

УДК 577.472 : 539.16 : 001.8

## ОПЫТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ

Н. П. Морозов, А. А. Тихомирова, Е. М. Никоненко

Чистота пробы при анализе гидробионтов также важна, как и при исследовании морской воды. Однако избежать загрязнения или потери части элементов при подготовке и анализе образца, как правило, не удается и задача заключается в том, чтобы ошибки свести к минимуму. Литературные сведения, касающиеся методики определения микроэлементного состава гидробионтов, в частности рыб, скудны. К настоящему времени накоплен некоторый опыт определения содержания тяжелых и переходных металлов в морских гидробионтах, который и отражен в предлагаемой статье.

**Первичная подготовка проб (высушивание, озоление).** Образцы гидробионтов необходимо высушивать при температуре не выше  $100^{\circ}\text{C}$  в фаянсовой, стеклянной или кварцевой посуде. Использование металлических противней для сушки, обугливания и озоления проб недопустимо. Высушенные и озоленные образцы хранят в склянках или полиэтиленовых пакетах. Необработанные образцы можно хранить в замороженном виде, используя полиэтиленовую упаковку.

Применение атомно-абсорбционного метода требует перевода всех анализируемых образцов в растворы. Для этого они должны быть окислены до полного улетучивания основы. Существует два основных метода озоления: сухое озоление и мокрое озоление. В первом случае предварительно высушенные на электроплитке образцы озоляют в муфельной печи при температуре до  $450^{\circ}\text{C}$ . Предохранение металлов от улетучивания на этой стадии подготовки в большой степени определяется продолжительностью увеличения температуры в печи.

Некоторые исследователи (Грибовская и др., 1969) отмечают, что наименьшие потери металлов наблюдаются при помещении пробы в холодный муфель, который затем постепенно нагревают до  $450^{\circ}\text{C}$ . Необходимо медленно (в течение двух-трех суток) увеличивать температуру печи в интервале от  $250$  до  $350^{\circ}\text{C}$ . При этом желательно использовать кварцевую посуду (тигель, чашку) с покровным стеклом. Затем навеску золы растворяют в соляной или азотной кислоте.

При мокром озолении образцы окисляют при нагревании с азотной, хлорной или серной кислотами или смесями этих кислот (Analytical methods Committee, 1960).

Оба метода не свободны от ошибок за счет потерь элементов на стенках посуды или улетучивания и загрязнения, обусловленного применяемыми кислотами, а также попаданием элементов из стенок посуды или атмосферы. Однако по данным Горзаха (Gorsuch, 1959), наиболее удовлетворительные результаты дает мокрое озоление с  $\text{HNO}_3$  и  $\text{HCl}$ :

в растворе остаются следы всех элементов, кроме Pb. Тем не менее, как отмечает Мицуике (1967), по-видимому, нет способа озоления, пригодного для всех видов органических и биологических образцов. Очевидно, оптимальным вариантом разложения образца следует считать такой, при котором для большинства определяемых элементов ошибка будет наименьшей. Этот оптимальный вариант трудно прогнозировать и часто он выбирается эмпирически из серии экспериментов в зависимости от условий и возможностей исследователя. Простота и экспрессность сухого озоления обеспечили этому методу более широкое распространение по сравнению с мокрым.

**Растворение зольных остатков.** Для изучения содержания тяжелых и переходных металлов мы сочли возможным использовать обугленные и озоленные пробы морских гидробионтов, предназначенные для определения радиоактивных изотопов и приготовлявшиеся с соблюдением вышеуказанных требований. При этом большое внимание было уделено выбору оптимальных условий растворения проб.

Прежде всего были испытаны различные способы обработки озоленных проб. Оказалось, что предварительное нагревание пробы в герметизированном тefлоновом стакане в сочетании с кислотной обработкой ускоряет ее разложение. Концентрация всех металлов в пробе, обработанной таким образом, была в 1,5—2 раза выше по сравнению с их концентрацией в контрольной пробе, помещенной в фарфоровый тигель и подвергавшейся тем же процедурам.

Для обработки зольных остатков проб были испытаны различные кислоты и кислотные смеси. Результаты этой серии экспериментов представлены в табл. 1. Видно, что ни одна из испытанных кислотных смесей не дает максимального выщелачивания всех определяемых микроэлементов. Так, Mn, Fe, Pb, Cu, Cr и Zn полнее всего извлекаются путем обработки концентрированной  $\text{HNO}_3$ , Sr — смесью  $\text{HNO}_3$  и  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Cd и Ni — смесью  $\text{H}_2\text{SO}_4$  с перекисью водорода (см. первое примечание к табл. 1). Максимальное извлечение большинства элементов достигается обработкой пробы азотной кислотой, поэтому этот способ принят как оптимальный.

Была также проверена возможность выщелачивания металлов из обугленных и плохо озоленных проб (зола темно-серого цвета) без их доозоления. Опыты показали, что зола разных органов (приблизительно одинаковой степени озоления) по-разному реагируют на воздействие кислот. Например, кости, как правило, растворяются полностью; жабры, чешуя, кожа дают небольшой остаток на фильтре; зола мышечных тканей, печени еще более устойчива к кислотам. Несомненно, количество выщелачивающихся элементов, кроме характера пробы (основы), в значительной степени зависит от концентрации и свойств элементов в данной пробе, а также прочности связей с органическим веществом, которое осталось недоозоленным. Например, в отфильтрованных зольных остатках мышц скумбрии и ставриды после обработки пробы концентрированной  $\text{HNO}_3$  обнаруживается 3—9% Fe, Cu, Ni, Zn, Sr и 28—62% Co, Cd, Cr, Pb. При аналогичной обработке проб печени еще большие количества микроэлементов остаются на фильтре (в %): Zn до 6; Cu 15—20; Ni, Cd, Mn, Sr 27; Cr, Fe, Pb 40—63.

Эти данные указывают на необходимость полного озоления пробы (зола белого цвета). Принята следующая методическая пропись растворения зольных остатков морских гидробионтов.

Навеску (0,5 г) хорошо озоленной и растертой в агатовой или фарфоровой ступке пробы зола помещают в тefлоновый стакан и смачивают несколькими каплями бидистиллированной воды. Затем прибав-

ляют 5 мл концентрированной  $\text{HNO}_3$  (осч) и пробу перемешивают, вращая стакан. Стакан закрывают, вставляют в металлическую бомбочку с завинчивающейся крышкой и ставят на 2 ч в сушильный шкаф,

Таблица 1

**Результаты выщелачивания зольного остатка воблы различными смесями кислот (навеска золы 0,5 г на 1 кг сырой массы)**

Комбинация смеси	Mn	Fe	Pb	Zn	Cu	Ni	Co	Cd	Cr	Sr
Первая . . . . .	1,57	11,5	2,62	28,3	2,83	1,58	0,55	0,20	23,4	14,7
Вторая . . . . .	1,26	9,3	2,52	23,1	1,79	1,53	0,42	0,20	5,3	17,0
Третья . . . . .	1,05	9,65	1,05	25,2	2,41	1,26	0,38	—	12,6	7,8
Четвертая . . . . .	1,26	9,96	2,10	25,2	2,20	1,26	0,46	—	5,3	14,7
Пятая . . . . .	1,01	9,65	2,10	24,1	2,31	1,37	0,29	—	5,3	6,7
Шестая . . . . .	1,01	8,70	2,10	20,0	1,68	1,57	0,46	0,25	5,3	5,3
Седьмая . . . . .	0,63	4,40	1,05	8,4	0,84	1,79	0,42	0,29	5,3	5,3

Примечания: 1. Использовались следующие комбинации концентрированных кислот (мл):

$\text{HNO}_3$  концентрированная (осч) 5;

$\text{HNO}_3$ :  $\text{HCl}$  2:6;

$\text{HNO}_3$ :  $\text{H}_2\text{SO}_4$  3:3;

$\text{HNO}_3$ :  $\text{H}_2\text{O}_2$  2:15;

$\text{HNO}_3$ :  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :  $\text{HCO}_4$  3:1:1;

$\text{HNO}_3$ :  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :  $\text{HCl}$  1:3:3;

$\text{H}_2\text{SO}_4$ :  $\text{H}_2\text{O}_2$  6:9.

2. Прочерк в таблице означает, что элемент не обнаружен.

После охлаждения содержимое стакана переносят в кварцевый тигель, который ставят на песчаную баню или на плитку, закрытую асбестом. Жидкость упаривают до образования влажных солей (примерно в течение 1 ч). Затем прибавляют 10—15 мл  $\text{HNO}_3$  (1:100) и пробу вновь нагревают на плитке до растворения солей (10—30 мин). После охлаждения пробу фильтруют через плотный фильтр (синяя лента) в мерную колбу объемом 25 мл.

В случае неполного растворения (хлопьевидный остаток светлого или темного цвета) фильтр с остатком помещают в тот же тигель, увлажняют несколькими каплями концентрированной  $\text{HNO}_3$  и нагревают до обугливания. Затем тигель ставят в муфель для полного озоления (температура 200—300° С, время 30—40 мин).

В охлажденный тигель приливают 2—3 мл концентрированной  $\text{HNO}_3$  и пробу упаривают на песчаной бане до образования влажных солей (10 мин). В некоторых случаях эту операцию приходится повторять. Затем прибавляют 10—15 мл  $\text{HNO}_3$  (1:100) и нагревают на плитке 15—20 мин. Раствор пропускают через фильтр (синяя лента) в колбу объемом 25 мл. Фильтр промывают бидистиллятом и выбрасывают. На этот раз остатком пренебрегают.

При обработке зольных остатков планктона и водорослей на фильтре остается белый хлопьевидный остаток кремнекислоты. Его следует тщательно промыть (с добавлением нескольких капель  $\text{HNO}_3$  1:100) и отбросить.

Фильтраты переливают из мерных колб в склянки с притертыми пробками, тщательно вымытые смесью концентрированных кислот ( $\text{HNO}_3$  и  $\text{H}_2\text{SO}_4$  в соотношении 1:1).

**Анализ растворов.** Для анализа применяли атомно-абсорбционный метод. Растворы распылялись в ацетилено-воздушном пламени атомно-абсорбционного спектрофотометра японской фирмы «Хитачи» (модель

207). Источником резонансного излучения служили лампы с полым катодом. Стандартные растворы готовились из солей и окислов определяемых элементов (осч) путем разведения деионизированной водой до определенных концентраций в пределах 0,1—25 мкг/мл. Кислотность стандартных соответствовала кислотности анализируемых растворов. По результатам фотометрирования стандартов строились калибровочные графики зависимости величины абсорбции от концентрации.

Параметры оптимальные для каждого из определяемых элементов (табл. 2) были выбраны с учетом влияния пламени на абсорбцию атомами металлов световой энергии излучающей лампы, что в конечном счете определяет чувствительность анализа (Coker, Ottaway, 1970), а также зависимость стабильного излучения лампы от силы питающего ее тока.

Таблица 2

**Оптимальные условия измерения концентрации металлов в растворах проб гидробионтов**

Показатели	Fe	Mn	Cu	Zn	Co	Ni	Cd	Cr	Pb	Sr
Длина волны, А	2483	2795	3247	2138	2407	2320	2288	3579	2833	4607
Расход, л/мин ацетилена . . .	2,5	2,0	1,0	1,0	2,0	2,5	1,0	2,5	2,0	3,0
воздуха . . .	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Время прогрева лампы, мин . . .	30	30	30	30	30	50	50	30	30	30
Рабочий ток, мА	10	5	5	5	10	10	5	10	10	10
Предел обнару- жения, мкг/мл . .	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1

Ошибки воспроизводимости измерений при помощи описанного метода (фотометрирования и расчета) для всех элементов не превосходят  $\pm 2\%$  от измеряемой величины. Основные погрешности определения металлов в гидробионтах возникают при подготовке проб, озоления и растворении зольных остатков. Ошибки воспроизводимости анализа различны как для отдельных элементов, так и для анализируемых органов и видов рыб, например для Fe, Mn, Cu, Zn и Sr они составляют, как правило, не более 10%, для Co, Ni, Cd, Cr и Pb не более 20%, но могут достигать 30% и более. Наименьшие ошибки для всех элементов наблюдаются при анализе чешуи и кожи, наибольшие — при анализе мышц и печени.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

Грибовская И. Ф., Карякин А. В., Фарафонов М. М. Влияние условий озоления на результаты спектрального анализа растений.— «Агрохимия», 1969, № 7, с. 48.

Мицуике А. Разделение и предварительное концентрирование.— В кн.: Физические методы анализа следов элементов, глава 4-я, М., «Мир», 1967, с. 82.

Analytical Methods Committee Analyst. 85, 1960, № 1014, p. 643.

Coker D. T., I. M. Ottaway. Overexcitation interferences in atomic absorption spectrophotometry with an air-acetylene flame. Nature. 227, 1970, pp. 173.

Gorsuch T. T. Analyst, 87, 1959, p. 135 (Цит. по Мицуике, 1967).

**SUMMARY**

Most errors in the determination of the metal content in hydrobionts emerge at the stage of preparation of samples, that is at the stage of ashing and dissolution of ash residue. Heating of the sample in a sealed teflon vial in conjunction with acid treatment improve considerably its resolution. A method of dissolving ash residuum and a subsequent atomic-absorption analysis of solutions is suggested. Optimum parameters in the determination of ten metals and evaluation of errors are given.