

鱼体中两种挥发性有机残留物的提取与检测

战培荣*, 陈中祥, 王海涛, 刘 伟

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所; 农业部渔业环境及水产品质量监督检验测试中心(哈尔滨), 哈尔滨 150070)

摘 要: **目的** 研究水蒸汽蒸馏方法提取鱼体中挥发酚和硝基苯的效果, 并研究鱼体中挥发酚和硝基苯残留量的测定方法。**方法** 用自制水蒸汽发生器蒸馏提取挥发酚和硝基苯, 并测定两种物质含量。**结果** 水蒸汽发生器蒸馏法泡沫产生少, 蒸馏过程稳定、容易控制, 不存在暴沸现象。鱼体中挥发酚测定平均回收率在 85.5% 以上, 硝基苯测定平均回收率为 96.83%。硝基苯出峰时间为 10.051 min, 分离度高, 检测时间短、消耗有机溶剂量少、试验简便, 完全能够满足检测分析的需要。**结论** 水蒸汽蒸馏提取法效果好, 方法实用, 便于操作, 适用于处理后样品的分析测定, 已应用于鱼体中挥发酚和硝基苯残留量的测定。

关键词: 鱼; 挥发酚; 硝基苯; 水蒸汽蒸馏法; 提取; 残留检测

The extraction and detection of two volatile organic residues in fish

ZHAN Pei-Rong*, CHENG Zhong-Xiang, WANG Hai-Tao, LIU Wei

(Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences; Fishery Environment and Aquatic Product Quality Supervision Testing Center of the Ministry of Agriculture, Harbin 150070, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effect of the steam distillation on extracting volatile phenol and nitrobenzene in fish and explore methods for detecting their residues. **Methods** A homemade steam generator was used to distillate and extract volatile phenol and nitrobenzene, and the contents of the two kinds of material were determined. **Results** Steam generator distillation produced few bubbles, the distillation process was stable, easy to control, and free of sudden boiling. The average recovery of volatile phenol in the fish body was more than 85.5% and that of nitrobenzene was 96.83%. The peak time for nitrobenzene was 10.051 min, with a high separating degree and short testing time. The consumption of organic solvent for the method was little, the testing was simple, which could completely meet the needs of inspection and analysis. **Conclusion** Steam distillation extraction is effective, practical, easy for operation, and suitable for the analysis of the prepared samples, which has been utilized in the determination of nitrobenzene and volatile phenol residues in the fish body.

KEY WORDS: fish; volatile phenol; nitrobenzene; water steam distillation; extraction; residue detection

鱼体中风险残留物的提取是分析和检验领域重点关注和研究的问题。由于鱼体本身组成较特殊, 胶体蛋白和不饱和脂肪酸等含量较高, 传统的提取水中的挥发性有机物的蒸馏方式不能满足对鱼体中挥发性有机残留物提取的需要。在检测分析水产品中残留有机物时, 如何预处理样品是一个难题^[1-3]。采用传统的提取水中的挥发性有机物处理样品的方法在

蒸馏过程中, 由于蒸馏样品表面张力逐渐增大, 产生泡沫、暴沸和喷溅等问题, 造成目标分析物损失或提取失败。另外, 在突发性环境污染事件中, 挥发性有毒、有害物质通过水体媒介残留在鱼体中, 其中, 挥发酚和硝基苯是典型物质。挥发酚是重要的环境指标, 它损害人的神经系统, 鱼体中挥发酚的残留情况已引起人们广泛关注^[4-8]。硝基苯是毒物化学品, 能够

*通讯作者: 战培荣, 研究员。E-mail: zhanpr@yahoo.com.cn

导致动物体的血细胞、肝脏等系统受到伤害^[9-17]。有鉴于此,研究鱼体中挥发性有机残留物的提取方法是十分迫切和必要的。本文研究了用水蒸汽蒸馏法提取鱼体中挥发性有机残留物的效果,通过实验提出了能够满足检验需要的鱼体中提取挥发性有机残留物的方法。

1 材料与方法

1.1 材料

鳙鱼、鲤鱼(市售),洗净、去皮取背部肌肉,组织捣碎,贮藏备用。试剂均为分析纯以上:氯仿(CHCl_3),氨水($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$),50%硫酸溶液,10%氢氧化钠(NaOH)溶液,8%铁氰化钾溶液,10%硫酸铜溶液,0.05%甲基橙指示液,氯化铵-氨水缓冲溶液(pH 约10.7),2% 4-氨基安替比林溶液,1.00 $\mu\text{g/mL}$ 酚标准溶液。中性氧化铝,弗罗里硅土(60~100目),无水硫酸钠,氯化钠、丙酮、石油醚、苯、正己烷,硝基苯标准品(溶剂甲醇,1000 $\mu\text{g/mL}^{-1}$,国家环境保护总局标准样品研究所);实验用水为超纯水,氧化铝净化柱。

1.2 仪器

水蒸汽发生器蒸馏装置(自制,见图1,水蒸汽发生瓶+500 mL 样品蒸馏瓶)。岛津 UV-2401PC 紫外可见分光光度计(日本岛津公司)。500 mL 普通全玻璃蒸馏器;500 mL(锥形)刻度分液漏斗;组织捣碎机;电子天平;调温电炉;Sigma 3K-18 离心机(美国 Sigma 公司);IKA MS 3 digital 旋涡混合器;IKA RV10 旋转蒸发仪;IKA T25 均质机(德国 IKA 公司);带 Snyder 柱的 KD 浓缩器;电加热套或电炉;Agilent 6890N 气相色谱仪(美国安捷伦公司),配 μECD 检测器;DB-1701 石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μm 美国 Hp 公司);载气:高纯氮气。

1.3 方法

1.3.1 水蒸汽发生器蒸馏提取挥发酚

称取预处理的样品 10~20 g(精确到 0.01 g),放烧杯中,加入 10%氢氧化钠溶液 75 mL,搅拌均匀。再加 3~5 滴甲基橙指示剂,用 50%硫酸调节 pH<4(溶液呈橙红色),再加 10%硫酸铜溶液 5 mL 混均后,置于 500 mL 蒸馏瓶中,用少量无酚水洗净烧杯,洗涤液并入样品蒸馏瓶中并加数粒玻璃珠。水蒸汽发生瓶和样品蒸馏瓶连接好,确保严密不漏汽后开起电炉,使水蒸汽发生瓶产生蒸汽。样品蒸馏瓶也应略低于水

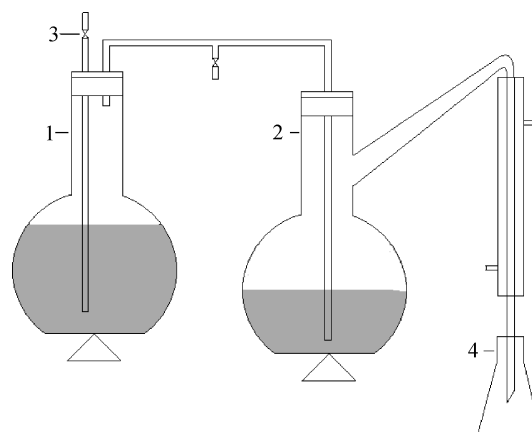


图1 水蒸汽发生器蒸馏装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of simultaneous steam distillation extraction

1 水蒸汽发生瓶(steam occur flask) 2 样品蒸馏瓶(sample distillation flask) 3 调节阀(adjust valve) 4 接收瓶(receiver)

蒸汽发生瓶的温度加热,防止水蒸汽发生瓶通入的蒸汽冷凝而集水,控制蒸馏速度 3 mL/min。回收馏出液,至约 240 mL 时,停止蒸馏,打开水蒸汽发生瓶和样品蒸馏瓶间的阀门,使瓶内外压力平衡。用无酚水冲洗冷凝管,洗涤液并入馏出液中,定容至 250 mL。

样品的测定:将馏出液移入分液漏斗中,加 2.0 mL 缓冲溶液,混匀。加 1.5 mL 4-氨基安替比林溶液,混匀,再加 1.5 mL 铁氰化钾溶液,充分混匀后,放置 10 min。准确加入 10.0 mL 氯仿,密塞,剧烈振摇 2 min,静置分层,彻底澄清透明后,用干脱脂棉拭干分液漏斗颈管内壁,于颈管内塞入一小块滤纸,弃去最初滤出的数滴萃取液用 1 cm 的比色皿收集滤液,静置 30 min,于 460 nm 波长下,以空白氯仿萃取液为参比,用分光光度计测量吸光度,其它具体步骤参照 GB7490 水质中挥发酚的测定^[3]。

1.3.2 水蒸汽发生器蒸馏提取硝基苯(水蒸汽发生器蒸馏装置同挥发酚)

样品前处理:取 10 g 均质后样品,置于 50 mL 离心管中,加入丙酮 25 mL,均质 1 min,提取硝基苯,4000 r/min 离心 5 min,收集上清液。再向离心管中加丙酮 20 mL,用原均质机再均质 1 min,4000 r/min 离心 5 min,合并丙酮提取液于 500 mL 蒸馏瓶中,水蒸汽蒸馏出 250 mL;馏出液置于 500 mL 分液漏斗中,加入氯化钠 20 g,加入苯 10 mL,剧烈振摇萃取 3~5 min,静置 30 min 分层,弃去下层水相,加入 2%氯化钠溶液 20 mL,洗涤苯萃取液,静置分层,弃去下层水相,取苯层 2~3 mL 置于预先装有少许无水硫酸钠

的 5 mL 具塞离心管中, 脱水, 供气相色谱分析使用。

色谱条件: 载气流量: 0.8 mL/min; 进样口温度: 240 ℃; 温度程序: 初始温度 50 ℃, 维持 1 min, 8 ℃/min 程序升温至 120 ℃, 维持 2 min, 然后设定 35 ℃/min 程序升温至 250 ℃, 维持 8 min; 检测器: 配 ⁶³Ni 电子捕获检测器; 温度: 300 ℃; 进样方式: 无分流方式; 进样量: 1 μL。

1.4 精密度和回收率实验

在确定了检测条件后, 分别以鲤和鳊为测试对象, 挥发酚加标量为 1.00 μg/kg、10.0 μg/kg(*n*=8)。硝基苯加标量为 5 μg/kg(*n*=8)。通过测定结果与加标量比较, 计算回收率及精密度。

2 结果与讨论

2.1 蒸馏过程的稳定性比较

提取挥发酚和硝基苯主要是采用蒸馏的方法, 但是由于样品性质的不同, 特别是粘稠度存在的差异对蒸馏过程产生影响。使用直接蒸馏法提取生物样品中的挥发酚, 开始时状态稳定。但一段时间后, 蒸馏瓶内泡沫逐渐增多。还由于水的不断馏出, 瓶内黏度和水的表面张力逐渐增大, 后期产生暴沸现象, 平缓稳定的蒸馏过程难以控制。有时还造成馏出液污染,

导致蒸馏失败, 存在着难以克服的不足。本研究采取的水蒸汽发生器蒸馏法提取鱼肉样品中的挥发酚, 克服了直接蒸馏提取方法存在的不足。表 1 为两种蒸馏法过程的比较。

水蒸汽发生器蒸馏法, 泡沫产生少, 蒸馏过程稳定、容易控制, 不存在暴沸现象。蒸馏提取效果好, 优势明显。

2.2 回收率测定

表 2、表 3 显示, 本方法具有实用性和广泛性, 鱼体中挥发酚测定平均回收率在 85.5%以上。加标 5.0 μg · kg⁻¹ 的样品用水蒸气蒸馏提取法前处理后的检测色谱图显示(图 2), 硝基苯出峰时间为 10.051 min, 分离度高, 检测时间短、消耗有机溶剂量少、试验简便性, 完全能够满足检测分析的需要。

3 结论

水蒸汽发生器蒸馏提取鱼体中挥发酚和硝基苯的方法与直接蒸馏法比较具有明显的优势, 操作便捷、蒸馏过程平稳、速度可控制和提取效果好, 适用于鱼体中挥发性有机残留物的提取, 方法实用, 便于推广。

表 1 两种蒸馏法过程的比较
Table 1 Process comparison of two distillation methods

样品	方法	泡沫		粘稠		暴沸	
		初始	终末	初始	终末 I	初始	终末
鱼肉	水蒸汽蒸馏法	+	+	+	+	-	-
	直接蒸馏法	+	+++	+	+++	+	+++

注: -代表无, +~+++代表增加

表 2 挥发酚样品的精密度与回收率实验结果(*n*=8)
Table 2 Results of precision and recovery test of volatile phenol samples

加标量/μg · kg ⁻¹	检测值 /μg · kg ⁻¹				平均值/μg · kg ⁻¹	RSD/%	回收率/%
1.00	0.914	1.021	1.060	1.074	1.028	5.50	85.5~105
	0.979	1.073	1.069	1.038			
	9.242	11.03	10.56	10.94			
10.00	9.452	10.67	10.59	10.37	10.16	6.32	

表 3 硝基苯样品的精密度与回收率实验结果(*n*=8)
Table 3 Results of precision and recovery test of nitrobenzene samples

加标量/μg · kg ⁻¹	检测值/μg · kg ⁻¹				平均值/μg · kg ⁻¹	RSD/%	回收率/%
5.00	4.95	5.03	4.78	4.83	4.84	3.78	96.83
	4.86	4.85	4.59	4.92			

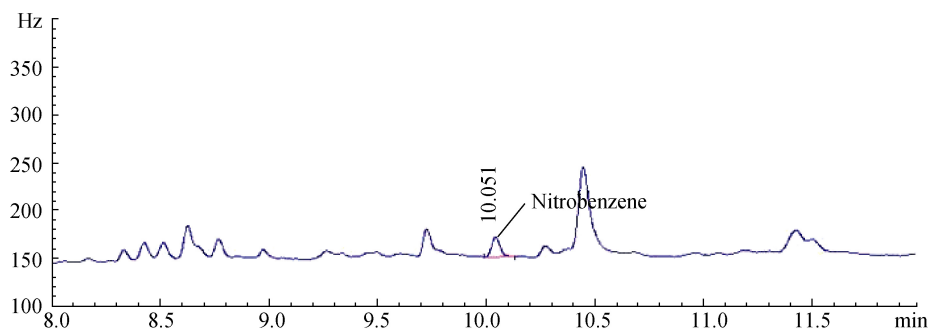


图2 硝基苯样品色谱图(加标 5 µg/kg)

Fig. 2 Chromatogram of the nitrobenzene sample (standard addition 5 µg/kg)

水蒸汽发生器蒸馏方法可以有效的提取鱼体蛋白质溶液中具挥发性质的物质,此法对分析性质稳定、高温不被分解或破坏的化合物,具有重要的实用价值。

参考文献

- [1] 洪传洁, 卢纯惠. 环境卫生学进展[M]. 北京: 人民出版社, 1986, 167-76.
- [2] 康春莉, 王英, 杜尧国, 等. 水体中挥发酚测定方法的改进[J]. 分析化学, 2000, 28(7): 872-875.
- [3] 中华人民共和国国家标准 GB-7490 水中挥发酚的测定[S]. 1987.
- [4] Petr Bartak, Determination of phenols using simultaneous steam distillation extraction [J]. J Chromatogr, 2000, 867: 281
- [5] 姚建国. 气相色谱法测定生活饮用水中的挥发酚[J]. 化学工程师, 2003, 6: 95-96.
- [6] 于洪兰. 小麦中挥发酚的测定[J]. 潍坊学院学报, 2002, 2(2): 7-8.
- [7] 汤丹瑜, 胡秋芬, 杨光宁, 等. 固相萃取光度法测定食品中挥发酚的研究[J]. 干旱环境监测, 2002, 16(1): 4-5.
- [8] 李维, 刘国光, 郑立庆, 等. 土壤中噻虫嗪农药残留分析方法[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(2): 739-742
- [9] 周文敏, 傅德黔, 孙宗光. 中国水中优先控制污染物黑名单的确定[J]. 环境监测管理与技术, 1991, 3(4): 18-20.
- [10] World Health Organization. Environmental Health Criteria: Nitrobenzene [M]. Geneva: 2003.
- [11] 于常荣, 曹喆, 王伟, 等. 松花江鱼类有机污染物的研究[J]. 中国环境科学. 1994, 14(4): 283-288.
- [12] Shu-Ping Wang, Hwei-Jun Chen. Separation and determination of nitrobenzenes by micellar electrokinetic chromatography and high-performance liquid Chromatography [J]. J Chromatogr A, 2002, 979: 439-446.
- [13] Stefan Weigel, Kai Bester, Heinrich Hühnerfuss. Identification and quantification of pesticides, industrial chemicals, and organobromine compounds of medium to high polarity in the North Sea [J]. Mar Pollut Bull, 2005, 50: 252-263.
- [14] 中华人民共和国国家标准 GB13194-1991 水质硝基甲苯、硝基氯苯、二硝基甲苯的测定气相色谱法[S]. 国家环境保护局. 1991.
- [15] 刘薇, 刘桥博. 环境样品中硝基苯类化合物测定的预处理方法概述[J]. 环境科学管理, 2008, 33(9): 124-126.
- [16] 郎佩珍, 王敏健, 龙凤山, 等. 鱼和蚌体中多种有机物的提取和净化方法[J]. 中国环境监测, 1986, 2(3): 6-10.
- [17] Yoshinori Nishikawa, Tarneo Okumura. Determination of Nitrobenzenes in River Water, Sediment and Fish Samples by Gas Chromatography Mass Spectrometry [J]. Anal Chem Acta, 1995, 312: 45-55.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介

战培荣, 研究员
E-mail: zhanpr@yahoo.com.cn