

张婧蕾, 张连钢, 牛列琴, 等. 泡腾片辅助提取结合罗丹明 B 型荧光探针快速检测粮食中的汞元素 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 325–331. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080136

ZHANG Jinglei, ZHANG Liangang, NIU Lieqin, et al. Assisted Extraction Combined with Effervescent Tablets and Rhodamine B Fluorescence Probe for Rapid Detection of Elemental Mercury in Grain[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(13): 325–331. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080136

· 分析检测 ·

泡腾片辅助提取结合罗丹明 B 型荧光探针快速检测粮食中的汞元素

张婧蕾¹, 张连钢¹, 牛列琴², 周鑫魁^{3,*}, 沈海波¹, 李建民¹, 方剑儒⁴

(1. 甘肃省嘉峪关市食品药品和医疗器械检验检测中心, 甘肃嘉峪关 735100;

2. 中国铁路兰州局集团有限公司疾病预防控制中心, 甘肃嘉峪关 735100;

3. 甘肃中商食品质量检验检测有限公司, 甘肃兰州 730010;

4. 甘肃省张掖市药品检验检测中心, 甘肃张掖 734000)

摘要: 为建立一种粮食中汞元素 (Hg) 的快速检测方法。自主合成罗丹明 B 型荧光探针, 并利用功能离子液体作为探针体系的载体和生色基团。使原本的荧光探针体系, 变成可见光探针体系。所建立的可见光探针体系与 Hg 结合, 根据 Hg 含量的不同呈现不同深浅的玫红色。在 550 nm 波长下, 样品中 Hg 含量 0.5~20 ng/g 范围内, 显色的探针体系紫外吸光度与 Hg 含量成正比。结合泡腾片暴气辅助提取的方式, 控制暴气反应的初始速度, 减少暴气过程 Hg 的损失, 达到准确定性定量检测的目的。该检测方法回收率 90.98%~102.46%, 精密度 RSD 为 2.76%~4.76%, 检出限 1.0 ng/g。该快速检测方法具有高效、准确、灵敏度高、特异性强, 适用范围广等优势。适用于谷物, 小麦等粮食及其食品中汞元素的大批量筛查和检测工作。同时该方法和原理可以为可视化探针快速检测领域提供一定的参考和实验思路。

关键词: 汞元素, 粮食, 快速检测, 功能离子液体, 可见光探针体系, 泡腾片

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)13-0325-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080136



本文网刊:

Assisted Extraction Combined with Effervescent Tablets and Rhodamine B Fluorescence Probe for Rapid Detection of Elemental Mercury in Grain

ZHANG Jinglei¹, ZHANG Liangang¹, NIU Lieqin², ZHOU Xinkui^{3,*}, SHEN Haibo¹, LI Jianmin¹,
FANG Jianru⁴

(1. Jiayuguan City, Gansu Province Food Medicine and Medical Equipment Inspection and Testing Center,
Jiayuguan 735100, China;

2. Institute for Disease Control and Prevention, China Railway Lanzhou Bureau Group Co., Ltd.,
Jiayuguan 735100, China;

3. Gansu Zhongshang Food Quality Test and Detection Co., Ltd., Lanzhou 730010, China;

4. Zhangye Pharmaceutical Inspection and Testing Center, Zhangye 734000, China)

Abstract: To establish a rapid method for determination of mercury in grain, Rhodamine type B fluorescent probe was synthesized and used as the carrier and chromogenic group of the probe system. The original fluorescent probe system was made into a visible light probe system, where this principle was used in conjunction with extraction assisted by effervescent tablets to establish a rapid method for the detection of elemental mercury (Hg) in grain. The initial speed of the blast

收稿日期: 2022-08-15

基金项目: 嘉峪关市科技局重点研发计划 (20-32)。

作者简介: 张婧蕾 (1994-), 女, 硕士, 助理工程师, 研究方向: 食品药品分析检验检测, E-mail: 215687260@qq.com。

* 通信作者: 周鑫魁 (1986-), 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 有机合成、分析检测, E-mail: 664258985@qq.com。

reaction was controlled via the use of the bubble tablet blast method and the loss of Hg could be reduced in the course of the initial blast. After combining with different concentrations of Hg, the probe system make the originally colorless probe system turn into a rosy red color. The color developing probe system was in the range of 0.5~20 ng/g of Hg content in the sample at 550 nm, and the shade of color was proportional to the Hg content, whose range in the samples could also be assessed using a colorimetric card with naked eye. In the present study, the recoveries were 90.98%~102.46%, the precision RSD was 2.76%~4.76% and the detection limit was 1.0 ng/g. The rapid detection method has the advantages of high efficiency, accuracy, high sensitivity, specificity and wide applicability. Taken together, it is suitable for bulk screening and detection of elemental mercury in grains, wheat and other grains and their food products. Also, the method and principle might provide novel insights for the field of visualization probe rapid detection.

Key words: elemental mercury; grain; rapid detection; functional ionic liquids; visible light probe system; effervescent tablets

汞是毒性很强的重金属污染物之一,也是一种全球性的污染物。目前,我国是汞生产、使用和排放量最大的国家,每年向大气排汞近 600 t^[1]。排放到大气中的汞可通过大气环流,水循环方式在世界范围内进行传输,并沉降富集到陆地和水生生态系统,对生态环境和人体健康造成巨大威胁^[1]。随着水质和土壤中汞含量的增加,经过种植得到的粮食作物也会富集大量汞元素,产生重金属对粮食的污染现象。汞元素是粮食及其制品中最常见的污染物之一,我国谷物的重金属污染情况不容乐观,很多地区近几年的对重金属的监测表明粮食及其制品中汞元素有超标现象^[2]。鉴于汞元素在人体内的蓄积性,可引起脏器的慢性损伤,长期接触也可能威胁人身安全^[3]。因此,应加大粮食及其制品中汞元素的监管力度,提升检测方法的准确性、时效性、适用性及灵敏性。从而保证市售粮食的质量和食用安全。

随着科技水平的提高,对汞元素的检测方法也不断创新突破。其中紫外分光光度法,是利用化学显色剂与样品提取液中的 Hg 结合显色,从而达到定量目的^[4]。但是该方法抗干扰性不强,并且容易受到样品基质中其他物质的干扰,与干扰性杂质结合也可能产生颜色,影响检测结果的准确性,且该方法的灵敏度不理想^[5-6],文献 [5] 中样品检出限为 12.67 ng/g。而国家在标准 GB 2762《食品安全国家标准 食品中污染物限量》中规定了粮食中汞元素最大允许存在限量为 10.0 ng/g,所以紫外分光光度法检测样品中 Hg,不能满足食品安全检测的要求。原子荧光光谱法^[7],该方法适用于大多数样品中汞元素的检测,具有一定程度的自动化功能,降低人为操作引入的随机误差,但是由于方法检出限过高、灵敏度不理想、当样品汞元素含量较低时检测结果不稳定、检测结果容易受环境影响、检测周期过长等缺陷逐渐被电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)代替^[8]。ICP-MS 检测汞元素含量,检出限更低^[9],结果更稳定、更准确,检测周期短,该方法是一种高效实用的检测方法^[10],但是需要大型设备及配套消解设备,无法满足实时快速检测的要求。试纸显色法^[11],试纸法检测成本低,检测速度快,适用于批量样品筛选,然而由于显色试剂灵敏度的制约,试纸法对汞元素的检出限为 3000 ng/g,

无法满足国家标准要求。电化学检测法,该方法检测结果准确,灵敏度良好,满足实时在线检测的需求^[12]。酶联免疫法,具有较强的特异性,灵敏度高,但是关于金属离子的抗体很难制备,现阶段没有大规模投入使用^[13]。有机荧光探针法,同样具有较强的特异性,并且有机荧光探针容易保存,使用方便,但是与汞离子显色的灵敏度不理想^[14-15]。通过上述分析,现有技术存在的问题及缺陷为:仅限于实验室中使用大型设备,通过长时间的样品前处理过程,进行检测。没有适用于现场监测活动的快速检测方法。本研究旨在建立一种针对粮食中汞元素的快速检测方法,该方法样品前处理程序简单,不需要经过大量无机酸加热消解,不需要大型设备辅助;具有绿色环保,废弃物排放少,灵敏度高,准确度高,干扰小,实验过程耗时短,试验步骤简单易操作,适用于快速检测,现场检测,批量样品检测活动等优点。

为避免样品基质干扰,提高检测结果灵敏度,利用化学探针的特异性^[16]复合含硫功能离子液体共轭 π 键结构^[17-18],构建一种可见光区内高灵敏度的探针体系。结合泡腾片辅助提取及紫外分光光度法简便快捷的检测特点,建立一种粮食样品中 Hg 的定量快速检测方法。验证了探针的专一性,泡腾片的使用重要性及该方法的准确性、精密度、检出限等方法学参数。确保所建立的方法能高效、快速、准确的筛查大批量样品中汞元素的含量,为 Hg 的快速检测提供一种新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

汞离子 标准物质, Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司; 钠、钾、钙、镁、钡、铝、铜、铁、锌、锰、铬、镉、钛、锡、铅、砷 混合标准物质溶液, Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司; 乙腈、甲醇 色谱纯, 北京百灵威科技有限公司; 罗丹明 B、水合肼 分析纯, 上海中秦化学试剂有限公司; 硝酸、盐酸 优级纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 氯丁烷、异硫氰酸甲酯、六氟磷酸钾 分析纯, 均购于上海麦克林科技有限公司; 1-(3-氨基丙基)咪唑、1-甲基咪唑 分析纯, 西格玛奥德里奇中国 Sigma 化学试剂; 阳性质控米粉样品 质控样品, 万佳标准物质研发中心; 小麦粉、大米

和玉米样品 常规样品,农贸市场及超市。

DF-101S 集热式搅拌器 常州普天仪器制造有限公司;TG16-WS 离心机 长沙湘仪离心机仪器有限公司;GZX-GF-MBS 电热恒温鼓风干燥箱 上海跃进医疗器械有限公司;XSE204 电子天平(万分之一) 梅特勒-托利多仪器有限公司;UV2600 岛津紫外可见分光光度计 岛津科技有限公司;TDP-0T 手动制片机(带 10 mm, 12 mm 模具) 广州市大祥电子机械设备有限公司;耶拿 PlasmaQuant MS 电感耦合等离子体质谱仪 德国耶拿分析仪器股份公司。

1.2 实验方法

1.2.1 功能离子液体的制备 参考文献[19-21]方法,将 1-(3-氨基丙基)咪唑 15.0 g 溶解在 50 mL 乙腈中,并向该溶液逐滴滴加溶解了 12.0 g 异硫氰酸甲酯的 40 mL 乙腈溶液,10~20 °C 冰浴搅拌反应 40 min。在滴加过程中逐渐产生白色絮状沉淀,沉淀会不断凝结成块状,抽滤得到白色粉末状产物。将全部白色粉末置于 100 mL 烧瓶中,加入 12.0 g 氯丁烷和 50 mL 乙腈做溶剂,在 85 °C 条件下回流反应 8~12 h,旋蒸除去乙腈得到粘稠的金黄色液体。用超纯水溶解粘稠物后,用乙酸乙酯洗涤水相,直至水相中无明显异硫氰酸甲酯的刺激性气味。得到 1-(3-苯基硫脲基丙基)-3-丁基咪唑溴化盐([HBPSM]Br)的水溶液。向水溶液中加入 24.0 g 六氟磷酸钾,搅拌 30 min,静止,出现分层,下层为目标产物 1-(3-苯基硫脲基丙基)-3-丁基咪唑六氟磷盐([HBPSM]PF₆),倾倒入上层水相,用去离子水多次洗涤下层离子液体,直至洗涤液中加入硝酸银溶液不产生沉淀。75 °C 条件下,将功能离子液体干燥除去水分,待用。

1.2.2 罗丹明 B 荧光探针溶液制备 参考文献[22-23]的实验原理及合成方法,称取 2.0 g 罗丹明 B 于 200 mL 三口烧瓶中,加入甲醇 30 mL,超纯水 70 mL;置于磁力搅拌器上加热至微沸腾状态,不断搅拌。搅拌过程中逐滴加入水合肼 10 mL。该反应中罗丹明 B 于水合肼反应生成几乎无色的荧光探针,所以试验现象从烧瓶中很深的紫红色,逐渐变为淡黄棕色,说明反应完全。反应液中加入 5 g 活性炭粉,充分吸附杂质后过滤到鸡心瓶中。旋转蒸发除去甲醇溶剂,此时鸡心瓶内壁附着细淡橙黄色晶体,该晶体为罗丹明 B 荧光探针。冷却后,弃去全部溶剂,将得到的晶体在 50 °C 下减压干燥 4 h。精确称取荧光探针晶体 150 mg,溶于 100 mL 甲醇中,得到荧光探针溶液。

1.2.3 前处理泡腾片制备 参考文献[24]方法称取 2.0 g 硼氢化钾粉末放入 10 mm 模具压片槽中,挤压成固体药片,药片直径为 10 mm,厚度约为 2.5 mm;在 12 mm 模具压片槽中加入 0.5 g 柠檬酸和 0.3 g 碳酸氢钠混合物,放入硼氢化钾药片,再加入 0.5 g 柠檬酸和 0.3 g 碳酸氢钠混合物,挤压成固体药片,药片直径为 12 mm,厚度约为 4 mm。

1.2.4 粮食样品前处理 参考文献[25]中前处理设

备,见图 1 所示。将粮食样品粉碎过 100 目筛后待用。称取过筛后的粮食样品 5.0 g,放入气体发生装置并加入 50 mL 超纯水。向气体收集装置中加入 5 mL 0.3% 的稀硝酸溶液。连接好磨口导管和气体收集装置,向盛有样品的气体发生装置中加入 3 片泡腾片,迅速连接气体发生装置和磨口导管。气体发生装置内开始有少量气泡产生,1 min 后出现大量气泡,再等待 2 min,待气泡完全消失,取下气体收集装置,将其中液体倒入 15 mL 离心管中,并加入 0.2 mL 功能离子液体,加入 0.5 mL 荧光探针溶液,涡旋 1 min,静置 1 min,出现分层,上层为水溶液层,下层为功能离子液体层,该离子液体层会吸附水溶液层中罗丹明 B 荧光探针和汞离子形成的络合物。整个体系由于汞离子含量不同显现出不同深浅的玫红色。弃去全部上层清液,向下层离子液体中加入 0.3 mL 乙腈。轻轻摇晃,使乙腈溶液均匀,得到样品待测溶液。

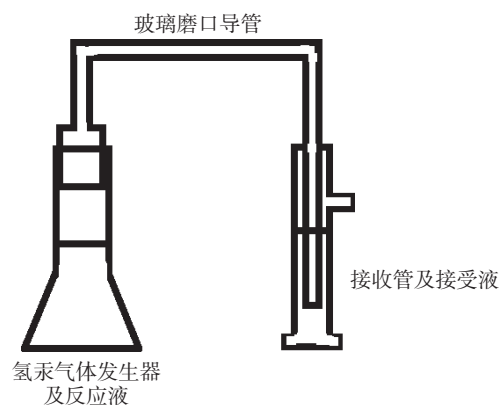


图 1 样品前处理装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of the sample pre-treatment device

1.2.5 标准曲线绘制 以 0.3% 稀硝酸为溶剂,分别配制 0.0、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0 ng/mL 不同浓度的汞离子标准溶液各 5 mL,加入 0.2 mL 功能离子液体,加入 0.5 mL 荧光探针溶液,涡旋 1 min,静置 1 min,出现分层,弃去全部上层清液,向下层离子液体中加入 0.3 mL 乙腈,轻轻摇晃,得到汞离子标准系列乙腈溶液。在 550 nm 波长下,检测样品待测溶液和标准系列溶液的吸光度,以吸光度为纵坐标,汞离子浓度为横坐标绘制标准曲线。计算样品中汞离子含量。

1.2.6 气体发生装置产气效率以及气体吸收装置吸附效率验证 该实验中 Hg 从样品中被还原并生成氢汞气体,被样品接收液接收,与罗丹明 B 探针结合,再被功能离子液体吸附。为保证整个试验的准确度和稳定性,必须要求 Hg 在每一次转移或转化步骤中效率最高,损失最少。取三批次 Hg 含量不同的米粉阳性样品按照 1.2.4 步骤,从“称取过筛后的粮食样品 5.0 g”处理到“待气泡完全消失,取下气体收集装置”为止。用 ICP-MS 方法(参考文献[26]方法)分别对残留米粉样品,气体发生装置中溶液,气体收

集装置中溶液中的 Hg 含量进行检测。ICP-MS 样品前处理方法如下:精密称取 0.200~0.500 g 样品,置于聚四氟乙烯消解罐内,加硝酸 5.0 mL,混匀,浸泡过夜,盖好内盖,旋紧外套,置于微波消解炉内,进行消解。测定时,将待测液过 0.22 μm 微孔滤膜后,进入 ICP-MS 测定。从样品中 Hg 残留量,气体发生装置溶液中 Hg 残留量和气体收集装置溶液中 Hg 含量对汞气体的产气效率及吸附效率进行评价。汞气体的产气效率(%)=(样品中 Hg 含量-暴气后样品中残余 Hg 含量) $\times$ 100/样品中 Hg 含量;吸附效率(%)=气体收集装置溶液中 Hg 含量 $\times$ 100/(样品中 Hg 含量-暴气后样品中残余 Hg 含量)。

1.2.7 功能离子液体吸附效率验证 取三批次 Hg 含量不同的米粉阳性样品按照 1.2.4 步骤,从“称取过筛后的粮食样品 5.0 g”处理到“静置 1 min,出现分层”为止。用 ICP-MS 方法分别对气体收集装置中溶液,功能离子液体中的 Hg 含量进行检测。气体收集装置溶液中 Hg 残留量和功能离子液体中 Hg 含量对离子液体吸附效率进行评价。离子液体吸附效率(%)=离子液体中 Hg 含量 $\times$ 100/吸附前气体收集装置溶液中 Hg 含量。

1.2.8 方法准确度及精密度验证 取三批次 Hg 含量不同的米粉质控样品按照 1.2.4 步骤进行样品前处理,按照 1.2.5 步骤检测 Hg 的含量。每批次样品同时做 6 次平行。同时用 ICP-MS 方法处理并检测上述三批次质控样品,每批次样品同时做 6 次平行。以样品的检测值与样品真实值的百分比为回收率,评价准确度。以六组平行样品检测值的相对标准偏差 RSD 值评价精密度。

1.2.9 方法检出限验证 按照 1.2.4 和 1.2.5 步骤处理并检测 20 批次面粉空白样品,得到 20 组吸光度结果。20 组吸光度结果的标准偏差为 S。以 5 倍的 S 为最低可识别信号,其所对应的 Hg 浓度为最低可检测浓度,即方法检出限。由理论计算出的方法检出限为 LOD,按照该检出限数值在阴性样品中加入 Hg 标准,使阴性样品中 Hg 含量达到理论 LOD 数值,按照 1.2.4 和 1.2.5 步骤处理并检测,验证该方法在检出限浓度时是否出现假阴性。

1.2.10 泡腾片的使用对检测结果的影响 本实验原理为,硼氢化钾与样品粉末中 Hg 反应生成汞气体,被收集到集气装置的接受液中。为研究泡腾片使用的特性,按照 1.2.4 步骤,对三批次 Hg 含量不同的米粉阳性样品进行处理并检测。并将 1.2.4 步骤中“向盛有样品的气体发生装置中加入 3 片泡腾片”的操作替换为“向盛有样品的气体发生装置中加入 6 g 硼氢化钾”,作为对照实验。

1.2.11 探针专一性验证 在 Hg 含量为 2.0 ng/g 的阳性样品中,加入含有 16 种金属离子(钠、钾、钙、镁、钡、铝、铜、铁、锌、锰、铬、镉、钛、锡、铅、砷)的溶液干扰,分别添加 2.0、10.0、50.0 ng/g 三组不

同浓度的干扰离子,每组浓度 3 平行样品,使用本文自建的检测方法检测。

1.2.12 实际样品应用 随机采集农贸市场和超市中的面粉、大米、玉米糝、玉米粉样品各 5 批次,分别用本方法和 ICP-MS 方法检测。

1.3 数据处理

本研究中所得到的数据,利用公式法和对比法进行分析处理,校准曲线绘制过程,每个浓度的校准点在平行条件下配制 3 组,测定后得到平均值。其他实验数据没有特殊说明的情况下均为双平行的平均结果。实验数据由 Excel 表格汇总处理。

2 结果与分析

2.1 线性方程

按照 1.2.5 步骤配制 0.0、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0 ng/mL 的标准溶液,在 550 nm 波长下吸光度为纵坐标,汞离子浓度为横坐标绘制标准曲线。得到标准曲线各浓度点显色如图 2 所示。

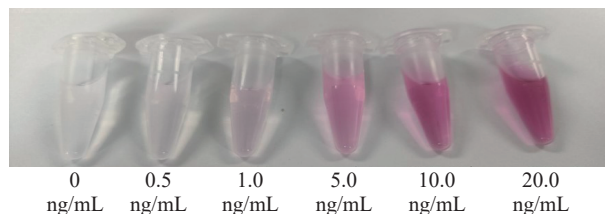


图 2 标准曲线各浓度点显色效果图

Fig.2 Schematic diagram of the sample pre-treatment device

该方法中,待测液中 Hg 含量在 0.5~20.0 ng/mL 范围内成良好线性,拟合的线性方程为 $y=0.0389x-0.0147$,相关性系数为 0.9998。假设在理想状况下,5.0 g 样品中的 Hg 全部转移到 5 mL 接收液中形成一定浓度的待测液,那么待测液对应的样品中 Hg 含量范围在 0.5~20.0 ng/g,同样呈现良好线性。

2.2 产气效率以及气体吸附效率验证

用 ICP-MS 方法分别对米粉原样,残留米粉样品,气体发生装置中溶液,气体收集装置中溶液中的 Hg 含量进行检测。检测结果如表 1 所示。

由表 1 结果可知,样品被硼氢化钾泡腾片还原反应后,样品中超过 90% 的 Hg 可以被还原成汞气体,产气效率为 92.94%~97.71%。气体发生装置中的残留样品中 Hg 残留量在 2.29%~8.06%,气体发生装置中反应溶液中 Hg 残留量未检出。气体吸收装置溶液的吸附效率为 97.66%~99.49%。完全可以满足良好回收率的要求。

2.3 离子液体吸附效率验证

用 ICP-MS 方法分别对米粉原样,气体收集装置中溶液,功能离子液体中的 Hg 含量进行检测。检测结果如表 2 所示。

由表 2 结果可知,气体收集装置中的接收液加入功能离子液体振荡萃取后,超过 90% 的 Hg 被离子液体吸附。接收液中 Hg 残留量小于 5%。说明该

表 1 米粉样品, 残留样品及溶液中汞含量检测结果

Table 1 Results of testing mercury content in rice flour samples, residual samples and solutions

样品序号	样品检测结果 (ng/g)	残留米粉样品检测结果 (ng/g)	氢汞气体产气效率 (%)	气体发生器中溶液检测结果 (ng/mL)	气体收集装置中溶液检测结果 (ng/mL)	吸附效率 (%)
米粉1号	1.29	0.104	92.94	0.00(未检出)	1.18	99.49
米粉2号	3.33	0.152	95.44	0.00(未检出)	3.15	99.12
米粉3号	9.84	0.225	97.71	0.00(未检出)	9.39	97.66

表 2 米粉样品, 接收液, 离子液体中汞含量检测结果

Table 2 Results of testing mercury content in rice flour samples, receiving liquid and ionic liquid

样品序号	样品检测结果 (ng/g)	离子液体萃取后气体发生器中 溶液检测结果(ng/mL)	残留量 (%)	未经离子液体萃取5 mL接收液中汞 的理论含量(ng)	离子液体中汞的含量 (ng)	吸附效率 (%)
米粉1号	1.29	0.064	4.96	5.90	5.71	96.78
米粉2号	3.33	0.074	2.22	15.75	15.26	96.89
米粉3号	9.84	0.077	0.78	46.95	45.91	97.78

离子液体对 Hg 吸附速度快, 吸附能力很强。综合 2.2 和 2.3 所得实验结果可知, 样品中的 Hg 在转移和转化过程中损失很少, 总体转移率 $\geq 90\%$ 。这也确保了本实验良好的准确性和稳定性。

2.4 准确度、精密度验证

用本方法和 ICP-MS 方法分别处理并检测三批次质控米粉样品。以回收率评价方法准确性, 以 RSD 值评价方法稳定性。检测结果如表 3 所示。

表 3 方法的准确度及精密度

Table 3 The accuracy and precision of the method

样品 序号	Hg含量质 控理论值 (ng/g)	本方法 检测结果 (ng/g)	回收率 (%)	RSD (%)	ICP-MS 检测结果 (ng/g)	回收率 (%)	RSD (%)
米粉1号	1.22±0.21	1.24	101.64	4.76	1.06	86.89	2.89
		1.25	102.46		1.09	89.34	
		1.17	95.90		1.12	91.80	
		1.11	90.98		1.15	94.26	
		1.15	94.26		1.11	90.98	
		1.23	100.82		1.08	88.52	
米粉2号	3.41±0.32	3.35	98.24	2.78	3.29	98.80	2.80
		3.26	95.60		3.31	99.40	
		3.19	93.55		3.22	96.70	
		3.29	96.48		3.34	100.30	
		3.44	100.88		3.16	94.89	
		3.22	94.43		3.11	93.39	
米粉3号	10.11±0.68	10.25	101.38	2.76	9.28	91.79	2.80
		9.87	97.63		9.74	96.34	
		10.12	100.10		9.68	95.75	
		10.22	101.09		9.24	91.39	
		9.78	96.74		9.53	94.26	
		9.56	94.56		9.42	93.18	

由表 3 可知, 该方法评价准确度的回收率在 90.98%~102.46%, 精密度 RSD 在 2.76%~4.76%, 其中低浓度样品由于操作随机误差较大, 导致结果偏差较大, 稳定性不及较高浓度样品, 但同样满足样品检测的方法学要求。文献 [14] 中利用探针比色法关于虾样品中 Hg 检测回收率在 82.87%~122.25% 之间, 相对标准偏差(RSD)小于 13.3%。本方法与其相比回收率和结果稳定性更优。本研究方法中, ICP-MS

方法回收率在 86.89%~100.30%, 精密度为 2.80%~2.89%, ICP-MS 方法回收率偏低, 但是精密度非常好。这是由于在低浓度样品处理过程中需要加热赶酸, 会导致 Hg 散失, 所以回收率偏低。

2.5 方法检出限验证

按照 1.2.9 步骤同时检测 20 份阴性面粉样品, 检测结果如表 4 所示。

表 4 方法的检出限

Table 4 The detection limit of the method

20份阴性面粉样品吸光度				
0.0021	0.0018	0.0027	0.0022	0.0019
0.0014	0.0015	0.0012	0.0021	0.0016
0.0024	0.0023	0.0014	0.0019	0.0021
0.0020	0.0025	0.0019	0.0017	0.0013
标准偏差(噪声)			0.00049	
5倍噪声			0.00245	
最低检测浓度理论值(ng/mL)			0.44	

由表 4 可知, 得到 20 组吸光度标准偏差 S 为 0.00049, 该数值为噪声, 以 5 倍噪声 0.00245 为吸光度, 该吸光度带入线性方程得到检测结果为 0.44 ng/mL, 该结果就是本实验稀释倍数为 1, 所以方法检测限理论值为 0.5 ng/g。将理论值浓度附近加标进行验证, 验证结果如表 5 所示。

表 5 检出限验证结果

Table 5 Detection limit verification result

样品序号	加标浓度(ng/g)	检测结果(ng/g)	回收率(%)	RSD(%)
1号加标样品	0.5	0.33	66.00	32.05
		0.61	122.00	
		0.41	82.00	
2号加标样品	1.0	0.95	95.00	7.36
		0.90	90.00	
		1.04	104.00	

由表 5 可知, 当阴性样品加标量为 0.5 ng/g 时, 检测结果回收率为 66.00%~122.00%, RSD 值为 32.05%, 不符合检测方法要求。当样品中 Hg 含量为 0.5 ng/g 时, 该方法无法准确进行定量检测, 所以

本方法不采用理论上的检出限 0.5 ng/g。当阴性样品加标量为 1.0 ng/g 时,检测结果回收率为 90.00%~104.00%, RSD 值为 7.36%, 满足方法学准确度和精密度要求。所以该方法检出限定为 1.0 ng/g。文献 [11] 中利用二苯碳酰二肼制备的 Hg 快速检测试纸检出限为 3 $\mu\text{g/mL}$, 本方法利用灵敏度更高的荧光探针技术, 灵敏度超过现有试纸比色法所列内容。文献 [14] 中探针对 Hg 的检出限为 $8.33 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, 即 16 $\mu\text{g/mL}$, 由于本方法使用功能离子液体做富集的载体, 使灵敏度大幅提高, 所以灵敏度远超过现有探针检测技术。

2.6 泡腾片的使用对实验结果的影响

按照 1.2.10 步骤, 同时用 ICP-MS 方法检测三批次米粉样品, 检测结果如表 6 所示。

表 6 泡腾片辅助提取对比结果
Table 6 Extraction and comparison of effervescent tablets

样品序号	Hg 含量理论值 (ng/g)	ICP-MS 检测结果 (ng/g)	本方法检测结果 (ng/g)	本方法不使用泡腾片检测结果 (ng/g)
米粉1号	1.22±0.21	1.08	1.11	0.74
米粉2号	3.41±0.32	3.21	3.26	2.54
米粉3号	10.11±0.68	9.58	9.77	8.14

由表 6 可知, 按照不使用泡腾片辅助提取, 检测结果明显偏低, 文献 [11] 中, 也未使用泡腾片辅助, 仅使用暴气装置, 其 1 $\mu\text{g/mL}$ 浓度回收率试纸与标准试纸相比, 颜色更淡, 有明显色差, 说明回收率较低。不使用泡腾片辅助萃取, 反应速度过快, 不可控制。当加入硼氢化钾时, 反应已经开始, 在连接导气管的过程中会有不同程度的氢汞气体溢出气体发生装置, 所以检测结果偏低, 且随机误差不可以通过计算等方式消除。检测结果为理论值的 60.65%~80.51%。使用泡腾片辅助提取的方法, 检测结果稳定, 准确。因为该泡腾片外层是产生二氧化碳气体的柠檬酸和碳酸氢钠, 该反应速度较慢, 需要 1 min 才能暴露内部的硼氢化钾药剂, 有足够的时间连接导管和气体发生器。当硼氢化钾与样品接触时, 样品已经被二氧化碳气体冲散, 形成悬浊液, 更容易与硼氢化钾接触反应, 使反应更充分。其检测结果为质控样品理论值的 90.98%~96.64%, 所以泡腾片的使用可以有效控制产气反应的速率, 在后续反应中提高氢汞气体的生成速率, 在本实验中起到关键作用。

2.7 探针专一性实验

按照 1.2.11 步骤, 检测及对比结果如表 7 所示。

由表 7 可知, 对于不同浓度干扰离子的加标样品检测结果回收率 92.0%~107.5%, RSD 在 3.40%~7.88% 范围内。证明该方法中, 常见的 16 种金属离子对 Hg 的检测不产生明显影响。该方法和该探针体系具有专一性。结果表明, 在大量干扰离子存在的条件下, 该探针体系仍然能较专一的与样品中的 Hg^{2+} 结合, 并发生显色反应。且基质对该方法不产生明显的干扰现象。证明该方法在实际样品检测

中具有可行性和一定的优势。

表 7 干扰离子对检测方法的影响
Table 7 The effect of interfering ions on the detection method

干扰离子加标量 (ng/g)	汞离子加标量 (ng/g)	显色现象	实测浓度 (ng/g)	回收率 (%)	RSD (%)
2.0		微红色	1.91	95.5	3.40
		微红色	1.85	92.5	
		微红色	1.98	99.0	
		微红色	2.04	102.0	
10.0	2.0	微红色	2.11	105.5	4.21
		微红色	1.94	97.0	
		微红色	1.84	92.0	
50.0		微红色	1.96	98.0	7.88
		微红色	2.15	107.5	

2.8 实际样品应用

总计 20 批次样品, 使用本方法检测得到, 其中 18 份样品为阴性样品含量小于 1 ng/g, 视为未检出。1 份大米样品 Hg 含量为 4.3 ng/g, 1 份玉米粉样品 Hg 含量为 3.2 ng/g。使用两套暴气设备, 耗时 55 min 检测完成。使用 ICP-MS 方法检测得到, 同样 18 份样品为阴性样品含量小于 1 ng/g。同样的大米样品 Hg 含量为 4.1 ng/g, 同样的玉米粉样品 Hg 含量为 3.9 ng/g。20 批次样品同时进行微波消化, 定容检测, 耗时 8 h。这说明在实际样品检测实验中本研究建立的方法同样可以满足定性定量快速检测的目的。

3 结论

本方法利用硼氢化钾泡腾片辅助提取粮食样品中的 Hg, 通过罗丹明 B 荧光探针显色的方法检测样品中 Hg 的含量。该方法准确度良好, 回收率达到 90.98%~102.46%; 检测结果稳定, RSD% 在 2.76%~4.76% 范围内; 灵敏度满足粮食样品中 Hg 最高限量要求, 方法检出限达到 1.0 ng/g; 选择性强, 在其他 16 种金属离子共存条件下, 实验回收率为 92.0%~107.5%, RSD 在 3.40%~7.88% 范围内, 同样满足检测准确度和精密度要求; 并且样品浓度在 0.5~20.0 ng/g 范围内成良好线性。同时对该方法试验过程中, Hg 转移及转化的效率, 做了详细验证。泡腾片产气效率为 92.94%~97.71%; 气体吸收装置溶液的吸附率为 97.66%~99.49%; 离子液体对 Hg 的富集效率为 96.78%~97.78%; 20 批次实际样品检测耗时 55 min。均满足检测粮食样品的要求。实验操作要求低, 相对节约试剂, 更加环保低能耗。可以推广在大批量样品快速筛查过程中使用。

参考文献

- [1] 冯新斌, 史建波, 李平, 等. 我国汞污染研究与履约进展[J]. 中国科学院院刊, 2020, 35(11): 1344-1348. [FENG X B, SHI J B, LI P, et al. Research and performance of mercury pollution in China[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2020, 35(11): 1344-1348.]
- [2] 吴丽珠, 高红梅, 马英. 上海市青浦区主要市售谷物及其制品的铅、镉、汞污染及健康风险评估[J]. 上海预防医学, 2019, 31(6):

- 451–456. [WU L Z, GAO H M, MA Y. Lead, cadmium and mercury pollution and health risk assessment for main marketed grain and its products in Qingpu District of Shanghai[J]. Shanghai Journal of Preventive Medicine, 2019, 31(6): 451–456.]
- [3] 王艳敏, 周鸿, 熊丽, 等. 江西省蔬菜中重金属污染状况调查及评价[J]. 现代预防医学, 2020, 47(7): 1202–1206. [WANG Y M, ZHOU H, XIONG L, et al. Heavy metal pollution in vegetables, Jiangxi Province[J]. Modern Preventive Medicine, 2020, 47(7): 1202–1206.]
- [4] 法焕宝, 闫兴菊, 尹伟, 等. 单羟基卟啉分光光度法测定金属铅, 汞离子[J]. 广东化工, 2010, 38(1): 154–156. [FA H B, YAN X J, YI W, et al. Determination of metallic lead and mercury ions by mono-hydroxyporphyrin spectrophotometry[J]. Guangdong Chemical Industry, 2010, 38(1): 154–156.]
- [5] 张夏红, 董雁, 荀瑞芝, 等. 1-(4-二甲氨基苯亚甲基氨基)-4-甲基硫脲的合成及荧光猝灭法测定海产品中的微量汞[J]. 化学研究与应用, 2020, 32(10): 1839–1846. [ZHANG X H, DONG Y, XUN R Z, et al. Synthesis of 1-(4-dimethyl aminobenzylidene) -4-methyl-thiourea and flucenorese quenching determination of trace mercury in sea products[J]. Chemistry Research and Application, 2020, 32(10): 1839–1846.]
- [6] 操江飞, 韦寿莲, 廖根成. 纳米银溶胶催化氧化-分光光度法快速测定水中汞[J]. 理化检验: 化学分册, 2020, 56(7): 816–821. [CAO J F, WEI S L, LIAO G C. Rapid Determination of mercury in water by catalytic oxidation of nanometer silver sol and spectrophotometry[J]. Physical Testing and Chemical Analysis(Part B: Chemical Analysis), 2020, 56(7): 816–821.]
- [7] 贺爱珍. 吹扫捕集-气相色谱-冷原子荧光光谱法测定水中烷基汞的方法研究[J]. 科学技术创新, 2021(21): 40–42. [HE A Z. Determination of alkylmercury in water by purge and capture gas chromatography-cold atomic fluorescence spectrometry[J]. Scientific and Technological Innovation, 2021(21): 40–42.]
- [8] 郑明, 廖红卫, 吴俊慧, 等. ICP-MS 法测定马来酸艾维替尼中钯, 砷, 镉, 汞, 铅的残留量[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(5): 837–842. [ZHENG M, LIAO H W, WU J H, et al. Determination of Pd, As, Cd, Hg and Pb residue in avitinib maleate by ICP-MS[J]. Chin J Pharm Anal, 2020, 40(5): 837–842.]
- [9] 张春华, 陈春桃, 韩必恺, 等. ICP-MS 测定 5 种中药注射液中重金属及有害元素[J]. 中国测试, 2020, 46(1): 71–76. [ZHANG C H, CHEN C T, HAN B K, et al. Determination of heavy metals and harmful elements in five traditional Chinese medicine injections using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)[J]. China Measurement & Test, 2020, 46(1): 71–76.]
- [10] 徐迪伟, 陈荣乐. ICP-MS 检测饮用水中 31 种元素的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(19): 2761–2764. [XU D W, CHEN R L. Study on the determination of 31 metal elements in drinking water by inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Chin J Health Lab Tec, 2017, 27(19): 2761–2764.]
- [11] 杜庆鹏, 陈安珍, 田金改, 等. 中药材中重金属汞快速检测试纸方法研究[J]. 中国药事, 2010, 24(12): 1175–1177. [DU Q P, CHEN A Z, TIAN J G, et al. Study on method for rapid determination of mercury in traditional Chinese medicines[J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2010, 24(12): 1175–1177.]
- [12] 肖情, 陈琳, 李雨晴, 等. 汞离子电化学传感器的研究与应用[J]. 化学传感器, 2019, 38(2): 41–50. [XIAO Q, CHEN L, LI Y Q, et al. Research and application of electrochemical sensor for mercury ion[J]. Chemical Sensors, 2019, 38(2): 41–50.]
- [13] 柳心梅, 田巍, 冯春梅, 等. 重金属镉特异性抗体的制备及 icELISA 检测方法的建立[J]. 现代食品科技, 2020, 36(8): 325–332. [LIU X H, TIAN W, FENG C M, et al. Preparation of specific antibody to cadmium and establishment of icELISA detection method[J]. Modern Food Science & Technology, 2020, 36(8): 325–332.]
- [14] 管怡晗, 黎广进, 刘盛华, 等. 汞离子比色型荧光探针的合成与性质[J]. 环境化学, 2021, 40(8): 2544–2550. [GUAN Y H, LI G J, LIU C H, et al. Synthesis and properties of colorimetric fluorescent probe for mercury ions[J]. Environmental Chemistry, 2021, 40(8): 2544–2550.]
- [15] ZHANG M, LIU F, KE X, et al. Polyaspartamide fluorescent probe containing rhodamine B and sulfadiazine groups for molecular imaging and diagnosis[J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 2020, 40(4): 938.
- [16] ZHANG K, ZHANG J M. A fluorescent probe for the detection of Hg^{2+} based on rhodamine derivative and modified CdTe quantum dots[J]. Research on Chemical Intermediates, 2020(46): 987–997.
- [17] JANSSEN C. Heavy metal extractions from NaCl brines to pseudoprotic ionic liquids[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2021, 60(4): 1808–1816.
- [18] PRADEEP K, ASHOK K. Extraction of uranium from aqueous solution of nitric acid and organic solvent using ionic liquid[J]. Asian Journal of Chemistry: An International Quarterly Research Journal of Chemistry, 2021, 33(1): 43–48.
- [19] IMDAD S, DOHARE R K. A critical review on heavy metals removal using ionic liquid membranes from the industrial wastewater[J]. Chemical Engineering and Processing - Process Intensification, 2022, 173: 108812–1–108812–13.
- [20] HANOOO H D, KOWSARI E, ABDOUSS M, et al. Efficient preparation of acidic ionic liquid-functionalized reduced graphene oxide and its catalytic performance in synthesis of benzimidazole derivatives[J]. Research on Chemical Intermediates, 2017, 43(3): 1751–1766.
- [21] 王璐, 张珍, 洪霞, 等. 混合型功能离子液体用于复杂基质样品中汞离子检测的研究[J]. 云南化工, 2018, 45(10): 91–93. [WANG L, ZHANG Z, HONG X, et al. Study on mercury ion detection in complex matrix samples by mixed functional ionic liquids[J]. Yunnan Chemical Technology, 2018, 45(10): 91–93.]
- [22] CHEN D D, MAO H L, HONG Y N. Hexaphenyl-1, 3-butadiene derivative: A novel "turn-on" rapid fluorescent probe for intraoperative pathological diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Materials Chemistry Frontiers, 2021, 4(9): 2716–2722.
- [23] YANG Y, LI R, ZHANG S, et al. A fluorescent nanoprobe based on cell-penetrating peptides and quantum dots for ratiometric monitoring of pH fluctuation in lysosomes[J]. Talanta, 2021, 227: 122208.
- [24] 张嘉莹, 赵丹, 曹晨阳, 等. 泡腾辅助-悬浮固化-分散液液微萃取结合液相色谱法测定食醋中多效唑和异丙甲草胺农药残留[J]. 分析试验室, 2018, 37(11): 1282–1284. [ZHANG J Y, ZHAO D, CAO C Y, et al. Effervescent assisted solidification of floating organic droplet dispersion liquid-liquid microextraction combined with HPLC for the detection of pesticides in vinegar[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2018, 37(11): 1282–1284.]
- [25] 张桂芳. 砷斑法对饲料砷中毒含量的测定[J]. 现代畜牧科技, 2014(5): 227–227. [ZHANG G F. Determination of arsenic poisoning in feed by arsenic spot method[J]. Technical Advisor for Animal Husbandry, 2014(5): 227–227.]
- [26] 刘慧, 孙秀兰. 微波消解-ICP-MS 法测定红薯中 18 种元素[J]. 粮食与饲料工业, 2021(1): 67–71. [LIU H, SUN X L. Determination of 18 elements in sweet potato by microwave digestion ICP MS[J]. Cereal & Feed Industry, 2021(1): 67–71.]