

气相色谱法测定肉制品中甲基汞

丁红梅, 朱 云, 张 霞, 陈丹丹
(南通市产品质量监督检验所, 江苏 南通 226011)

摘 要: 研究肉制品中甲基汞检测方法。利用盐酸超声浸提样品后, 将样品提取液用氯化钠盐析-苯萃取的方法, 提取出各类食品中的甲基汞, 建立了气相色谱法(附电子捕获检测器)测定食品中甲基汞的方法。本方法相对标准偏差1.31%~3.99%, 检出限为0.01mg/kg, 回收率在86.4%~98.9%之间, 具有操作简便快速、灵敏度高等优点。

关键词: 食品; 甲基汞; 检测

Determination of Methylmercury in Meat Products by GC-MS

DING Hong-mei, ZHU Yun, ZHANG Xia, CHEN Dan-dan
(Institute of Nantong Products Quality Supervision and Inspection, Nantong 226011, China)

Abstract: This paper presents a gas chromatographic (GC) method method to determine methylmercury in meat products. Samples were extracted by sonication with hydrochloric acid, and the resulting extract was then salted out by the addition of sodium chloride and further extracted with benzene so as to separate methylmercury prior to detection with an electron capture detector (ECD). The limit of detection of the presented method was 0.01 mg/kg, and average spike recoveries ranged from 86.4% to 98.9% with relative standard deviations of 1.31% to 3.99%. This method was rapid, simple and sensitive.

Key words: food; methylmercury; detection

中图分类号: TS207.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-8123(2013)05-0014-03

有机汞中的甲基汞是亲脂性毒物, 甲基汞对人类的风险在于其生物致畸作用, 神经毒性和免疫毒性反应^[1]。发生甲基汞中毒的表现主要有: 神经精神症状有神经衰弱综合征, 精神障碍、谵妄、昏迷、瘫痪、震颤、共济失调、向心性视野缩小等; 发生口腔炎, 口服引起急性胃肠炎; 可发生肾脏损害, 重者可致急性肾功能衰竭, 此外尚可致心脏、肝脏损害, 可致皮肤损害^[2]。另外由于甲基汞特别容易富集在捕食动物体内, 鱼、肉通常被认为是人类食品中汞的主要来源, 所以测定食品中甲基汞的含量非常必要。

目前, 国标中甲基汞的分析采用气相色谱法, 该方法其前处理过程易出现乳化现象, 而且气相色谱用的是填充柱, 容易出现重复性不高, 消耗载气量大, 灵敏度低。当前食品安全事件频频发生, 检测标准远远跟不上事件发生, 建立一个快速、准确、简便测定食品中甲基汞的方法, 对于日益严峻的食品安全监管显得更为迫切。本实验采用样品以盐酸超声浸提后使用氯化钠盐析-苯萃取的方法, 利用程序升温分离样品中的甲基汞, 建立了气相色谱仪测定食品中甲基汞的方法, 得到了满意的结果。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

儿童海苔肉酥、蟹黄鱼圆、烤鱼片、鱼肉灌肠、虾球 市购。

盐酸、氯化钠、苯、无水硫酸钠皆为分析纯; 水为Millipore超纯水; 甲基汞标准品(2.0μg/mL) 国家标准物品中心。

1.2 仪器与设备

6890N气相色谱仪(配电子捕获检测器(μECD)) 美国Agilent公司; Biofuge Stratos冷冻高速离心机 美国Thermo Fisher公司; JHX2H涡旋混合仪 北京京辉凯业科技有限公司; FS-1012FPM超声波清洗仪 常州市富怡达超声波设备有限公司。

1.3 样品处理

称取2.00g粉碎的食品, 加入2g氯化钠进行研磨, 含盐量比较高的食品可以不加氯化钠如水产品等。用25mL盐酸(1+9)把样品洗入100mL具塞离心管中, 调整液面至刻度, 涡旋振摇2min, 超声提取30min, 滤液用2.0mL精制苯振荡萃取5min, 静置分层后, 于10000r/min离心

收稿日期: 2013-03-19

作者简介: 丁红梅(1978—), 女, 高级工程师, 硕士, 研究方向为食品添加剂和污染物检测。E-mail: dhm7801@126.com

5min, 取苯层过无水硫酸钠后吸取2mL苯层萃取液上气相色谱仪进行测定。

1.4 检测方法

1.4.1 仪器条件

微电子捕获检测器(μ ECD), 检测器温度: 280℃; 进样口温度: 250℃; 分流比: 5:1; 进样体积1.0 μ L; 柱温200℃。

1.4.2 标准曲线

取甲基汞标准溶液用苯配制成0、10、20、30、40、50 μ g/mL标准系列点, 注入气相色谱仪测定, 以甲基汞溶液浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制曲线。

2 结果与分析

2.1 预处理选择

由于甲基汞在生物组织中容易与硫高度亲和, 所以必须破坏硫化物使其转变为卤代烷基汞, 这种处理过程需要化学处理使其提取至有机溶剂中, 通常实验室常见的提取甲基汞的方法主要为碱消化萃取法和酸浸提法^[3]。

碱消化萃取是一种以碱为浸取液的浸取过程, 这是一个碱与盐的复分解过程。食品基质复杂, 含脂类高, 有的蛋白质含量也较高, 故而碱解成为分析食品样品常用的一种方法。常用的碱解试剂为四甲基氢氧化铵甲醇溶液、四甲基氢氧化铵水溶液、氢氧化钾甲醇溶液等^[4]。

酸浸溶剂萃取方法其原理是在酸性环境中用苯萃取甲基汞, 需要进行许多步的重复萃取才能得到纯净的甲基汞苯溶液^[5]。因为苯毒性很高, 近来很多文献报道用毒性较低的二氯甲烷^[6]、正己烷^[7]和甲苯^[8]取代苯进行提取, 再以半胱氨酸、硫代硫酸钠等使之生成水溶性的烷基汞络合物与干扰物质分离净化^[9], 但使用这三类替代品使得整个实验过程变得复杂繁琐, 而且甲苯替代品本身也是具有一定毒性, 由于实验步骤繁琐, 人员长时间接触实际受其毒害更甚。

两种处理方法即碱消化萃取法与酸浸提法相比, 操作步骤更为繁琐, 操作时间较长, 并且需要消耗很多有毒的有机试剂, 一定程度上对操作者造成了安全隐患。

但为了改善酸浸提法在本实验中采用的是用盐酸和氯化钠等试剂从巯基与有机汞的络合物上解析出有机汞, 并将其转化为卤代烷基汞, 另外本实验采用了超声辅助技术进行样品的提取^[10], 不但缩短了操作时间, 且减少了有机汞的污染与损失。

2.2 萃取量选择

分别用0.5、1、2、3、4mL和5mL的苯为提取液进行萃取净化^[11], 萃取效果及甲基汞的回收率结果如表1所示。由表1可知, 萃取溶剂体积2mL以上萃取效果比较好, 但考虑到苯的毒性和实验检测样品量的需要, 本实验选用2mL的苯为萃取溶剂, 即可破除乳化现象, 易于

分层, 且易于取样上自动进样器, 减少甲基汞对人体的直接伤害。

表1 萃取溶剂体积对甲基汞回收率的影响

Table 1 Effect of benzene volume on the recovery of methylmercury

萃取溶剂体积(苯)/mL	效果	回收率/%
0.5	产生乳化, 难以分层; 样量少, 很难取样	12.2~13.4
1.0	产生乳化, 难以分层; 样量少, 较难取样	50.1~60.4
2.0	容易分层, 易取样	90.6~96.8
3.0	容易分层, 易取样	80.6~90.9
4.0	容易分层, 易取样	70.9~80.2
5.0	容易分层, 易取样	56.8~68.2

2.3 进样量选择

本实验研究了0.2、1、2、3 μ L进样量, 0.2 μ L灵敏度偏低, 峰变形, 而2 μ L进样量造成衬管过载, 峰形变宽不对称, 同时会缩短柱子的使用寿命^[12]。当柱流量为1mL/min时, 比较分流比15:1、10:1、5:1、2:1, 结果发现15:1和10:1时峰对称性不好; 若用不分流进样, 会出现有些杂质峰无法完全分开^[13-15]。分流比2:1时有2个峰分离效果差, 因此选择分流比为5:1, 柱流量1mL/min, 进样量1 μ L。

2.4 工作曲线

用甲基汞标准储备液配制成质量浓度0、10、20、30、40、50 μ g/mL的标准工作曲线系列, 该方法的线性回归方程为 $Y=5.32 \times 10^5 X - 3.482 \times 10^3$, 相关系数 $r=0.9998$, 线性范围为0.1~100 μ g/mL。标准品及样品气相色谱图见图1。

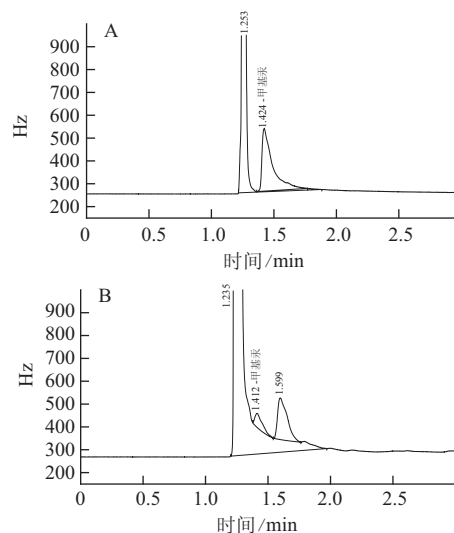


图1 甲基汞标准品(A)和儿童海苔肉酥样品(B)谱图

Fig.1 Chromatograms of methylmercury standard (A) and pork floss for children (B)

2.5 精密度

本实验测定了儿童海苔肉酥、蟹黄鱼圆、烤鱼片、鱼肉灌肠、虾球5种食品中甲基汞, 分别按0.2、0.5、1.0mg/kg三个级别进行加标回收实验。结果见表2。

表2 样品测定值及加标回收率($n=6$)Table 2 Contents and average spike recovery of methylmercury in several commercial meat products ($n=6$)

样品名	测定值/ (mg/kg)	RSD/%	加标回收率/%		
			0.2mg/kg	0.5mg/kg	1.0mg/kg
海苔肉酥	0.16	3.99	86.4	93.6	96.1
蟹黄鱼圆	0.21	1.75	87.2	92.1	94.8
烤鱼片	0.18	2.33	88.1	91.8	93.7
鱼肉灌肠	0.11	2.11	90.0	93.2	95.9
虾球	0.24	1.31	87.9	91.8	98.9

2.6 检测限

以噪声的3倍作为仪器对甲基汞的检出限为 $0.005\mu\text{g/mL}$, 根据2g样品处理过程及仪器检测限得出该方法检出限为 0.01mg/kg 。

3 结论

本实验从样品处理、仪器条件等方面研究了气相色谱法测定食品中甲基汞的最佳实验条件, 利用酸浸提萃取的前处理方法, 分流比为5:1、柱流量 1mL/min 、进样量 $1\mu\text{L}$ 。本方法相对标准偏差 $1.31\%\sim 3.99\%$, 检出限为 0.01mg/kg , 回收率在 $86.4\%\sim 98.9\%$ 之间, 具有操作简便快速、灵敏度高等优点, 建议在基层实验室推广进行食品中甲基汞的检测。

参考文献:

[1] 李春英, 邱炳源. 甲基汞的毒性作用[J]. 中华预防医学杂志,

2001, 35(6): 420-421.

- [2] 王贤珍, 徐海滨. 甲基汞在人体内代谢与蓄积[J]. 哈尔滨医科大学学报, 1993, 27(6): 166-169.
- [3] 史潜玉, 刘立, 林杰. 酸提取巯基棉-氢化物发生原子荧光法测定海产品中的甲基汞[J]. 食品与发酵工业, 2012, 42(10): 172-175.
- [4] 蒋红梅. 蒸馏-乙基化GC-CVAFS法测定天然水体中的甲基汞[J]. 中国环境科学, 2004, 19(5): 112-113.
- [5] 阎海鱼, 冯新斌, LIANG Lian. GC-CVAFS法测定鱼体内甲基汞的分析方法研究[J]. 分析测试学报, 2005, 33(6): 108-109.
- [6] CLEVENGER W L, SMITH B W, WINEFORDNER J D. mRNA expression is a relevant tool to identify developmental neurotoxicants using an *in vitro* approach[J]. Toxicol Sci, 2010, 113(5): 95-115.
- [7] CECCATELLI S, DARE E, MOORS M. Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis[J]. Chem Biol Interact, 2010, 188(2): 301-308.
- [8] 赵强, 谭武红. 砷、硒、汞在生物学中的作用[J]. 国外医学: 医学地理分册, 2012, 33(2): 132-136.
- [9] YAMASHIMA T, OIKAWAS. The role of lysosomal rupture in neuronal death[J]. Prog Neurobiol, 2009, 89(5): 343-358.
- [10] LIANG L N, JIANG G B, LIU J F, et al. Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis[J]. Chem Biol Interact, 2010, 188(2): 301-308.
- [11] GB/T 5009.17—2003 食品中总汞及有机汞的测定[S].
- [12] FARLAS S, RODRIGUEZ R E, LEDESMA A, et al. Gene expression profiles in the brain of the neonate mouse perinatally exposed to methylmercury and/or polychlorinated biphenyls[J]. Arch Toxicol, 2010, 84(4): 271-286.
- [14] JIA X, HAN X, WEI C, et al. Methylmercury induces neuro path gical changes with tau hyperphosphorylation mainly through the activation of the c-jun-N-terminal kinase pathway in the cerebral cortex, but not in the hippocampus of the mouse brain[J]. Neurotoxicology, 2009, 30(2): 1000-1007.
- [15] MARGETINOVA J, PELCOVA P H, KUBAN V. Hair mercury level consumption, and cognitive development in preschool children from granad[J]. Environ Res, 615(2): 115-123.