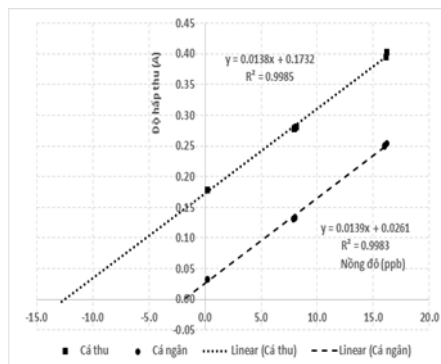
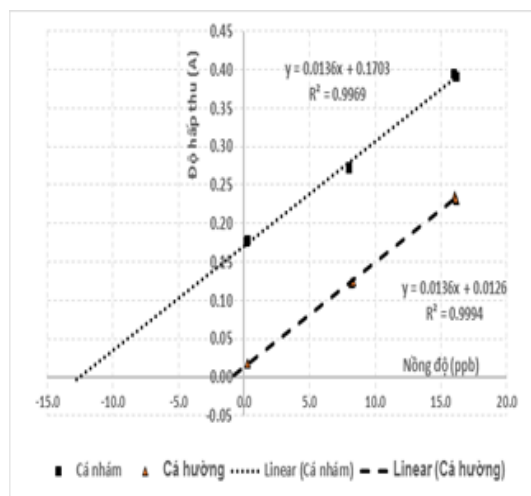


Hình 2. Đường chuẩn xây dựng từ Hg²⁺ và từ MeHg qua xử lý

Đánh giá ảnh hưởng của nền mẫu

Việc chiết MeHg từ mẫu thủy hải sản có nền phức tạp sang toluene giúp cô lập khá chọn lọc các thành phần có tính phân cực thấp từ nền mẫu rất phức tạp gồm protein/peptide, béo... của mẫu thủy sản phân tán trong pha nước. Sau đó, việc tiếp tục chiết ngược pha toluene bằng dung dịch L-cysteine giúp chiết chọn lọc MeHg dưới dạng phức ion lưỡng cực $\text{CH}_3\text{HgS}-\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_3)^+\text{COO}^-$ vào pha nước, các hợp chất kém phân cực nằm lại pha toluene. Tuy vậy việc đánh giá ảnh hưởng của nền mẫu đến độ đúng của kết quả phân tích MeHg vẫn cần tiến hành.

Trong nghiên cứu này, nồng độ MeHg gần đúng trong các mẫu cá được xác định bằng phương pháp đường chuẩn, tiếp theo việc thêm chuẩn được thực hiện đường để kiểm tra ảnh hưởng của nền mẫu.



Hình 3 A. Thêm chuẩn MeHg trên mẫu cá nhám và cá hương, B. thêm chuẩn T-Hg của mẫu cá thu và cá ngừ

Thực hiện thêm chuẩn MeHg trên 2 nền cá có nồng độ cao và nồng độ thấp (cá nhám và cá hương) và Hg²⁺ trên 2 nền cá thu và cá ngừ cho thấy đường thêm chuẩn xây dựng có khoảng tuyến tính tương đối dài tương tự như đường chuẩn, hệ số góc của các đường thêm chuẩn dao động trong khoảng 0,0136–0,0139 xấp xỉ với hệ số góc của các đường chuẩn (0,0132 và 0,0136) (Hình 2 và Hình 3). Nồng độ C_x xác định từ đường chuẩn và đường thêm chuẩn có độ chệch đều <3.0 % (ở khoảng nồng độ ppb), điều này cho thấy rằng nền mẫu không ảnh hưởng đến độ chính xác của kết quả đo.

Giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng

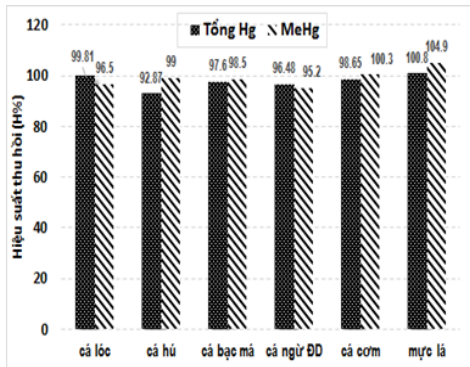
Giới hạn phát hiện của thiết bị (IDL) được ước lượng dựa vào 11 dung dịch chuẩn ở nồng độ thấp sao cho tỷ lệ tín hiệu/nhiều nền S/N=3. Giới hạn định lượng của thiết bị được tính dựa trên S/N=10. Hệ FIMS (Perkin Elmer) cho các giá trị IDL và IQL là 0,17 ppb và 0,56 tương ứng.

Giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL) là nồng độ tương ứng với 3 lần độ lệch chuẩn hàm lượng MeHg trong mẫu hải sản ở nồng độ thấp. Giới hạn định lượng của phương pháp (MQL) là nồng độ tương ứng với 10 lần độ lệch chuẩn. Quy trình phân tích MeHg cho các giá trị MDL và MQL là 0,69 ppb và 1,3 ppb. MDL bao gồm cả mức độ nhiễm bản các hợp chất Hg của cả quy trình (dung cụ, hóa chất, cách xử lý mẫu....). Kết quả trên ta thấy giá trị SD rất thấp (0,088) so với giá trị trung bình của mẫu trắng (0,43 ppb) chứng tỏ quy trình chiết tách MeHg khá ổn định mặc dù giá trị blank hơi cao có thể do nhiễm bản từ hóa chất hoặc trong quá trình thực nghiệm.

Hiệu suất thu hồi

Thí nghiệm được thực hiện trên các nền mẫu thủy hải sản đại diện dựa trên một số đặc tính như nhiều thịt (cá lóc, cá ngừ,...), nhiều mỡ (cá hú, cá

hồi,...), cá được bảo quản lâu ngày (cá nục, bạc má,...), kích thước lớn (cá ngừ đại dương, cá thu,...), cá kích thước nhỏ khi lấy thịt có lẫn thêm da (cá cơm,...) và các loại hải sản khác (tôm thẻ, mực lá,...).



Hình 4. Hiệu suất thu hồi T-Hg và MeHg trên mẫu cá

Để kiểm tra sự chuyển hóa các dạng hợp chất thủy ngân (đặc biệt là O-Hg) thành Hg^{2+} , một lượng chuẩn MeHg và Hg^{2+} tương đương với tổng lượng Hg trong mẫu được thêm vào mẫu cá trước khi xử lý. Thực hiện theo quy trình xử lý và phân tích cho dạng T-Hg.

Kết quả cho thấy hiệu suất thu hồi khá cao (92–105 %) (Hình 4) chứng tỏ toàn bộ lượng Hg trong mẫu, bao gồm cả I-Hg liên kết với nền mẫu và O-Hg, đều được chuyển về Hg^{2+} , và sự nhiễm bẩn hoặc mất mẫu là không đáng kể.

Hàm lượng MeHg và tổng Hg trong hải sản

Để đánh giá một cách tổng quát hàm lượng T-Hg và MeHg cũng như ảnh hưởng của nền mẫu lên phương pháp phân tích. Đây có thể là những thông tin cần thiết cho các nghiên cứu sau này. Ngoài ra, còn đánh giá sơ bộ về các loại cá thường xuất hiện trong khẩu phần ăn hằng ngày của người dân. Từ 35 mẫu cá thu thập từ các chợ và siêu thị trong địa bàn thành phố, các mẫu này được chia thành 3 nhóm chính.

Nhóm săn mồi (cá ngừ đại dương, cá thu, cá nhám,...): chủ yếu là các loài có kích thước lớn, nguồn thức ăn chủ yếu là các loài nhỏ hơn. Những loài này chủ yếu được xếp loại cuối chuỗi thức ăn, môi trường sống là vùng nước sâu trong lòng đại dương, khó đánh bắt, tuổi thọ cao nên khả năng tích trữ thủy ngân trong cơ thể là khá lớn.

Nhóm con mồi (cá bạc má, cá nục, cá lù đù,...): đây là các loài cá có kích thước nhỏ, nguồn thức ăn chủ yếu là rong rêu, tảo và các sinh vật phù du. Chúng thường ở đầu chuỗi thức ăn, sống ở vùng nước mặt, vùng biển ven bờ dễ đánh bắt.

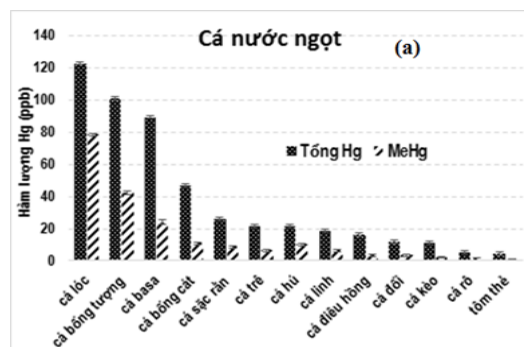
Nhóm cá nước ngọt: Các loại cá này chủ yếu là có nguồn gốc từ điều kiện chăn nuôi nên có thể không còn mang đặc tính tự nhiên nữa vì môi trường sống và nguồn thức ăn ít nhiều bị thay đổi (thức ăn đa phần là thức ăn công nghiệp) nên việc đánh giá nhóm cá này có phần hạn chế.

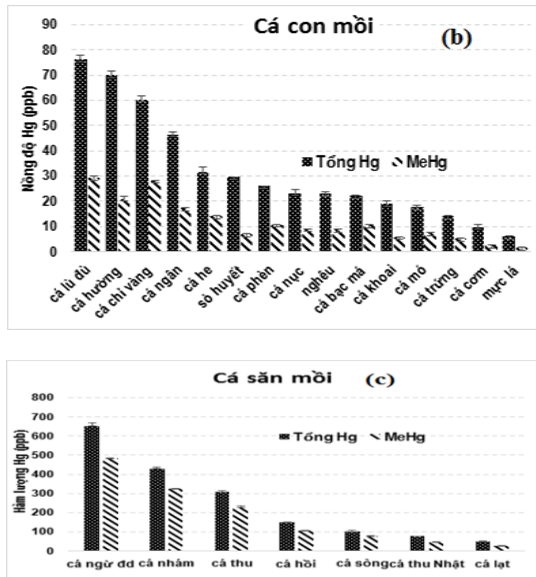
Nhìn chung hàm lượng thủy ngân trong các loại thủy sản khảo sát được là thấp hơn nhiều so với ngưỡng quy định của Bộ Y tế Việt Nam 46/2007/QĐ-BYT và qui định của Châu Âu 1881/2006/EC đối với cá sản phẩm (1,0 mg/kg) và các loại hải sản khác (0,5 mg/kg).

Cá nước ngọt có hàm lượng thủy ngân thấp hơn nhiều so với cá biển (Hình 5) có lẽ trong môi trường nước ngọt, các hợp chất thủy ngân tồn tại chủ yếu ở dạng khó tan nên khó hấp thu vào cơ thể cá trong khi môi trường nước biển giàu ion chloride nên thủy ngân tồn tại nhiều hơn ở dạng phức tan với ion chloride dễ hấp thu vào cơ thể cá.

Cá ăn tạp đặc biệt là cá sản phẩm ngoài tích lũy thủy ngân trực tiếp từ môi trường còn tích lũy từ các loại thức ăn chứa nhiều Hg. Tích lũy thủy ngân từ thức ăn tùy thuộc vào hàm lượng thủy ngân trong thức ăn, dạng thủy ngân trong thức ăn và lượng thức ăn chuyển qua đường tiêu hóa. Các loại cá kích thước nhỏ, thức ăn chủ yếu là phiêu sinh và thực vật có hàm lượng Hg không cao, lượng thức ăn không nhiều nên hàm lượng Hg trong cơ thể thường thấp. Nhận định này đúng cho các loại cá sống trong cả hai loại môi trường nước ngọt và biển. Các loại cá ăn tạp, cá sản phẩm nếu có thời gian sống dài, lượng thức ăn lớn và thường là các loại động vật thủy sinh nhỏ hơn vì vậy chúng có khả năng tích lũy các hợp chất thủy ngân lớn hơn.

Cá nuôi dùng nguồn thức ăn công nghiệp có nguyên liệu từ động vật thường có hàm lượng Hg tương đối cao nên tích lũy các hợp chất thủy ngân thường cao hơn các loại tự nhiên. Thí dụ cá basa cá bông cát, cá hú, cá trê và cá điêu hồng là các loài cá nuôi có hàm lượng Hg tương đối cao so với các loại cá tự nhiên như cá linh và cá rô.



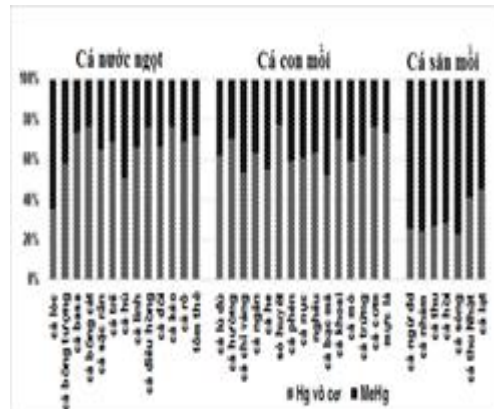


Hình 5. Hàm lượng tổng Hg và MeHg trong (a) cá nước ngọt, (b) cá con môi, và (c) cá sản môi

Tương quan giữa MeHg và Hg vô cơ trong cá

Phân tích nguyên dạng các hợp chất thủy ngân trong cá cho thấy thủy ngân tồn tại trong cá chủ yếu ở 2 dạng: methyl thủy ngân và thủy ngân vô cơ. Bản thân các loài cá không tự sinh tổng hợp MeHg từ các hợp chất thủy ngân vô cơ và như vậy MeHg trong cá đến từ sự tích lũy trực tiếp từ môi trường nước do hô hấp hay thông qua chuỗi thức ăn. MeHg trong nước đến từ sự methyl hóa các hợp chất hữu cơ theo con đường hữu sinh và vô sinh. Hàm lượng MeHg và thủy ngân vô cơ dạng hòa tan trong môi trường nước thường rất thấp (<ng/L) nhưng do khả năng tích lũy rất lớn trong cơ thể sống nên hàm lượng các hợp chất này cao hơn trong nước đến hàng chục ngàn lần trong các động vật phiêu sinh. Các loài cá có xếp loại phía sau trong chuỗi thức ăn có hệ số tích lũy càng cao hơn, có thể đến hàng triệu lần [3].

Có thể thấy rằng các loại cá ăn tạp đặc biệt là cá sản môi có tỷ phần MeHg/I-Hg rất cao như cá lóc (sản môi nước ngọt) và các loại cá sản môi trong nước mặn (Hình 6).



Hình 6. Tỷ lệ MeHg và Hg vô cơ của nhóm cá sản môi, cá con môi và cá nước ngọt

4 KẾT LUẬN

Quy trình xử lý mẫu dành cho phân tích Hg tổng số bằng phương pháp FI-CV-AAS tương đối đơn giản, phù hợp cho mọi loại mẫu cá có thành phần béo khác nhau. Chiết lỏng/lỏng bằng HBr và L-cysteine cho phép tách chọn lọc MeHg khỏi Hg^{2+} và nền mẫu thủy sản phức tạp mà không cần sử dụng các trang thiết bị chuyên dụng đắt tiền như sắc ký khí hay sắc ký lỏng nên phù hợp cho đối tượng thủy hải sản. Phương pháp này có thể triển khai và áp dụng cho các phòng thí nghiệm có trang bị thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử cấu hình cơ bản nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. E.G. Pacyna, J. Pacyna, K. Sundseth, J. Munthe; K. Kindbom, S. Wilson, F. Steenhuisen, P. Maxson, "Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020". *Atmospheric Environment*, vol. 44, pp. 2487–2499, 2010.
- [2]. B.L. Batista, J.L. Rodrigues, S.S. De Souza, V.C.O. Souza, F. Barbosa, Mercury speciation in seafood samples by LC-ICP-MS with a rapid ultrasound-assisted extraction procedure: Application to the determination of mercury in Brazilian seafood samples. *Food Chemistry*, 126, 2000–2004 (2011).
- [3]. R. Wagemann, E. Trebacz, R. Hunt, G. Boila, "Percent methylmercury and organic mercury in tissues of marine mammals and fish using different experimental and calculation methods". *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 16, 1859–1866, 1997.
- [4]. J. Calderón, S. Gonçalves, F. Cordeiro, B. de la Calle, Determination of methylmercury in seafood by direct mercury analysis: standard operating procedure. *Joint Repot Center 80259 EN*, 2013.
- [5]. K. Kidd, M. Clayden, T. Jardine, "Bioaccumulation and Biomagnification of Mercury through Food Webs. In *Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury*", John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, pp. 453–499, 2011.

Analysis of methylmercury and total mercury in seafood using flow injection cold vapour atomic absorption spectrometry

Nguyen Van Dong, Le Thi Huynh Mai, Huynh Vinh Duc, Ho Thi Hong Diem, Nguyen Thanh Phuong

University of Science, VNU-HCM

Corresponding author: winternguyenvan@gmail.com

Received: 10-01-2017, Accepted: 30-9-2017, Published: 10-08-2018

Abstract – Methylmercury and total mercury in seafood were analysed by flow injection cold vapour atomic absorption spectrometry using sodium tetrahydroborate as a reductant. Methylmercury in aquatic species was leached with HBr 47% as neutral MeHgBr complex and quantitatively extracted into toluene. MeHgBr in toluene was back extracted with L-cysteine into aqueous phase in form of negatively charged MeHg-L-cysteine complex. All organic compounds in the aqueous phase were decomposed with $\text{KMnO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$ to convert methyl mercury to Hg^{2+} for direct cold

vapour reaction. The seafood sample was digested with aquaregia for total mercury analysis. The limits of detection/quantitation for methylmercury and total mercury were là 0.69/1.3 ng/g and 0.70/2.2 ng/g (as Hg), respectively. The recovery of the analytical methods for MeHg and total Hg were 96.5–105% and 93–101% within the concentration ranges of 2–700 ng/g Hg. The concentrations of MeHg and total Hg in some common seafood such as fish, shrimp and squid were in ranges of 1.2–483.5 ng/g and 4.0 ÷ 663.4 ng/g.

Index Terms – MeHg, total mercury, seafood