

鱼贝类水产品中有机锡的气相色谱-脉冲火焰光度法测定研究

吕华东^{*1}, 傅武胜¹, 林 麒¹, 蔡一新¹, 赵云峰², 陶学燕¹

(1. 福建省疾病预防控制中心, 福州 350001; 2. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050)

摘 要: 采用振荡萃取法, 以凝胶渗透色谱净化浓缩液, 用戊基溴化镁衍生; 衍生物经弗罗里硅土净化后, 用气相色谱-脉冲火焰光度法(GC-PFPD)测定, 以内标法定量, 建立了鱼贝类水产品中 8 种有机锡的分析方法。方法的线性范围在 10~500 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 检出限为 1.0 $\mu\text{g/kg}$ 左右。以牡蛎干粉为基质, 在 10 和 40 $\mu\text{g/kg}$ 水平下加标, 各有机锡的平均回收率在 82.0%~104%之间, 相对标准差(RSD)为 1.4%~13.3%, 牡蛎标准参考物测定结果落在定值范围内。

关键词: 有机锡; 气相色谱; 鱼贝类食品

中图分类号: O657.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-0720(2008)10-038-04

有机锡是一类含锡的有机金属化合物, 常用于稳定剂、船舶防污剂、催化剂、杀虫杀菌剂以及木材的防腐剂等^[1,2], 其年产量位居世界有机金属前列^[3]。有机锡具有神经、免疫、内分泌毒性, 被确认为雄性内分泌干扰物^[4]。有机锡对环境和食品的污染已引起了国际社会的普遍关注^[5]。生物环境样品中有机锡萃取方法主要有溶剂液液萃取、加速溶剂萃取^[6]和固相微萃取^[7]等, 液相色谱法的灵敏度较低, 常用气相色谱法^[8]或者气质联用法^[7]或者 GC-ICP-MS 方法^[6], 采用此法通常需要衍生化处理, 如以 NaBH_4 衍生形成氢化物^[9,10], 然而以格林试剂^[11]最为常见, 形成乙基、丙基、戊基等烷基化物, 近年来直接在水溶液中用四乙基

硼化钠进行乙基化衍生的方法得到了应用^[6]。在文献^[12]方法基础上, 用戊基格林试剂衍生, 建立了鱼贝类水产品中有机锡的 GC-PFPD 方法。

1 实验部分

1.1 试剂

有机锡氯化物标准见表 1, 其中 TPt 和 MMT 购自 Strem Chemical 公司, TPhT 来自 Fluka 公司, DBT 与 TBT 购自东京化成试剂公司, 其余购自 Acros 公司。无水乙醚、溴代正戊烷、 H_2SO_4 (A. R); 金属钠、镁条 (C. P); 环己烷 (农残级)。弗罗里硅土 (粒度 250~150 μm)、无水 Na_2SO_4 (A. R) 在 120 $^\circ\text{C}$ 下烘烤 6 h 后使用。聚苯乙烯凝胶 (bio-beads-X3, 粒度 75~38 μm)。

表 1 有机锡标准品的纯度和相对分子质量

Tab. 1 Purity and molecular weight of organotin standards

名称	三甲基锡	二甲基锡	一丁基锡	二丁基锡	三丁基锡	一苯基锡	二苯基锡	三苯基锡	一甲基锡	三丙基锡
缩写	TMT	DMT	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT	MMT	TPt
纯度/%	99	95	97	97	95	98	98	97	97	98
Mr	199.3	219.7	282.2	303.8	325.5	302.2	343.8	385.5	240.1	283.41

* 收稿日期: 2007-06-27; 修订日期: 2007-09-10

基金项目: 福建省科技攻关重点项目沿海鱼贝类有机锡化合物蓄积量及检测技术研究(2004 Y015)、科技部重大专项《食品安全关键技术》重要有机污染物痕量与超痕量检测技术研究课题

作者简介: 吕华东 (1949-), 男, 主任技师; E-mail: lhd1123@126.com

有机锡标准溶液 (0.5 ~ 1.0 mg/mL): 准确称取上述各标准品约 10 mg, 以 pH 为 2.0 (用 HCl 调节) 的甲醇水 (4 : 1, V/V) 为溶剂, 配成 (均以 Sn 计) 单一标准储备液。再以同样的溶剂逐级稀释, 配制 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液和内标工作液。

1.2 仪器与设备

Varian GC 3800 色谱仪 (带脉冲火焰光度检测器 (PFPD))、三颈烧瓶、分液漏斗和加热回流装置、磁力搅拌装置、电热套、涡旋振荡器、氮气浓缩仪、超声波清洗器、玻璃柱 (20 cm $\times$ 1.8 cm i. d.)、高纯氢气发生器、高纯氮气。

1.3 戊基溴化镁衍生剂的合成

按照文献^[12]改进的方法, 在湿度低于 60 % 的室内进行。

1.4 待测液的制备

1.4.1 提取 取 5.0 g 湿样品 (干样品取 0.2 g 左右), 加入 5 mL 200 g/L NaCl 溶液膨润后, 加内标混合溶液 50 μL , 再加 15 mL V(HBr) : V(四氢呋喃) = 1 : 20, 超声 5 min。加入 25 mL 正己烷 (含 0.03 % 环庚三烯酚酮), 振荡萃取 40 min 后, 以 3000 r/min 的转速离心 2 min, 将有机相转移至蒸馏瓶中。第二次用 10 mL 纯正己烷萃取 10 min, 离心后转移有机相。合并二次萃取液, 旋转蒸发至近干。同时做空白对照实验。标准系列: 在 5 mL 200 g/L NaCl 溶液中加入 10 ~ 500 μL 有机锡标准和 50 μL 内标, 按照与样品同样的方法制备。

1.4.2 净化 将上述浓缩液加入事先装填好的凝胶色谱柱中, 以 V(乙酸乙酯) : V(四氢呋喃) = 1 : 1 洗脱, 收集第 10 ~ 25 mL 洗出液。减压浓缩, 加入 10 mL 环己烷, 浓缩至近干, 将浓缩液转移至 5 mL 离心管, 以环己烷多次洗涤残余物, 至体积大约 2 mL。

1.4.3 衍生 用 1 mL 一次性注射器加入 0.8 mL 衍生化试剂, 迅速涡旋振荡, 超声反应 15 min。以 0.5 mol/L H_2SO_4 终止衍生反应, 涡旋振荡至上层澄清 (必要时需要离心才能分层)。

1.4.4 衍生后净化 预先装填好含 1.5 g 弗罗里硅土和 2 g 无水 Na_2SO_4 的小柱, 用 10 mL 正己烷预淋洗。将上述上层有机相 (1.4.3) 转移至小柱, 以正己烷洗脱, 收集 5 mL, 氮气流下浓缩至约 1.0 mL, 用于分析。

1.5 GC-PFPD 条件

DB-1 柱 (30 m $\times$ 0.25 mm i. d., 0.25 μm), 进样口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$, 程序升温条件为: 50 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ $\xrightarrow{10 \text{ min}}$ 120 $^{\circ}\text{C}$ $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 200 $^{\circ}\text{C}$, 2 min $\xrightarrow{10 \text{ min}}$ 280 $^{\circ}\text{C}$, 5 min; 载气为高纯氮, 流速: 1 mL/min, PFPD 温度 340 $^{\circ}\text{C}$, 硫滤光片, 门槛时间 4 ms、门延迟 5 ms, 氢气流量为 22 mL/min, 空气 1 流量为 15 mL/min, 空气 2 流量为 11 mL/min。

1.6 结果计算方法

以 MMT 作为单取代有机锡的内标, TPrT 为二、三取代有机锡内标, 采用相对响应因子 (RRF) 进行定量。

2 结果与讨论

2.1 衍生化试剂的合成

采用文献^[12]改进的方法合成戊基溴化镁试剂, 环境湿度在 60 % 以下时, 乙醚脱水比较容易, 在钠块的切割过程以及加入的瞬间, 钠片表面看不到明显的水分及有关的化学反应。以合成的衍生化试剂作空白对照分析后, 得到干净的色谱图, 仅出现无机锡色谱峰, 这来自器皿中残存的无机锡。表明衍生剂有效, 且无其它杂质干扰。

2.2 萃取条件的优化

采用 V(HBr) : V(四氢呋喃) = 1 : 20 的混合液, 加上 0.03 % 环庚三烯酚酮的络合作用, 可以有效地萃取样品中的有机锡。为了更好地促进有机锡从样品中解离出来, 需要加入 4 ~ 5 mL 的 200 g/L NaCl 溶液。振荡萃取时, 瓶塞若采用橡胶垫, 会出现较高的 MBT 和 DPhT 的污染, 而且出现大量的响应极强的杂质峰。因此要求采用玻璃瓶塞, 若采用橡胶塑料塞, 以铝泊覆盖隔垫, 可确保无本底有机锡污染。

2.3 GPC 净化条件的选择

采用凝胶柱, 经洗脱试验, 理想的洗脱条件为: 以 V(四氢呋喃) : V(乙酸乙酯) = 1 : 1 洗脱, 从第 10 mL 开始收集 15 mL 洗脱液, 再用 10 mL 溶液淋洗柱子, 去除凝胶中残留的杂质。当采用直径较大的凝胶柱, 且用自动洗脱、浓缩的方法时 (净化、浓缩一体化 GPC 仪), 有机锡回收率仅在 10 % ~ 20 %, 其原因有待探讨。

2.4 色谱图

在优化的色谱条件下测定, 得到较为理想的

色谱图(见图 1)。

2.5 线性关系

在 10 ~ 500 μg/kg 浓度范围内取标准溶液，取 5 个浓度点，经萃取、衍生、弗罗里硅土净化处理后，进样分析。结果各组分分离良好，无干扰峰(见图 1)。各化合物的平均相对响应因子在 0.53 ~ 1.35 之间，相对标准偏差(RSD)小于 15%，相关系数大于 0.99。

2.6 检出限与定量限

以空白牡蛎样品为基质，进行灵敏度试验。分别以 3、10 倍信噪比对应的浓度确定检出限

(LOD)和定量限(LOQ)。分别在 1.0 和 2.0 μg/kg 以下。

2.7 精密度和回收率

以筛选的有机锡含量较低的牡蛎冻干粉为基质，进行加标回收与精密度试验，加标水平为 10 与 40 μg/kg。空白样品中检出低水平的 DMT、TBT 与 MPhT(见表 2)。在 10 μg/kg (n = 5)和 40 μg/kg (n = 4)水平下，重复测定 4 次，各有机锡回收率在 82.0 % ~ 104 %之间，RSD 在 1.4 % ~ 13.3 %之间，均满足痕量分析要求。

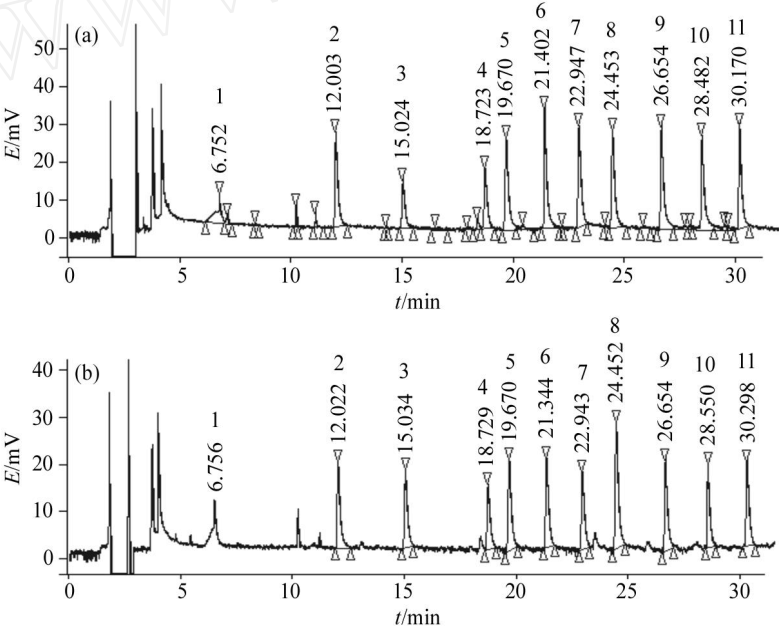


图 1 标准(a)和加标牡蛎样品(b)中有机锡衍生物的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of organotin in the standard solution and oyster extract after derivatization

1 - TMT; 2 - DMT; 3 - TPrT; 4 - MMT; 5 - TBT; 6 - DBT; 7 - MBT; 8 - tin; 9 - MPhT; 10 - DPhT; 11 - TPhT

表 2 牡蛎样品的加标回收率和相对标准偏差

Tab. 2 Relative standard deviation and recoveries of oyster spiked at 10 and 40 μg/kg

化合物	本底值 w/(μg/kg)	加标水平 1 10 (n = 5)			加标水平 2 40 (n = 4)		
		w/(μg/kg)	回收率/ %	RSD/ %	w/(μg/kg)	回收率/ %	RSD/ %
TMT	未检出	8.9	89.0	6.1	37.7	94.2	4.3
DMT	0.66	9.02	90.2	2.3	36.0	90.0	3.0
TBT	1.12	9.99	99.9	4.4	41.6	104	7.8
DBT	未检出	8.87	88.7	1.4	34.7	86.7	4.7
MBT	未检出	10.5	105	2.7	36.0	90.1	11.2
MPhT	4.39	10.2	102	4.7	35.2	87.9	5.0
DPhT	未检出	9.58	95.8	5.5	39.7	99.2	6.1
TPhT	未检出	8.84	88.4	6.9	32.8	82.0	13.3

2.8 方法的验证

比较标准参考物的测定结果与定值来评价方法的准确性。采用牡蛎参考物质 (ERM-CE-477) 试

验, 3 次测定结果均在定值范围内, 这说明所建立的方法可靠有效。此外还检测到标准参考物中未定值的 MPhT 和 TPhT (表 3)。

表 3 标准参考物的测定结果 ($w/(\mu\text{g/kg})$, 以无机锡计算)

Tab. 3 Determination results of organotin in the certificated reference material ERM-CE-477

化合物	保证值	实测值			X $\pm$ SD
TMT	未定值	ND	ND	ND	ND
DMT	未定值	ND	ND	ND	ND
TBT	902 $\pm$ 78	847.7	830.4	819.6	832.6 $\pm$ 14.2
DBT	785 $\pm$ 61	726.6	718.4	708.9	718 $\pm$ 8.9
MBT	1014 $\pm$ 189	1057	1099	1093	1083 $\pm$ 22.6
MPhT	未定值	596.7	632.6	640.8	623.4 $\pm$ 23.5
DPhT	未定值	ND	ND	ND	ND
TPhT	未定值	594.4	648.4	599.7	635.1 $\pm$ 23.3

ND: 表示未检出 ($<1.0 \mu\text{g/kg}$)

参考文献

- [1] Evans C J, Karpel S. Elsevier, Amsterdam, 1985. 1
- [2] River W T. Environ Health Perspect, 1973, 6: 61
- [3] Maguire R J, Tkacz R J, Chau Y K *et al.* Chemosphere, 1986, 15: 253
- [4] 吴永宁. 现代食品安全科学. 北京: 化学工业出版社, 2003
- [5] Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission to assess the health risks to consumers associated with exposure to organotins in foodstuffs. The EFSA Journal, 2004, 102: 1
- [6] Ruiz Encinar J, Rodriguez Gonzalez P, Rodriguez Fernandez J *et al.* Anal Chem, 2002, 74(20): 5237
- [7] 刘稷燕. 硕士学位论文. 北京: 中国科学院生态环境研究中心, 2004
- [8] Jiang G B, Maxwell P S, Siu K W M *et al.* Anal Chem, 1991, 63(15): 1506
- [9] Sullivan J J, Torkelson J D, Wekell M M *et al.* Anal Chem, 1988, 60(7): 626
- [10] Andrae M O, Byrd J T. Anal Chim Acta, 1984, (156): 147
- [11] Dirkx W M R, Adams F C. Appl Organomet Chem, 1994, (8): 693
- [12] 赵孔祥. 硕士学位论文. 北京: 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 2006

Determination of multi-organotins in seafood products by gas chromatography coupled with pulsed flame photometric detection

L ÜHua-dong¹, FU Wu-sheng¹, LIN Qi¹, CAI Yi-xin¹, ZHAO Yun-feng² and TAO Xue-yan¹ (1. Fujian Center for Disease Control and Prevention, Fuzhou 350001; 2. Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050), Fenxi Shiyanshi, 2008, 27(10): 38 ~ 41

Abstract: A method for quantifying multi-organotins in seafoods was evaluated. The samples were extracted by shaking method and the extracts were concentrated under the reduced pressure. The residues were cleaned up with gel penetration chromatography (GPC). The concentrated eluent was derivatized with pentylmanesium bromide. The derivative products were cleaned up with florisil column and concentrated before injected into GC-PFPD. Monomethyltin (MMT) was used as internal standard for mono-substituent compounds, and tripropyltin (TPt) was for di- and tri-substituent compounds. Calibration curve was at the concentration of 10 ~ 500 $\mu\text{g/mL}$ with relative standard derivation (RSD) of 15 %. Limit of detection was around 1.0 $\mu\text{g/kg}$. The recoveries were 82.0 % ~ 104 % when spiked at the levels of 10 and 40 $\mu\text{g/kg}$ in oyster and RSDs were in a range of 1.4 % ~ 13.3 %. The results of butyltins in the certificated reference material were in the range of the certified values. It is concluded that the method developed can be used for quantifying organotins in seafoods.

Keywords: Organotins; Gas chromatography; Seafoods