

FISKERIDIREKTORATETS SKRIFTER
SERIE TEKNOLOGISKE UNDERSØKELSER
VOL. 5, NO. 13

*Reports on Technological Research concerning
Norwegian Fish Industry*

ANALYSE AV KVIKKSØLV I SKREI
OG VÅRTORSK VED FLAMMELØS
ATOMABSORPSJON

Av

JAN A. OLAFSEN, NORVALD LOSNEGARD, KÅRE BAKKEN
Fiskeridirektoratets kjemisk-tekniske forskningsinstitut

FISKERIDIREKTØREN
BERGEN 1973



SAMMENDRAG

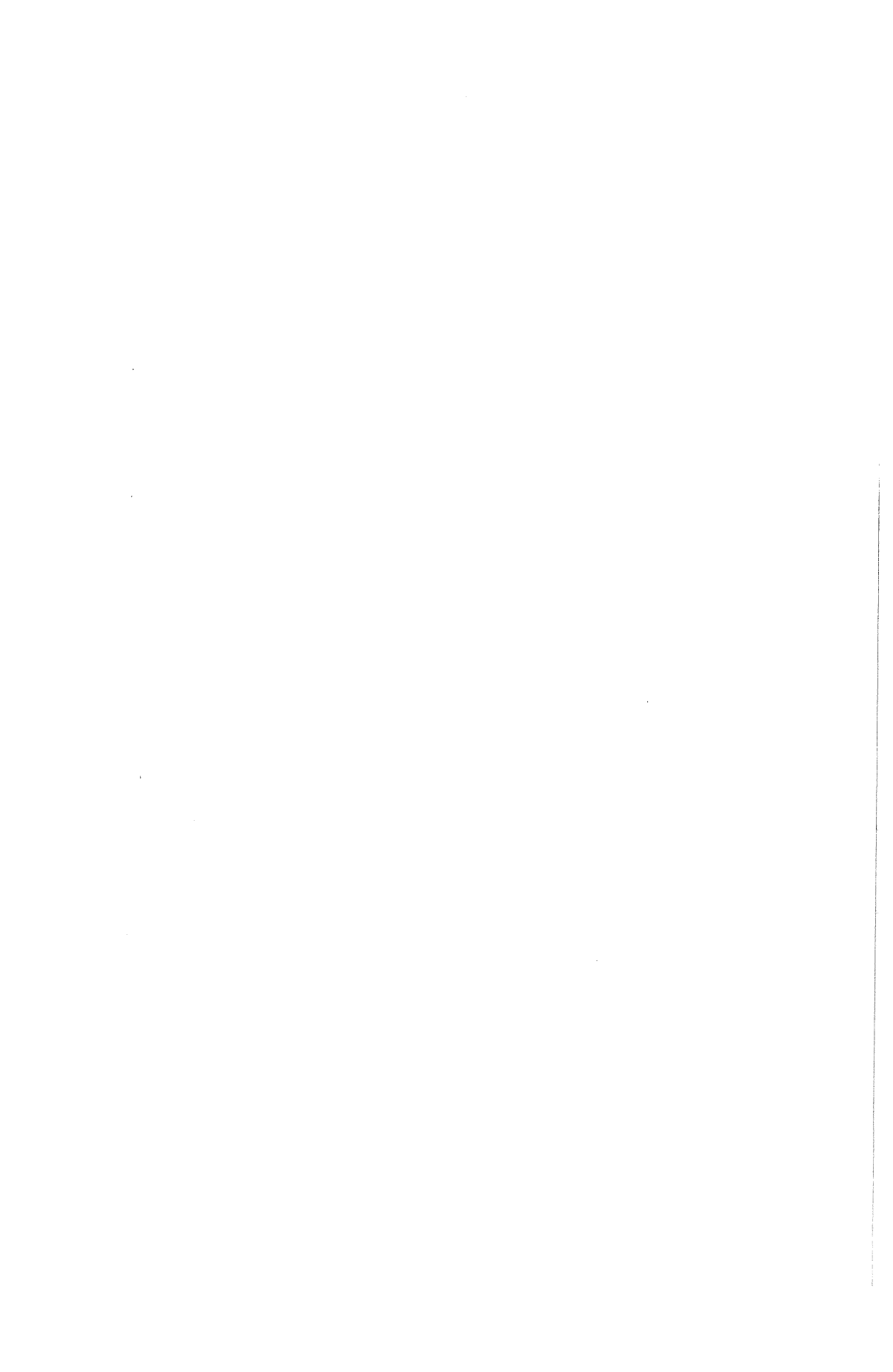
Det er foretatt kartlegging av kvikksølvinnholdet i en kolleksjon skrei fra Lofoten, samt en kolleksjon vårtorsk fra Finnmark. Prøvene er oppsluttet med svovelsyre/salpetersyre og vanadiumpentoksyd som katalysator, og kvikksølvinnholdet er registrert ved flammeløse atomabsorpsjon. Metodikken er fullstendig beskrevet under «Materialer og metoder».

Kvikksølvets fordeling mellom forskjellige organer og muskeltyper er fastlagt, likeledes forholdet mellom vekt og kvikksølvinnhold. Alle analyser viser et meget lavt kvikksølvnivå, med høyeste verdi på 0,20 ppm.

Når det gjelder skrei, er det analysert 32 individer av størrelse 4,0—23,0 kg (middel 9,3 kg). Kvikksølvinnholdet ligger her i området 0,06—0,20 ppm (middel $0,10 \pm 0,007$ ppm). Analysene viser videre at spord, midtstykke og nakkestykke har noenlunde samme kvikksølvinnhold, muligens med noe høyere verdier i nakkestykket. Mørk muskel har et markert lavere innhold enn lys muskel (50—60%), mens rogn og melke ligger på et svært lavt nivå.

Av vårtorsk er det analysert 36 individer fra 1,0—25,3 kg (middel 5,0 kg), og kvikksølvinnholdet varierer fra 0,02—0,17 ppm (middel $0,08 \pm 0,006$ ppm). Også når det gjelder vårtorsk, ligger verdiene for mørk muskel atskillig lavere enn for lys muskel (60%). Det samme gjelder her leveren, mens skinnen har et svært lavt innhold av kvikksølv.

Hos vårtorsken er det funnet en positiv korrelasjon mellom vekt og kvikksølvinnhold, mens denne sammenheng ikke kommer tydelig frem når det gjelder skrei.



INNLEDNING

Problematikken omkring kvikksølv i fisk har de siste par årene vært viet stor almen interesse, og fra tid til annen har det figurert avskrekende høye tall i dagspressen. Imidlertid ser det ut til at de undersøkelser det refereres til som regel er foretatt i sterkt forurensete områder, mens analyseverdier for fisk fra kommersielt viktige fiskerier sjelden blir referert.

Fiskeridirektoratets Kjemisk-Tekniske Forskningsinstitutt har over en tid utført kartleggingsarbeid over kvikksølvinnholdet i fisk. Foreløpig er det analysert kolleksjoner av skrei fra Lofoten og vårtorsk fra Finnmark. Tilsvarende kartlegging av andre fiskeslag vil følge. Parallelt med kartleggingsarbeidet utføres også oppdragsanalyser. Det er utarbeidet utkast til retningslinjer for uttak av prøver, og dessuten er det arbeidet med forbedring og utprøving av analysemetodikken.

MATERIALER OG METODER

De to kolleksjonene av henholdsvis skrei og vårtorsk er skaffet til veie av Fiskeridirektoratets Kontrollverk v/distriktsinspektør Blokhus. Prøvene er frosset umiddelbart etter fangst og holdt nedkjølt ved -25°C . Ytterligere opplysninger om prøvene er gitt i tabellene 1 og 2.

PRINSIPP

Prøvematerialet oppsluttes med svovelsyre/salpetersyre ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$) tilsatt vanadiumpentoksyd (V_2O_5) som katalysator, som angitt av Munns og Holland (1971) og Munns (1972). Kvikksølvsaltene (Hg (II)-saltene) i den oppsluttete prøve reduseres med tinnklorid (SnCl_2) til metallisk kvikksølv, som med luftstrøm drives over i gasskvyette og måles ved hjelp av flammeløs atomabsorpsjon ved 253,7 nm.

REAGENSER OG LØSNINGER

H_2SO_4 , p.a. Merck nr. 731
 HNO_3 , p.a. (min. 65%), Merck nr. 456
 V_2O_5 , «Baker Analyzed» reagent, nr. 1217
 H_2O_2 , 30%, «Baker Analyzed» reagent, nr. 7047
 KMnO_4 , p.a. Merck nr. 5082
 HgCl_2 , p.a. (sublimat), Merck nr. 4419
 Natronasbest, Merck nr. 1567
 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, p.a. Merck nr. 7815

- (1) Oppslutningsløsning
 H_2SO_4 og HNO_3 (begge kons.) blandes i like deler og tilsettes 1 g $\text{V}_2\text{O}_5/1$. Løsningen, som rystes godt, bør stå 2—3 døgn før den blir klar og guldfarget.
- (2) Reduserende løsning
 50 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ løses i 0,5 N H_2SO_4 til 500 ml.
- (3) 18 N H_2SO_4 lages av kons. H_2SO_4 som fortynnes 1:1.
- (4) 5% KMnO_4 i H_2O .
- (5) 0,75% KMnO_4 i H_2O , lages av (4).
- (6) Hg-standard
 HgCl_2 tørkes til konstant vekt (ca. 3 timer v/100°C). Det utveies 0,1354 g som løses i 1 N H_2SO_4 til 100 ml. Dette gir en konsentrasjon på 1000 μg Hg/ml. Løsningen fortynnes videre med 1 N H_2SO_4 til en konsentrasjon på 1 μg Hg/ml. Før justering til volum tilsettes standardløsningene noen dråper 5% KMnO_4 -løsning til sterk rødfarge.

APPARATUR

- (1) Oppslutningsapparatet består av en 250 ml enhalset rundkolbe med B 34/35 slip (Quickfit FR 250/55), påsatt en 40 cm kulekjøler med ca. 180 cm^2 kjøleareal (Quickfit CX 7/33). Kjølere har slip på toppen for eventuell påmontering av vannlås. Ifølge våre forsøk synes vannlås å være overflødig.
- (2) Varmeplater, Standard Heizer SV 3, med trinnløs regulering.
- (3) Kip-apparater (Quickfit) for tilsetning av 20 ml oppslutningsreagens.
- (4) Gassvaskeflasker, 250 ml, med bobler av porøsitet G-O (Pyrex).
- (5) Tørkekomponent, en kolonne på 8 cm \times 2 cm (diameter), fylt med natronasbest, monteres mellom gassvaskeflaske og gasskyvete. Fuktig natronasbest skiftes ut etter hver dag.

- (6) Apparat for flammeløs atomabsorpsjon, Coleman Mercury Analyzer MAS-50, til registrering av kvikksølv.

UTFØRELSE

Oppslutning

5 g prøve innveies i 250 ml oppslutningskolbe og tilsettes kokekuler samt 20 ml oppslutningsløsning (reagens 1). Kjølevannet settes på, og det varmes forsiktig til prøven er oppløst. Deretter økes varmen gradvis, nå under sterk utvikling av brune gasser (NB! nitrøse gasser — avtrekk!). Det kokes til slutt på fullt til utviklingen av brune gasser stopper, og ytterligere i 5—10 min. Varmeplaten slås av, kolben løftes og stilles på trådnett, og fra toppen av kjøleren tilsettes først 10 ml aq.dest., deretter 5 dråper 30% H_2O_2 og til slutt 2×10 ml aq.dest.

Når innholdet i kolben har kjølnet, tilsettes 0,75 % KMnO_4 inntil permanent rødfarge. Innholdet overføres kvantitativt til 250 ml målekolbe, og det justeres til volum.

Ved rutinebestemmelser av kvikksølv i fiskeprøve oppsluttes to parallelle prøver (à 5 g), henholdsvis med og uten tilsats av kjent mengde kvikksølv.

Ved oppslutning av fete prøver (lever, etc.) utveies kun 2,5 g, og det er her svært viktig at varmen økes forsiktig, ellers vil mørkfarging lett oppstå. Skulle prøven mot formodning mørkfarges etter noen tids oppslutning, må det tilsettes ytterligere litt oppslutningsløsning.

Da det ved denne metoden kokes med tilbakeløp under hele oppslutningen, er det viktig at prøvene ikke inneholder mye vann (maks. 5 g), dette for å oppnå en tilstrekkelig høy temperatur under oppslutningen (170°C).

Registrering

Registreringsapparatet settes på minst en time før avlesning skal foretas. Det påsees at vinduene i gasskyvetten er rene og at natronasbesten i avfuktningskomponenten er tørr.

50 ml oppsluttet prøve overføres til gassvaskeflasken og tilsettes 45 ml aq.dest. Om nødvendig tilsettes en dråpe 5% KMnO_4 . Med pumpen igang innstilles på henholdsvis 0 og 100% transmisjon. Det velges skala, og pumpen slås av. Prøven tilsettes 5 ml SnCl_2 -reagens, bobleren settes på umiddelbart, og det rystes i 20 sek. Pumpen slås på, og maksimum utslag noteres. Maksimalt utslag bør nås innen 2 min., ellers er sannsynligvis SnCl_2 -reagenset oksydert.

Kalibreringskurve

Fra standard Hg-løsningen utmåles i gassvaskeflasken prøver inneholdene 0 — 0,05 — 0,1 — 0,2 — 0,4 og 0,8 μg Hg. Det tilsettes aq. dest. til 90 ml, 1 dråpe 5% KMnO_4 , 5 ml 18 N H_2SO_4 og 5 ml SnCl_2 -reagens, og registreringen foretas som beskrevet ovenfor. De avleste verdier plottes som funksjon av μg Hg, og dette benyttes som standardkurve.

Eventuelt tap av Hg under oppslutning bør kontrolleres, både uten og i nærvær av ulike typer organisk materiale. Prøveserier på 0 — 0,25 — 0,5 — 1 — 2 og 4 μg Hg (1/5 tas ut for registrering) oppsluttes separat og dessuten sammen med mager fisk, fet fisk og salt fisk. Etter våre erfaringer faller disse standardkurvene sammen med standardkurven for de uoppluttete prøver, og et eventuelt tap ved oppslutningen er således ikke registrerbart.

BEMERKNINGER

All apparatur bør vaskes omhyggelig og såvidt mulig kokes i fortynnet HNO_3 og skylles i destillert vann før bruk. Kvikksølvstandarder bør ikke oppbevares lengre tid i fortynnet form.

Det har vært hevdet at bestemmelse av kvikksølv i fete prøver ved hjelp av flammeløs atomabsorpsjon ville gi for lave verdier. Våre erfaringer viser imidlertid at oppslutning og analyse etter tilsats av kjente mengder kvikksølv til henholdsvis mørk muskel, lys muskel og lever gir nøyaktig den samme gjenvinning.

RESULTATER

Resultatene fra kvikksølvanalyse av de forskjellige organer og muskeltyper i skrei og vårtorsk er ført opp i tabellene 1 og 2.

Tabell 1. Analyser av kvikksølv i skrei.

Fangststed: Austnesfjorden/Skrova.

Fangstdato: 20.—21.3. 1972.

Prøve nr.	Rundvekt kg	ppm Hg						
		Lys muskel				Mørk muskel	Rogn	Melke
		Spord	Midt-stykke	Nakke-stykke	Gjennom-snitt			
16/72	4,8				0,06			0,01
17/72	4,1				0,08			0,01
18/72	4,8				0,12			0,02
19/72	5,0				0,06			0,02
20/72	5,1				0,08			0,02
21/72	4,0				0,16		0,02	
22/72	4,8				0,06		0,01	
23/72	5,0				0,06		0,01	
24/72	6,2				0,13		0,02	
25/72	5,1				0,06		0,02	
26/72	7,1	0,08	0,09	0,10	0,09			0,01
27/72	7,7	0,09	0,08	0,11	0,10			0,01
28/72	7,0	0,11	0,13	0,12	0,12			0,02
29/72	7,9	0,17	0,14	0,18	0,16			0,02
30/72	6,7	0,07	0,07	0,09	0,08			0,01
31/72	7,0	0,10	0,11	0,13	0,12		0,01	
32/72	7,5	0,15	0,15	0,16	0,15		0,03	
33/72	7,8	0,05	0,05	0,06	0,05		0,02	
34/72	6,8	0,05	0,06	0,06	0,06		0,02	
35/72	7,0	0,08	0,09	0,10	0,09		0,01	
36/72	11,3				0,10	0,06		0,02
37/72	11,4				0,08	0,04		0,01
38/72	12,0				0,09	0,04		0,01
39/72	12,1				0,20	0,12	0,03	
40/72	12,0				0,10	0,07	0,02	
41/72	11,7				0,05	0,03	0,01	
42/72	16,7				0,14	0,07		0,02
43/72	16,6				0,04	0,03		0,01
44/72	16,0				0,09	0,04		0,01
45/72	23,0				0,10	0,05	0,04	
46/72	16,3				0,07	0,04	0,01	
47/72	22,6				0,17	0,09	0,02	
Middel	9,3	0,10	0,10	0,11	0,10*	0,06	0,02	0,01
Standardavvik					(±0,007)	(±0,003)	(±0,002)	(±0,001)

* Gjennomsnitt for prøvene 36—47/72 er 0,10 ±0,014.

Tabell 2. Analyser av kvikksølv i vårtorsk.

Fangststed: Skagen/Vardø (Prøve nr. 107/72—155/72).

Vardø/Kiberg (Prøve nr. 158/72—223/72).

Fangstdato: 24.5. 1972.

Prøve nr.	Rundvekt kg	ppm Hg			
		Lys muskel	Mørk muskel	Skinn	Lever
107/72	1,0	0,05			
110/72	1,1	0,05			
113/72	1,2	0,04			
116/72	1,0	0,04			
119/72	1,0	0,02			
122/72	1,0	0,05			
125/72	1,0	0,07			
128/72	1,0	0,04			
131/72	2,0	0,11			
134/72	2,0	0,08			
137/72	2,0	0,05			
140/72	2,1	0,05			
143/72	1,9	0,05			
146/72	2,2	0,08			
149/72	2,0	0,06			
152/72	2,0	0,04			
155/72	4,5	0,06			
158/72	3,9	0,06			
161/72	3,6	0,05			
164/72	5,0	0,07			0,03
167/72	5,0	0,08			0,04
170/72	5,2	0,09			
173/72	4,0	0,06			0,04
176/72	4,3	0,06			
179/72	7,8	0,06	0,05	0,02	
183/72	6,8	0,06	0,04	0,02	0,05
187/72	6,5	0,09	0,05	0,02	0,03
191/72	8,6	0,09	0,05	0,02	
195/72	6,2	0,09	0,07	0,02	
199/72	7,3	0,11	0,05	0,02	0,05
203/72	7,2	0,08	0,04	0,02	
207/72	8,5	0,17	0,09	0,02	
211/72	12,4	0,15	0,12	0,10	0,06
215/72	12,4	0,15	0,11	0,03	
219/72	10,0	0,13	0,09	0,05	
223/72	25,3	0,16	0,10	0,03	0,06
Middel	5,0	0,08*	0,07	0,03	0,05
Standardavvik		(±0,006)	(±0,002)	(±0,007)	(±0,004)

* Gjennomsnitt for prøvene 179—223/72 er $0,11 \pm 0,003$.

DISKUSJON

Som nevnt innledningsvis er kvikksølvinnholdet i de analyserte prøver av skrei og vårtorsk lavt, med høyeste verdi 0,20 ppm.

For vårtorskens vedkommende er det en tydelig sammenheng mellom vekt og kvikksølvinnhold. Regresjonsanalyse gir en korrelasjonskoeffisient $r = 0,78$ og «students t » = 7,36 ($P \ll 0,01$). Dette skulle tilsi en statistisk sikker sammenheng mellom vekt og kvikksølvinnhold, som kan uttrykkes ved regresjonslikningen:

$$\text{ppm Hg} = 0,046 + 0,006 \times \text{vekt (i kg)}$$

Tilsvarende sammenheng kan ikke sies å være til stede når det gjelder skrei. Deler man denne kolleksjonen inn etter vekt, vil den første gruppen fra 4—6 kg ha et midlere kvikksølvinnhold på 0,08 ppm, den neste gruppe fra 6—8 kg har 0,10 ppm i middel, og den siste gruppen fra 10—23 kg har også et middel på 0,10 ppm.

Et stabilt, lavt kvikksølvnivå, samt tendens til økende kvikksølvinnhold med økende vekt, vil kunne ventes for fiskestammer som går under like forhold i lite forurensete farvann og ikke er utsatt for store lokale variasjoner i kvikksølvbelastningen. Det synes rimelig å anta at kvikksølvinnholdet i disse kolleksjonene med torsk gjenspeiler det naturlige nivå i de havområder hvor de er fanget.

Når det gjelder analysene av de forskjellige organer og muskeltyper, viser resultatene for skrei at nakkestykke har svakt høyere verdier enn spord og midtstykke. Resultatene må dog sies å være så jevne at det ikke synes å spille noen rolle hvor på fisken prøveuttaket skjer.

Et begrenset antall analyser ved Hermetikkindustriens Kontrollinstitutt (1971) viste høyere kvikksølvinnhold i den mørke enn i den lyse muskel hos størje, og det ble antydnet at forklaringen kunne tenkes å ligge i mørkmuskelenes høyere biologiske aktivitet.

Når det gjelder våre undersøkelser viser disse et ganske annet forhold mellom den lyse og den mørke muskel. På bakgrunn av det analyserte materiale kan en med sikkerhet si at den mørke muskel har et lavere kvikksølvinnhold (50—60%) enn den lyse muskel, da differansene mellom middelverdiene er statistisk sikre (skrei: $P < 0,01$, vårtorsk: $0,02 < P < 0,05$). Det samme forhold gjør seg også gjeldende for lever fra vårtorsk samt rogn og melke fra skrei.

En mulig forklaring på dette forhold hos vårtorsk og skrei kan være at kvikksølvet bindes eller assosieres til visse metabolitter eller strukturelle elementer som er mer karakteristiske for den lyse muskel. Det er antatt at den mørke muskel og leveren har nær beslektet fysiologisk aktivitet og metabolisme, som skiller seg ut fra den lyse muskels aktivitet. Leverens og den mørke muskels høyere metabolske aktivitet, samt deres spesielle

evne til utskillelse av stoffskifteprodukter via blodbaner og feces, kan også tenkes å ha gitt disse organer en effektiv avgiftningsmekanisme for kvikksølv.

På bakgrunn av våre undersøkelser synes det rimelig å hevde at det i skrei og vårtorsk skjer en sterkere akkumulering av kvikksølv i visse organer eller strukturelle elementer, og at disse elementer synes å ha en tilknytning til den lyse muskulatur. Særlig interessant er det at kvikksølvet, i motsetning til det enkelte har antatt, ikke synes å «følge fettene», idet kvikksølvinnholdet er lavere i de fettrike organene lever og mørk muskel enn i den mindre fettrike, lyse muskel.

Interessant er det også å merke seg det relativt lave kvikksølvinnhold i gonader og skinn. Når det gjelder gonadene, kan dette ha en viss sammenheng med at disse organer har lavere alder enn selve fisken.

Våre analysetall gjelder totalt kvikksølv. Det ville også vært ønskelig å se på forholdet mellom metylkvikksølv og uorganisk kvikksølv i de forskjellige organer, da man kan anta at de ulike forbindelser ikke følger det samme skjema for opptak og utskillelse. Ifølge litteraturen forligger 85—90% av kvikksølvet i fisk som metylkvikksølv. Det finnes dog unntakelser. Således fant Freeman og Horne (1973) at i amerikansk ål, fanget i Nova Scotia, utgjorde metylkvikksølv bare 50% av totalt kvikksølv, mens de tilsvarende tall for muskel og lever i nise er rapportert til henholdsvis 100% og 7,4—41,0% (Gaskin et al. (1972)).

SUMMARY

The content and distribution of mercury in different organs and muscles from 32 cods caught in the Lofoten region and 36 cods caught in the Finnmark region have been examined, and likewise the mercury content in relation to fish weight. Fish weights varied from 4.0 to 23.0 kg (average 9.3 kg) and from 1.0 to 25.3 kg (average 5.0 kg) for the Lofoten and the Finnmark series respectively.

The analytical procedure has been described in detail.

Mercury contents from 0.06 to 0.20 ppm (average 0.10 ± 0.007 ppm) and from 0.02 to 0.17 ppm (average 0.08 ± 0.006 ppm) were found in the light muscle of Lofoten cod and Finnmark cod respectively. As a principle the mercury appeared to be evenly distributed throughout the light muscle of the individual fish, though a slight increase in mercury content was observed towards the head.

In both series a marked lower mercury content was found in the dark muscle, amounting to only 50—60% of that of the light muscle.

Low figures were found in roe, milt, liver, and skin, the respective mean values being 0.02, 0.01, 0.05, and 0.03 ppm.

As regards one of the series a positive correlation between mercury content and fish weight has been proved.

Fiskeridirektoratets Kjemisk-Tekniske Forskningsinstitutt, Oktober 1973.

LITTERATUR

- MUNNS, R. K. og HOLLAND, D. C. (1971): Determination of mercury in fish by flameless atomic absorption. A collaborative study. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* *54*, 202—205.
- MUNNS, R. K. (1972): Mercury in fish by cold vapor atomic absorption using sulfuric-nitric acid/ V_2O_5 digestion. Laboratory information Bulletin No. 1500, 8 pp (meddelt på henvendelse).
- Hermetikkindustriens Kontrollinstitutt (1971), personlig meddelelse.
- FREEMAN, H. C. og HORNE, D. A. (1973): Total mercury and methyl-mercury content of the American eel (*Aguilla rostrata*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* *30*, 454—456.
- GASKIN, D. E., ISHIDA, K. og FRANK, R. (1972): Mercury in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from the Bay of Fundy region. *J. Fish. Res. Bd. Can.* *29*, 1644—1646.