

## 实验技术与方法

超声辅助酸提取-液相色谱-电感耦合等离子体质谱法  
测定鱼肉中 3 种汞形态

张珂,高舸,张钦龙

(成都市疾病预防控制中心,四川 成都 610041)

**摘要:**目的 建立鱼肉中 3 种汞形态的超声辅助酸提取-液相色谱-电感耦合等离子体质谱(LC-ICP-MS)测定法。方法 样品采用超声辅助酸提取,考察了不同浓度盐酸的提取效率,优化了色谱分离条件及电感耦合等离子体质谱分析条件。结果 测定了鱼肉中 3 种汞形态,相对标准偏差值( $n=7$ ) $<5\%$ ,加标回收率在 82%~99% 之间,方法检出限 $<6.2\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。结论 建立的分析方法准确灵敏、简单稳定,适用于鱼肉中痕量汞形态的分析。

**关键词:**汞;甲基汞;乙基汞;二价汞;超声酸提取;液相色谱;电感耦合等离子体质谱;鱼肉;水产品;食品污染物

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2017)05-0581-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2017.05.012

**Determination of inorganic mercury, methyl mercury and ethyl mercury in fish samples  
by liquid chromatogram-inductively coupled plasma mass spectrometry with  
ultrasound-assisted acid extraction procedure**

ZHANG Ke, GAO Ge, ZHANG Qin-long

(Chengdu Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China)

**Abstract: Objective** To establish a method for the determination of three mercury speciation in fish samples by liquid chromatogram-inductively coupled plasma mass spectrometry (LC-ICP-MS) with ultrasound-assisted acid extraction procedure. **Methods** The sample was extracted with acid under ultrasonic condition. The extraction efficiency of different hydrochloric acid concentration was tested and compared. The chromatographic separation conditions and the operation parameters of ICP-MS were optimized. **Results** The content of three species in fish samples was determined. Relative standard deviations were less than 5%. The recoveries were in the range of 82%~99%. The detection limit was 6.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . **Conclusion** The result indicated that the method was accurate, sensitive, simple, stable and was suitable for the determination of trace mercury speciation in fish.

**Key words:** Mercury; methyl mercury; ethyl mercury; inorganic mercury; ultrasound-assisted acid extraction; liquid chromatogram; inductively coupled plasma mass spectrometry; fish; aquatic product; food contaminant

汞是环境中广泛存在的持久性有毒污染物,通过工业“三废”排入自然环境中,造成空气、水体、土壤、植物等污染,其生物体毒性取决于浓度及其形态。环境中金属汞经消化道吸收很少,而在微生物作用下转化成的有机汞具有脂溶性,容易被生物体吸收<sup>[1]</sup>,并可通过食物链富集<sup>[2]</sup>最终进入人体。其代谢周期长,蓄积于肝、肾、脑中,小剂量蓄积也可对人体健康造成严重影响<sup>[3]</sup>,主要为神经毒性,表现为精神和行为障碍,因此,食品中汞及其形态分析尤为重要,GB 2762—2017《食品安全国家标准 食

品中污染物限量》<sup>[4]</sup>对水产动物及其制品的甲基汞限量为 0.5 mg/kg,对肉食性鱼类及其制品的甲基汞限量为 1.0 mg/kg,欧盟对水产品的总汞限量与国标的甲基汞限量一致。

目前,汞形态分析常用的方法有液相色谱-电感耦合等离子体质谱(LC-ICP-MS)法<sup>[5-6]</sup>、液相色谱-原子荧光光谱(LC-AFS)法<sup>[7]</sup>、气相色谱-质谱(GC-MS)法<sup>[8-9]</sup>等,其中以高灵敏度的电感耦合等离子体质谱作为检测器,液相色谱作为分离系统,两者结合而成的 LC-ICP-MS 联用技术已成为汞形态分析的最有效的方法<sup>[6]</sup>。本试验采用不同浓度的 HCl 溶液进行超声辅助提取,以 L-半胱氨酸为离子对试剂,建立了鱼肉中 3 种汞形态的 LC-ICP-MS 测定法。方法的各项分析性能指标,包括精密度、准确度、检出限等均满足

收稿日期:2017-07-07

作者简介:张珂 男 理化检验技师 研究方向为光谱和色谱分析

E-mail:askerts@163.com

痕量汞形态分析的要求,本方法在精密度、检出限等方面优于现行 GB 5009.17—2014《食品安全国家标准食品中总汞及有机汞的测定》中第二篇食品中甲基汞的测定<sup>[10]</sup>(液相色谱-原子荧光光谱联用方法),在前处理中不用酸浸泡过夜,缩短了前处理时间,并且可同时同时对3种汞形态进行定性定量分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

Agilent 7500cx 电感耦合等离子体质谱仪、Agilent 1260 液相色谱仪均购自美国 Agilent, PURELAB PULSE 纯水/PURELAB ULTRA 超纯水系统(英国 LEGA), KQ-500DA 数控超声波清洗器,高速离心机。

甲基汞(GBW08675, MeHg)、乙基汞[GBW(E)081524, EtHg]、汞标准溶液(BW085523)、鱼肉中总汞与甲基汞含量标准物质(GBW10029)均购自国家标准物质中心,甲醇(色谱纯),盐酸、乙酸铵(浓度 $\geq 99\%$ )、L-半胱氨酸(浓度99%)均为优级纯,氨水(分析纯)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标准溶液的配制

二价汞( $\text{Hg}^{2+}$ )标准储备液(10 mg/L):量取0.1 ml 汞标准溶液用1% HCl 溶液定容至10 ml,于4 °C 冰箱中避光保存,可保存1个月。

甲基汞标准储备液(10 mg/L):称取1.5267 g 甲基汞标准品,用甲醇定容至10 ml,于4 °C 冰箱中避光保存,可保存1个月。

乙基汞标准储备液(10 mg/L):称取1.3089 g 乙基汞标准品,用甲醇定容至10 ml,于4 °C 冰箱中避光保存,可保存1个月。

混合标准应用液:临用前,用流动相稀释配制成为100  $\mu\text{g/L}$  的混合标准应用液。

标准系列溶液:分别吸取100  $\mu\text{g/L}$  的混合标准应用液10、20、50、100、200  $\mu\text{l}$  至进样瓶中,各自加入990、980、950、900、800  $\mu\text{l}$  的流动相,配制成为浓度为1.0、2.0、5.0、10.0、20.0  $\mu\text{g/L}$  的标准系列,标准系列应现用现配。

#### 1.2.2 样品前处理

称取鱼肉1 g(精确到0.001 g)于10 ml 离心管中,加入5 ml 0.01 mol/L HCl 溶液,充分振摇后超声提取30 min,4 °C 8 000 r/min 离心10 min,收集上清液于10 ml 比色管中,再加入5 ml 5 mol/L HCl 提取一次,合并上清液,混匀后取2 ml 置于另一10 ml 比色管中,逐滴加入氨水调 pH 至弱酸性,加入0.2 ml 10 g/L L-半胱氨酸,并定容至5 ml,经

0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后待测。同时进行空白试验。

### 1.2.3 仪器条件

质谱:射频功率1 500 W,载气流速0.8 L/min,采样锥为镍锥(孔径1.0 mm),截取锥为镍锥(孔径0.4 mm),雾化室温度为 $(2 \pm 0.1)$  °C,玻璃同心雾化器,雾化器泵速为0.3 r/min;采用时间分辨分析(time resolved analysis)模式。

色谱:色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  (4.6 mm  $\times$  150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流速0.8 ml/min,进样量10  $\mu\text{l}$ ,流动相:A相为10 mmol/L 乙酸铵-0.12% L-半胱氨酸,B相为甲醇。

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件优化

张兰等<sup>[11]</sup>通过比较不同乙酸铵浓度和L-半胱氨酸浓度,认为当乙酸铵浓度为10 mmol/L、L-半胱氨酸浓度为0.12%时,流动相条件较佳。本试验发现,流动相 pH 和乙酸铵缓冲盐浓度(10、20、40 mmol/L)对各形态的分离效果影响较小。在  $\text{C}_{18}$  反相色谱中,添加络合剂或离子对试剂与汞形成非极性化合物后能有利于化合物的色谱分离,本方法选用L-半胱氨酸作为离子对试剂,其浓度为0.12%。

随着甲醇比例的降低(10%  $\rightarrow$  8%  $\rightarrow$  5%  $\rightarrow$  3%),出峰时间延长,柱压增加,基线噪声逐渐变大,但可改善甲基汞和  $\text{Hg}^{2+}$  的分离效果。本方法综合分析时间和基线噪声后选择的流动相为甲醇和10 mmol/L 乙酸铵-0.12% L-半胱氨酸(5:95, V/V)。为了防止溶剂倒峰对  $\text{Hg}^{2+}$  峰型的干扰,本方法用流动相稀释标准和样品,能有效降低甚至消除溶剂峰,见图1。

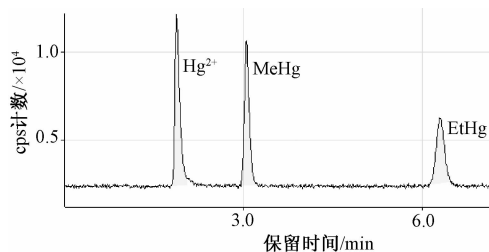


图1 3种汞形态的混合标准色谱图(2  $\mu\text{g/L}$ )  
Figure 1 Standard chromatogram of three mercury species (2  $\mu\text{g/L}$ )

### 2.2 样品提取条件优化

汞形态分析中常见的前处理方法有微波辅助提取法<sup>[12]</sup>、超声辅助酸/碱提取法<sup>[13]</sup>等,利用微波、超声等辅助手段使酸/碱等提取液将蛋白质溶解后析出各种汞形态。不同提取方法其元素形态间转化率和提取率有所差别。试验发现,蛋白质遇高浓度强酸/强碱会变性凝固成团,造成提取时间延长

和提取效率降低;为了防止变性凝团,将蛋白质冷冻干燥后磨碎,再进行提取,可明显提高溶解效果,但同时增加了交叉污染和损失的风险。文献<sup>[14]</sup>显示,随着 pH 值的降低,蛋白质溶解率逐渐增加,pH = 2.39 时达到最大,然后溶解率又逐渐降低。鉴于此,本方法对超声辅助酸提取法进行了优化,比较了不同浓度的 HCl 对提取时间和提取效果的影响。

首先考察了 5 ml 不同浓度 HCl (5、0.1、0.01、0.001 mol/L) 和纯水的单次超声提取的效果。试验发现,纯水提取 1 h 后,样品仅有少量溶解,之后没有变化;4 种不同浓度的 HCl 溶液提取 4 h 以上,蛋白质溶解情况相似,而在 1 h 内,5 mol/L HCl 溶解效果最差,0.01 mol/L HCl 溶解效果最好。进一步比较了 10 ml 5 mol/L HCl (60 min)、5 ml 5 mol/L HCl + 5 ml 5 mol/L HCl、5 ml 0.01 mol/L HCl + 5 ml 5 mol/L HCl、5 ml 5 mol/L HCl + 5 ml 0.01 mol/L HCl 在 30 min + 30 min 内的提取效果,结果见表 1。先使用 5 ml 0.01 mol/L HCl 提取 30 min,再用 5 ml 5 mol/L HCl 提取 30 min,两次酸提取明显改善了提取效率。

表 1 单次和两次酸提取率比较 (%)

物质	单次提取回收率	两次提取回收率
Hg <sup>2+</sup>	64 ~ 82	77 ~ 92
甲基汞	81 ~ 89	86 ~ 99
乙基汞	83 ~ 91	88 ~ 97

由于样品最终的酸度将影响其稳定性,通过试验发现,碱性条件下,Hg<sup>2+</sup> 回收率偏低,原因可能是 Hg<sup>2+</sup> 不稳定,转化为 HgO,因此,通过滴加氨水调 pH = 5 ~ 7,可有效提高 Hg<sup>2+</sup> 的回收率,见表 2。

表 2 酸度对 Hg<sup>2+</sup> 的稳定性的影响 (%)

Table 2 Influence of pH to Hg<sup>2+</sup> stability

酸度	当天测 Hg <sup>2+</sup> 的回收率	隔天测 Hg <sup>2+</sup> 的回收率
5 ≤ pH < 7	81 ~ 93	72 ~ 84
7 ≤ pH < 9	79 ~ 87	63 ~ 76

### 2.3 线性范围及方法检出限

3 种汞化合物按照 1.2.1 配制的标准系列进行测定,相关系数均 > 0.999。以 3 倍基线噪声 (S/N = 3) 对应的 3 种汞形态的浓度表示检出限,Hg<sup>2+</sup>、甲基汞、乙基汞的检出限分别为 3.2、3.7 和 6.2 μg/kg,其定量限分别为 10.7、12.3 和 20.7 μg/kg。

### 2.4 重复性

由于天然鱼肉中汞形态主要为甲基汞<sup>[15]</sup>,Hg<sup>2+</sup> 和乙基汞通常低于检出限,因此,重复性试验是对某样品做 7 份加标平行样 (6 μg/L),连续进样,以峰面积计算相对标准偏差 (RSD),Hg<sup>2+</sup>、甲基汞、乙基汞的 RSD 分别为 4.7%、3.1%、3.4%。

### 2.5 准确度

在鱼肉样品中分别加入低、中、高 3 种浓度的混合标准应用液进行测定,结果见表 3,Hg<sup>2+</sup>、甲基汞、乙基汞的回收率分别为 82% ~ 93%、94% ~ 99%、90% ~ 97% 之间。并对鱼肉的标准物质 (GBW10029) 进行测定,结果在证书值范围内,见表 4,图 2 为鱼肉标准物质及其加标的色谱图。

表 3 鱼肉样品加标回收率  
Table 3 Recovery of fish samples

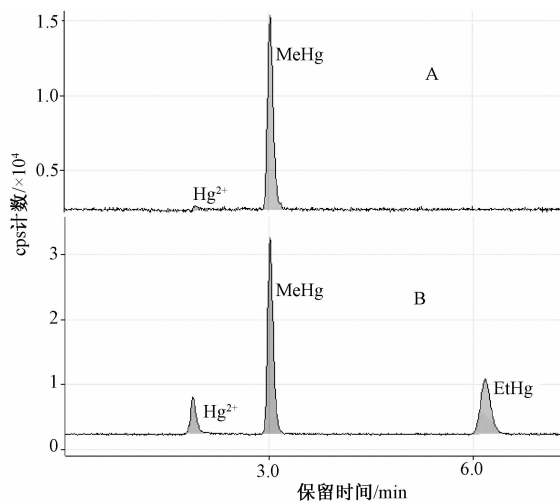
物质	本底值/(μg/L)	加标量/(μg/L)	回收率/%
Hg <sup>2+</sup>	ND	2	82
		6	93
		10	88
甲基汞	0.4	2	94
		6	99
		10	95
乙基汞	ND	2	97
		6	93
		10	90

注:ND 表示未检出

表 4 标准物质测定结果

Table 4 Determination result of standard materials

标准物质	甲基汞/(μg/g)		总汞/(μg/g)	
	标准值	测定值	标准值	测定值
GBW10029	0.84 ± 0.03	0.85	0.85 ± 0.03	0.86



注:A 为标准物质;B 为标准物质加标,加标量为 4 μg/L

图 2 鱼肉标准物质及其加标谱图

Figure 2 Chromatograms of fish standard material and its sample added

### 2.6 样品测定

随机选择 5 种市售海鱼,采用本方法进行检测,均检出微量甲基汞 (13.1 ~ 52.7 μg/kg),其中一份样品检出 Hg<sup>2+</sup> (19.4 μg/kg),所有样品均未检出乙基汞。

### 3 小结

通过优化色谱分离条件,采用两步提取的前处理方法,提高了 3 种汞形态的提取效率。本方法准确灵

敏、简单稳定,适用于鱼肉中痕量汞形态的分析。

## 参考文献

- [1] 牟颖,刘文祥,金明华,等. 甲基汞对生物膜流动性及通透性的影响[J]. 环境与健康杂志,1996,13(3):97-99.
- [2] 李嗣新,胡菊香,池仕运,等. 汞在新建水库食物网中生物累积与风险评估研究进展[J]. 生态学报,2016,36(5):1-12.
- [3] 陈玉红,米健秋,张兰. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用测定环境水样中的二价汞、甲基汞、乙基汞与苯基汞[J]. 环境化学,2011,30(4):893-896.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中污染物限量:GB 2762—2017[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [5] 余晶晶,杨红霞,刘崴. 水浴浸提-高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法快速测定水产品中的甲基汞[J]. 分析化学,2010,38(2):299-303.
- [6] RODRIGUES J L, DE SOUZA S S, DE OLIVEIRA SOUZA V C, et al. Methylmercury and inorganic mercury determination in blood by using liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry and a fast sample preparation procedure [J]. Talanta, 2010, 80(3):1158-1163.
- [7] 毛红,秦德元,巩俐彤. 液相色谱-原子荧光法测定鱼肉中甲基汞、乙基汞、无机汞[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(10):2439-2442.
- [8] 宗万里. 气相色谱-质谱联用法检测烤鱼片中甲基汞含量[J]. 生命科学仪器,2014,12(4):45-48.
- [9] 刘浩,甘志永,邹塞. 气相色谱-质谱法分析饮用水源水中甲基汞[J]. 环境保护科学,2013,39(3):79-81.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定:GB 5009.17—2014[S]. 北京:中国标准出版社,2014.
- [11] 张兰,陈玉红,施燕支,等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术测定二价汞、甲基汞、乙基汞与苯基汞[J]. 环境化学,2009,28(5):772-775.
- [12] REYES L H, RAHMAN G M, KINGSTON H M. Robust microwave-assisted extraction protocol for determination of total mercury and methylmercury in fish tissues [J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 631(2):121-128.
- [13] BATISTA B L, RODRIGUES J L, DE SOUZA S S, et al. Mercury speciation in seafood samples by LC-ICP-MS with a rapid ultrasound-assisted extraction procedure: application to the determination of mercury in Brazilian seafood samples [J]. Food Chemistry, 2011, 126(4):2000-2004.
- [14] 陈申如,张其标,侃辉. 酸法提取鲢鱼鱼肉蛋白质技术的研究[J]. 海洋水产研究,2004,25(5):61-64.
- [15] 刘丽萍,吕超,王颖. 液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术测定水产品中汞化合物形态分析方法探讨[J]. 分析测试学报,2010,29(8):767-771.

## 实验技术与方法

# 密胺餐具的鉴别及其三聚氰胺和甲醛迁移风险调查

王蓉佳,张芳芳,刘小慧

(上海市食品药品包装材料测试所,上海 201203)

**摘要:**目的 对密胺餐具中三聚氰胺和甲醛迁移量进行调查,并对数据进行分析。方法 在上海的企业和消费市场采集密胺餐具共40份,采用红外光谱法进行材料鉴别,依照GB 4806.7—2016《食品安全国家标准 食品接触用塑料材料及制品》和GB 31604.1—2015《食品安全国家标准 食品接触材料及制品迁移试验通则》进行迁移试验,测定三聚氰胺和甲醛迁移量。结果 密胺餐具存在材质未标识、标识不清或标识有误的现象;脲醛树脂中三聚氰胺和甲醛的迁移量均高于密胺树脂,且迁出量与温度呈正相关。结论 脲醛树脂应用于餐具存在风险,国家标准中有必要增加密胺材质鉴定检测方法。

**关键词:**密胺餐具;餐具;三聚氰胺;甲醛;树脂;鉴别;迁移

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2017)05-0584-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2017.05.013

## Melamine identification and investigation of the migration risk of 2,4,6-triamino-1,3,5-triazine and formaldehyde from melamine food container

WANG Rong-jia, ZHANG Fang-fang, LIU Xiao-hui

(Shanghai Food and Drug Packaging Material Control Center, Shanghai 201203, China)

收稿日期:2017-07-05

作者简介:王蓉佳 女 高级工程师 研究方向为食品接触材料风险评估 E-mail:wangrongjia@shpmcc.com

通信作者:张芳芳 女 高级工程师 研究方向为食品接触材料风险评估 E-mail:zhangfangfang@shpmcc.com