การวิเคราะห์เชิงปริมาณของเมทิลเมอร์คิวรีในปลาโดยวิธีกาซโครมาโตกราฟี ด้วยหัววัดชนิดอิเลกตรอนแคปเจอร์ดีเทกเตอร์

นางสาวหิรัญรัตน์ สุวรรณที

007606

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2525

ISBN 974 - 561 - 143 - 3

i 18170456

QUANTITATIVE DETERMINATION OF METHYLMERCURY IN FISH BY GAS CHROMATOGRAPHY USING ELECTRON CAPTURE DETECTOR.

Miss Hiranrat Suwannatee

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Chemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1982

Thesis Title	Quantitative Determination of Methylmercury in Fish by Gas Chromatography using Electron Capture Detector.
BY	Miss Hiranrat Suwannatee
Department	Chemistry
Thesis Advisor	Kantika Sirisena, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in partial fulfillment of the requirements for the Master's degree.

S. Bunnag .....Dean of Graduate School

(Associate Professor Supradit Bunnag, Ph.D.)

Thesis Committee

Maen Amorasit ..... Chairman

(Associated Professor Maen Amorasit)

Rucha Phongbetchara ..... Member

(Rucha Phongbetchara, Ph.D.)

Siri Varothai ..... Member

(Associate Professor Siri Varothai, Ph.D.)

K. Sirisena ..... Member

(Kantika Sirisena, Ph.D.)

Copyright of the Graduate School, Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์เชิงปริมาณของเมทิลเมอร์คิวรีในปลาโดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟีด้วยหัววัดชนิดอีเลกตรอนแคปเจอร์ดีเทกเตอร์
ชื่อนิสิต	นางสาว หิรัญรัตน์ สุวรรณณที
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. กรรติกา ศิริเสนา
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2524

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

เมื่อย่อยเนื้อปลาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิ 100° ซ. นาน 30 นาที เมทิลเมอร์คิวรีที่มีอยู่จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเมทิลเมอร์คิวรีไฮดรอกไซด์ ซึ่งทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริก จะได้เมทิลเมอร์คิวรีคลอไรด์ หลังจากสกัดด้วยเบนซีนแล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟีด้วยหัววัดชนิดอิเลกตรอนแคปเจอร์ดีเทกเตอร์ สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องวัดได้แก่ อุณหภูมิของคอลัมน์ 140° ซ. อุณหภูมิของอินเจกชันพอร์ต (injection port) และหัววัด (detector) 150° ซ. อัตราเร็วของก๊าซนำพา 70 ลบ.ซม.ต่อนาที คอลัมน์ที่ใช้บรรจุด้วยโพลีเอทธีลีนไกลคอลซักซิเนท (4% โดยน้ำหนัก) บนไดอะตอมไมต์ "C" AW ค่าเฉลี่ยรีคอฟเวอรี (recovery yield) ของการเติมเมทิลเมอร์คิวรีคลอไรด์ 0.9 ไมโครกรัม เท่ากับ 91.9 ± 9.9% ขีดจำกัดต่ำสุดที่จะวิเคราะห์ได้เท่ากับ 0.02 ไมโครกรัมปรอท ที่คิดเป็นเมทิลเมอร์คิวรีต่อ 1 กรัมตัวอย่าง ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลเมอร์คิวรีโดยวิธีสแตนดาร์ด - แอดดิชัน (standard addition) จากตัวอย่างปลาทะเล 16 ตัวอย่าง

Thesis Title	Quantitative Determination of Methylmercury in fish by Gas Chromatography using Electron Capture Detector.
Name	Miss Hiranrat Suwannatee.
Thesis Advisor	Kantika Sirisena, Ph.D.
Department	Chemistry
Academic Year	1981

ABSTRACT

Methylmercury in fish was converted into methylmercury(II) hydroxide by sodium hydroxide digestion at 100°C for 30 minutes. After converting to methylmercury (II) chloride by the addition of hydrochloric acid, it was extracted into benzene and subsequently determined by gas chromatography using an electron capture detector. The conditions for the gas chromatographic system were as follows : the column temperature was 140°C, the injection port and detector temperature was 150°C, and the carrier gas flow rate was 70 $cm^3 min^{-1}$. Polyethylene glycol succinate (4% w/w) on a solid support of diatomite "C" AW. was used as the column packing. The average recovery of added methylmercury (II) chloride at 0.9 µg level is 91.1 ± 9.9%. The detection limit is 0.02 µg of mercury expressed as CH_3HgCl per gram of sample. The analyses for the methylmercury (II) chloride content in 16 marine fish samples were carried out and corresponding results obtained by the standard addition method were also reported.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ACKNOWLEDGEMENT

The author wishes to express her sincere appreciation to Dr.Kantika Sirisena, who has offered her valuable advice and encouragement throughout this work. She is grateful to Associate Professor Siri Varothai for his valuable suggestion. She would like to thank Mr. Vibul Leenanupan and Miss Sirinart Muang - noicharoen for their guidance and assistance on the gas chromatographic techniques. She further thanks to the Marine Fishery Division, Department of Fishery for supplying the fish sample. She also thanks the thesis committee for their comments. Finally, she is indebted to the University Development Commission for financial support.

This work was supported by the Office of Atomic Energy for peace.

CONTENTS

PAGE

ABSTRACT (IN THAI) IV

ABSTRACT V

ACKNOWLEDGEMENT VI

LIST OF TABLES IX

LIST OF FIGURES X

CHAPTER

I INTRODUCTION 1

II THEORY 8

2.1 Gas chromatography 8

2.2 Solvent extraction 15

III EXPERIMENTAL 16

3.1 Materials 16

3.2 Gas chromatographic instrumentation 21

3.3 Procedure 22

IV RESULTS 36

4.1 Effect of column temperature on retention time 36

4.2 Effect of temperature of injection port and of detector on retention time ... 38

4.3 Effect of carrier gas-flow rate on the retention time 40

PAGE

4.4 Determinination of the minimum detectable quantity of methylmercury(II) chloride 44

4.5 Determination of optimum time for sample digestion 48

4.6 Determination of optimum temperature for sample digestion 48

4.7 Determination of the recovery of methylmercury (II) chloride added to fish 51

4.8 Quantitative analysis of methylmercury (II) in fish samples 53

V DICUSSION AND CONCLUSION 58

APPENDIX 60

REFERENCE 62

VITA 65

LIST OF TABLES

TABLE		PAGE
1.1	Formation constants of methylmercury(II) complexes	3
1.2	Body burden at the onset of symptoms of methylmercury (II) poisoning	5
3.1	List of marine fish subjected to investigation	20
3.2	Humidity content of the fish samples	20
4.1	Effect of column temperature on retention time	37
4.2	Effect of temperature of injection port and of detector on retention time	38
4.3	Effect of carrier gas flow-rate on retention time	40
4.4	The HETP of the column	42
4.5	The minimum detectable quantity of the detector	46
4.6	Recovery yield at different digestion time	48
4.7	Recovery yield at different digestion temperature	51
4.8	Recovery yield of methylmercury	52
4.9	Concentration of methylmercury in Hairtail	53
4.10	Concentration of methylmercury in Barracuda	56
4.11	Concentration of methylmercury in Threadfin	56
4.12	Concentration of methylmercury in Scad	57

LIST OF FIGURES

FIGURES		PAGE
1.1	Schematic representation of the distribution of methylmercury in human	4
2.1	Calculation of theoretical plates from a chromatogram	9
2.2	Van Deemter plot	11
2.3	Schematic diagram of a gas chromatographic system	12
2.4	Chromatogram showing the retention time	14
3.1	The area for fish sampling in Gulf of Thailand (upper part)	18
3.2	The tissue in dark shade area was collected for analysis	19
3.3	Schematic diagram of the model F33 Perkin-Elmer gas chromatograph with recorder	22
3.4	The Perkin-Elmer model F33 gas-chromatograph	23
3.5	Typical calibration curve of standard methylmercury(II) chloride solution	28
3.6	The flow diagram for the determination of methylmercury	32
3.7	The standard addition curve	34

FIGURE PAGE

4.1 Effect of column temperature on retention time of methylmercury (II) chloride 37

4.2 Effect of temperature of injection port and of detector on retention time in methylmercury (II) chloride determination 39

4.3 Effect of flow rate of carrier gas on retention time in methylmercury(II) chloride determination 41

4.4 Van Deemter plot in methylmercury(II) chloride determination 43

4.5 Typical chromatogram of 52 pg methylmercury(II) chloride 45

4.6 Response of electron capture detector for methylmercury (II) chloride 47

4.7 Effect of sample digestion time on retention time 49

4.8 Effect of sample digestion temperature on retention time 50

4.9 Typical chromatogram of methylmercury(II) chloride from sample..... 54

4.10 Typical chromatogram of standard methylmercury (II) chloride 55