

# 酸消化-气相色谱法测定鱼肉中指示性多氯联苯研究

吴益春<sup>1,2</sup>, 祝世军<sup>1,2</sup>, 罗海军<sup>1,2</sup>, 陈璐<sup>1,2</sup>, 鲁华<sup>1,2</sup>,  
郭海波<sup>1,2</sup>, 杨会成<sup>3</sup>, 郝云彬<sup>1\*</sup>

(1. 舟山市渔业检验检测中心, 舟山 316000; 2. 舟山市食品药品检验检测研究院, 舟山 316000;  
3. 浙江省海洋开发研究院, 舟山 316100)

**摘要:** **目的** 建立酸消化-气相色谱法测定鱼肉中指示性多氯联苯的方法。 **方法** 用硫酸溶液消化样品, 以正己烷+二氯甲烷(50:50, v:v)为提取溶液萃取、浓硫酸净化后用毛细管气相色谱法测定。 **结果** 采用该方法对鲑鱼中多氯联苯标准物质 GBW(E)100131 进行检测, 检测结果与参考物定值吻合, 回收率为 93.7%~104.4%, 相对标准偏差为 2.75%~4.65%, 检出限 0.22~0.44 μg/kg。 **结论** 该方法具有简单、快速、测定灵敏度高和精确度高的特点, 能满足鱼肉中指示性多氯联苯分析的要求, 值得推广应用。

**关键词:** 鱼肉; 多氯联苯; 酸消化; 气相色谱法

## Determination of indicator polychlorinated biphenyls residues in the flesh of fish by gas chromatography using acid digestion

WU Yi-Chun<sup>1,2</sup>, ZHU Shi-Jun<sup>1,2</sup>, LUO Hai-Jun<sup>1,2</sup>, CHEN Lu<sup>1,2</sup>, LU Hua<sup>1,2</sup>, GUO Hai-Bo<sup>1,2</sup>,  
YANG Hui-Cheng<sup>3</sup>, HAO Yun-Bin<sup>1\*</sup>

(1. Zhoushan Fisheries Test Center, Zhoushan 316000, China; 2. Zhoushan Institute for Food and Drug Control, Zhoushan 316000, China; 3. Zhejiang Marine Development Research Institute, Zhoushan 316100, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method to detect the residual indicator polychlorinated biphenyls (PCBs) in the flesh of fish by gas chromatography using acid digestion. **Methods** The sample was digested by H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, then extracted by N-hexane and methylene chloride (50:50, v:v) and cleaned up by H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, after that determined by capillary gas chromatography. **Results** PCBs reference material GBW(E)100131 in Cod was detected by this method and the result was in accordance with the assigned value. The recovery was 93.7%~104.4%, RSD was 2.75%~4.65% (n=6), and the detection limit was 0.22~0.44 μg/kg. **Conclusion** The method is simple, rapid, sensitive, accurate and precise, and it can be used for the determination of indicator polychlorinated biphenyls in the flesh of fish.

**KEY WORDS:** flesh of fish; polychlorinated biphenyls; acid digestion; gas chromatography

基金项目: 十二五国家科技支撑项目(2012BAD29B06)

**Fund:** Supported by National Support Program for Science and Technology (2012BAD29B06)

\*通讯作者: 郝云彬, 高级工程师, 主要研究方向为水产品质量安全。E-mail: yunbinhao@163.com

\*Corresponding author: HAO Yun-Bin, Senior Engineer, Zhoushan Fisheries Test Center, Zhoushan, No.55, Jinsha Road, Putuo District, Zhoushan 316111, China. E-mail: yunbinhao@163.com

## 1 引言

多氯联苯(polychlorinated biphenyls, PCBs)是目前世界上公认的全球性环境污染物之一,通过食物链污染进入人类环境或富集于食品中,特别是鱼、虾、贝类等水产品。PCBs 极难分解,半衰期长,其富集系数可自数千倍至近 10 万倍,最终富集于顶级生物体内而产生毒害作用,有致畸、致癌、致突变性,其对水生生物和人类的巨大危害已引起世界各国的关注<sup>[1-5]</sup>。因此,建立针对 PCBs 的简单、快速、准确、适合大批量样品分析的检测方法成为当务之急。

目前国内外检测标准以及文献报道关于水产品中多氯联苯残留检测主要是气相色谱法和气相色谱质谱法<sup>[6-13]</sup>。PCBs 为脂溶性物质,在生物体内主要蓄积在脂肪组织,因此从食品样品中提取 PCBs 的方法都是基于脂肪的提取技术,常见前处理提取技术有索氏提取法<sup>[6]</sup>、振荡法<sup>[6]</sup>、基质固相分散萃取法<sup>[7]</sup>、超声波提取法<sup>[8]</sup>、微波辅助提取法<sup>[9,10]</sup>、加速溶剂萃取法<sup>[11,12]</sup>以及亚临界 R134a 萃取法<sup>[13]</sup>等。最新的多氯联苯检测标准《GB5009.190-2014 食品安全国家标准 食品中指示性多氯联苯含量的测定》<sup>[6]</sup>中采用的提取方法为索氏提取法和振荡法。索氏提取法的优点是提取充分,但是前处理时间长(索氏萃取要用 18~24 h),难以开展大批量样品日常检测工作,而振荡法和基质固相分散萃取法简单快速,但存在目标物提取不充分的风险;微波辅助提取法、加速溶剂萃取法和亚临界 R134a 萃取法提取目标物充分,简单快速,但都需要专门的辅助提取设备如微波消解仪、快速溶剂萃取仪、亚临界 R134a 萃取装置等,难以在大部分实验室推广使用。

酸消化法的原理是破坏水产品中的脂肪、蛋白质等有机物质,使之样品完全“碳化”,用正己烷和二氯甲烷萃取收集目标物,浓硫酸磺化净化,通过优化色谱条件,用毛细管气相色谱法测定 PCBs 含量。该方法目前报道较少<sup>[14]</sup>,本实验通过浓硫酸消解样品,优化萃取条件,建立了指示性多氯联苯(主要包括 PCB28、PCB52、PCB101、PCB118、PCB153、PCB138、PCB180)检测的快速前处理方法。

## 2 材料与方法

### 2.1 试剂与仪器

正己烷(色谱纯,美国 Fisher Scientific 公司);石

油醚(优级纯,杭州石化有限责任公司);浓硫酸(优级纯,国药集团);二氯甲烷(色谱纯,美国 Fisher Scientific 公司);无水硫酸钠(优级纯,国药集团):依次用正己烷和二氯甲烷淋洗两次,在 50 °C 下烘烤至干,并在 225 °C 烘烤过夜;碱性氧化铝(分析纯,国药集团):660 °C 中烘烤 6 h。PCBs 标准品为多氯联苯混标(7 组分,28, 52, 101, 118, 138, 153, 180),购自美国 o2si 公司;鲑鱼中多氯联苯标准物质(GBW(E)100131,国家标准物质中心)。

Agilent 7890A 气相色谱仪,配有电子捕获检测器(美国安捷伦公司);旋转蒸发器(RV10 型,德国 IKA 公司);离心机(CT14D,上海天美科学仪器有限公司);涡旋振荡器(IP40,德国 IKA 公司)。

### 2.2 样品前处理

称取 5 g 试样(准确到 0.01 g)于 50 mL 具塞塑料离心管中,加入 12 mL 50% 硫酸溶液,80 °C 水浴 1 h。取出恢复至室温后,加 10 mL 正己烷+二氯甲烷(50:50, v:v)溶液,漩涡振荡 2 min,离心 5 min,重复提取一次,合并上层液于 50 mL 鸡心瓶中,40 °C 水浴旋干。用 15 mL 正己烷分三次润洗鸡心瓶,合并正己烷于另一 50 mL 塑料离心管中,加入 10 mL 浓硫酸,盖塞后轻轻振摇 1 min,以 7000 r/min 离心 1 min,使硫酸层与有机层分离,弃去硫酸层,重复操作一次。将净化后的正己烷层转移到玻璃层析柱中(预先垫有 2.5 g 活化碱性氧化铝、2 g 无水硫酸钠,并经 15 mL 正己烷预淋洗),收集滤液于 100 mL 鸡心瓶中,加入 30 mL 正己烷洗脱,再用 25 mL 二氯甲烷+正己烷(5:95, v:v)洗脱,40 °C 水浴旋转蒸发干。加 1 mL 正己烷于鸡心瓶中溶解目标物,转移样液于进样瓶中供气相色谱分析用。

### 2.3 色谱条件

毛细管色谱柱:HP-5MS(Crolinked 5% Phenyl Methyl Siloxane, 30 m×0.32 mm, 0.25 μm)。进样口温度:290 °C;检测器采用电子捕获检测器,温度:300 °C;柱箱温度:初始 90 °C 维持 0.5 min,程序升温 15 °C/min 至 200 °C,维持 5 min;继续程序升温 3 °C/min 至 250 °C,维持 2 min;载气流速:60 mL/min。

### 2.4 计算公式与数据处理

采用提取率考察不同消化时间和萃取用试剂对目标物提取效果的影响,其计算公式如下:

提取率=阳性鱼肉试样检出各 PCBs 含量/自制阳性鱼肉试样中各 PCBs 实际含量 $\times 100\%$ 。

所得数据用 SPSS 13.0 软件包进行单因素方差分析,以检验各组数据间的显著性差异,显著性水平设置为  $P < 0.05$ 。

### 3 结果与分析

#### 3.1 酸消化时间的选择

考察了前处理过程中 50% 硫酸溶液加入后不同水浴时间对提取率的影响,不同水浴时间分别做了 5 个平行,结果见表 1。50% 硫酸溶液加入后,水浴 0.5 h 后,提取率能达到 42.4%~65.0%,水浴 1.0 h 后,提取率能达到 93.7%~104.4%,水浴时间再延长,提取率保持稳定。由此可知,50% 硫酸溶液加入后水浴 1.0 h,样品消化充分,破坏了水产品中的脂肪、蛋白质等杂质,完成了初步净化,可达到多氯联苯检测的要求。

表 1 不同消化时间对提取率的影响( $n=5$ )

Table 1 Effect of different incubation time on extraction efficiency( $n=5$ )

组分	提取率(%)			
	0.5 h	1 h	2 h	3 h
PCB28	42.4 $\pm$ 3.69	94.5 $\pm$ 4.19	96.3 $\pm$ 3.74	102.8 $\pm$ 4.05
PCB52	52.5 $\pm$ 4.66	97.1 $\pm$ 2.98	95.5 $\pm$ 4.82	97.3 $\pm$ 5.75
PCB101	65.0 $\pm$ 4.23	93.7 $\pm$ 3.98	103.6 $\pm$ 4.17	99.5 $\pm$ 3.82
PCB118	59.7 $\pm$ 3.41	96.3 $\pm$ 3.74	97.3 $\pm$ 4.42	95.6 $\pm$ 2.16
PCB153	62.4 $\pm$ 3.23	95.5 $\pm$ 4.82	104.2 $\pm$ 4.84	97.7 $\pm$ 3.78
PCB138	52.4 $\pm$ 4.33	94.2 $\pm$ 2.92	95.5 $\pm$ 3.02	95.2 $\pm$ 3.52
PCB180	48.5 $\pm$ 3.53	104.4 $\pm$ 3.78	94.2 $\pm$ 2.35	98.2 $\pm$ 3.59

#### 3.2 萃取用试剂的选择

由于多氯联苯为非极性组分,故而萃取时较宜选用极性小的亲脂性有机溶剂<sup>[2]</sup>。本研究考察了不同试剂作为萃取剂对提取效率的影响,结果如表 2 所示,萃取试剂选择正己烷+二氯甲烷(50:50, v:v),相比其他萃取试剂提取率最高( $P < 0.05$ )。因此,按最高提取率确定了最佳的萃取用试剂为正己烷+二氯甲烷(50:50, v:v)。

表 2 不同萃取试剂对提取率的影响

Table 2 Effect of different incubation time on extraction efficiency

组分	提取率(%)			
	石油醚	正己烷	正己烷+石油醚(50:50, v:v)	正己烷+二氯甲烷(50:50, v:v)
PCB28	72.6 $\pm$ 4.68	67.2 $\pm$ 3.52	73.4 $\pm$ 2.65	94.5 $\pm$ 4.19
PCB52	51.5 $\pm$ 5.62	75.2 $\pm$ 4.56	72.9 $\pm$ 3.78	97.1 $\pm$ 2.98
PCB101	62.0 $\pm$ 6.21	72.5 $\pm$ 4.59	73.6 $\pm$ 3.42	93.7 $\pm$ 3.98
PCB118	59.7 $\pm$ 4.21	67.1 $\pm$ 3.49	72.3 $\pm$ 4.42	96.3 $\pm$ 3.74
PCB153	69.2 $\pm$ 3.85	73.6 $\pm$ 4.52	72.5 $\pm$ 4.84	95.5 $\pm$ 4.82
PCB138	72.7 $\pm$ 5.93	72.6 $\pm$ 4.58	79.5 $\pm$ 3.02	94.2 $\pm$ 2.92
PCB180	68.5 $\pm$ 7.52	73.5 $\pm$ 4.47	63.2 $\pm$ 2.25	104.4 $\pm$ 3.78

#### 3.3 色谱柱的选择

考查了两种不同极性的毛细管管柱的分离情况,结果显示:采用中极性的 HP-35 的柱子在同样色谱条件下 PCB123 和 PCB118 完全合峰,无法分离,后改用弱极性的 HP-5MS 柱能基本分开各种多氯联苯,这与黄冬梅等<sup>[15]</sup>的研究结果一致。7 种多氯联苯标准溶液见图 1。

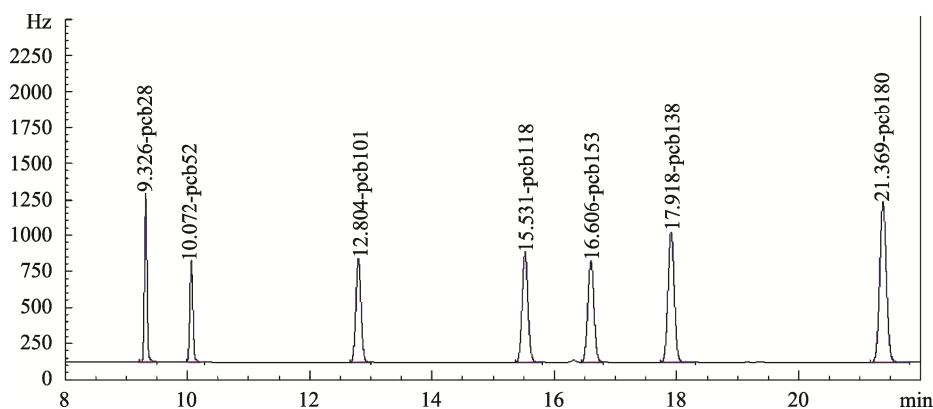


图 1 样品中 7 种多氯联苯的色谱图(80 ng/mL)

Fig. 1 Chromatogram of 7 kinds of PCBs in samples (80 ng/mL)

### 3.4 线性回归方程、检出限与定量限

7种指示性多氯联苯混合标样的曲线浓度点分别为5、10、20、40、60、80、100、200 ng/mL,以分析物的峰面积对应其含量做校准曲线,并进行线性回归,得到回归方程见表3,线性相关系数大于0.9990。将空白样品经前处理、上机,得到三倍信噪比的检出限为0.22~0.44 μg/kg,各目标化合物定量限为0.5 μg/kg。

### 3.5 回收率和精密度试验

本研究在鲳鱼空白样品中分别添加10、50、100 μg/kg三个水平的7种指示性多氯联苯标准溶液进行回收率实验,每个浓度做六个平行样。鲳鱼空白样品经检测为阴性样品,测定结果显示,加标回收率为93.7%~104.4%之间,批内和批间相对标准偏差为(RSD,  $n=6$ )在2.75%~4.65%之间,见表4。精密度符

表3 7种PCBs的线性关系及其检出限  
Table 3 Regression equations and detecting limits of 7 kinds of PCBs

PCB 编号	保留时间(min)	标准曲线	相关系数 $R$ 值	检出限( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
PCB28	9.355	$Y=25.33116X+70.38427$	0.99939	0.22
PCB52	10.109	$Y=15.64134X+65.54265$	0.99932	0.33
PCB101	12.860	$Y=26.16222X+122.20060$	0.99916	0.38
PCB118	15.587	$Y=37.36629X+145.42618$	0.99920	0.30
PCB153	16.664	$Y=35.16537X+152.49641$	0.99922	0.41
PCB138	17.980	$Y=45.25879X+169.78957$	0.99930	0.23
PCB180	21.437	$Y=55.82786X+144.67499$	0.99959	0.44

表4 鲳鱼样品中添加多氯联苯回收率和精密度( $n=6$ )  
Table 4 Recoveries and relative standard deviations (RSDs) of PCBs adding in Pomfret ( $n=6$ )

组分	加标量( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	空白样品含量	回收率/%	RSD/%
PCB28	10		100.5	3.31
	50	ND	98.7	3.41
	100		97.6	4.12
PCB52	10		104.4	3.35
	50	ND	99.0	3.21
	100		97.9	4.40
PCB101	10		94.9	4.01
	50	ND	96.1	4.02
	100		95.2	4.11
PCB118	10		98.7	2.87
	50	ND	99.8	2.75
	100		98.6	3.24
PCB153	10		95.3	4.03
	50	ND	98.8	3.62
	100		101.8	4.03
PCB138	10		93.7	4.26
	50	ND	98.9	4.65
	100		99.2	4.31
PCB180	10		98.7	3.54
	50	ND	100.6	4.19
	100		99.5	4.26

合方法学要求, 能满足鱼肉中 7 种指示性多氯联苯含量检测要求。

### 3.6 样品检测结果

按照本文建立的方法和国标法(索氏提取法)分别测定质控样(编号: GBW(E)100131)中多氯联苯含量, 平行测定 3 次, 外标法定量, 检测结果见表 5。由表 5 可知, 两种方法测得的结果均符合质控要求, RSD 均小于 5%。

表 5 标准物质中多氯联苯检测结果( $n=3$ )  
Table 5 The PCBs content in sample( $n=3$ )

组分	参考定值 (ng/g)	本文建立的方法		国标法(索氏抽提法)	
		测定平均 值(ng/g)	标准偏 差(%)	测定平均 值(ng/g)	标准偏差 (%)
PCB28	77.9±4.5	78.3	4.36%	77.0	3.26
PCB52	42.9±3.7	44.3	3.26%	41.8	4.15
PCB101	40.5±3.5	41.8	3.21%	39.5	3.89
PCB118	44.1±3.3	45.3	2.72%	43.5	2.56
PCB153	42.7±2.9	41.5	2.81%	43.6	3.66
PCB138	41.8±3.4	40.2	3.83%	40.9	3.77
PCB180	25.5±2.7	25.0	1.96%	25.8	2.13

## 4 结 论

本试验建立的测定鱼肉中指示性多氯联苯检测方法简便、省时、精确度高, 分析周期短。按照本方法测定出有证标准物质(鳕鱼)中多氯联苯含量与定值相符, 提取效率接近相关的国家标准<sup>[3]</sup>。相对于国标法中索氏提取需要 18~24 h 的提取时间, 本方法在 3~4 h 内即可完成样品的前处理, 而且不需要专门的辅助提取设备, 适合在大部分实验室推广使用。该方法经验证在 0~200  $\mu\text{g/L}$  质量浓度范围内, 线性关系良好, 相关系数可达到 0.9990, 低、中、高三个质量浓度的加标回收率在 93.7%~104.4% 之间, RSD 小于 5%, 满足方法学要求, 适用于鱼肉中指示性多氯联苯含量的测定。

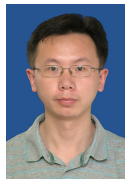
### 参考文献

- [1] Maria Maddalena Storelli, Grazia Barone, Veronica Giuliana Perrone, *et al.* Polychlorinated biphenyls(PCBs), dioxins and furans(PCDD/Fs): Occurrence in fishery products and dietary intake [J]. Food Chem, 2011, 127(4): 1648–1652.
- [2] Gemma Perelló, Roser Martí-Cid, Victoria Castell, *et al.* Influence of various cooking processes on the concentrations of PCDD/PCDFs, PCBs and PCDEs in foods [J]. Food Control, 2010, 21(2): 178–185.
- [3] Ottonello G, Ferrari A, Magi E. Determination of polychlorinated biphenyls in fish: optimisation and validation of a method based on accelerated solvent extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Chem, 2014, 1(142): 327–333.
- [4] Bocio A, Domingo JL, Falcó G, *et al.* Concentrations of PCDD/PCDFs and PCBs in fish and seafood from the Catalan (Spain) market: estimated human intake [J]. Environ Inter, 2007, 33(2): 170–175.
- [5] 李敬光, 吴永宁. 食品中多氯联苯分析前处理技术进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(6): 540–545.  
Li JG, Wu YN. Progress in press in pretreatment for determination of polychlorinated biphenyls from food matrices [J]. Chin J Food Hyg, 2004, 16(6): 540–545.
- [6] GB 5009.190-2014 食品安全国家标准 食品中指示性多氯联苯含量的测定[S].  
GB 5009.190-2014 National food safety standards determination of indicator polychlorinated biphenyls in foods [S].
- [7] 马丽莎, 朱新平, 郑光明, 等. 基质固相分散萃取-气相色谱法检测水产品中 7 种多氯联苯残留[J]. 中国兽药杂志, 2011, 45(6): 22–25.  
Ma LS, ZHU XP, Zheng GM, *et al.* Determination of seven kinds of polychlorinated biphenyls in aquatic products by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography [J]. Chin J Vet Drug, 2011, 45(6): 22–25.
- [8] 孙秀梅, 胡红美, 钟志, 等. 气相色谱法测定贻贝中的多氯联苯和有机氯农药[J]. 广州化工, 2014, 42(14): 134–136.  
Sun XM, Hu HM, Zhong Z, *et al.* Determination of polychlorinated biphenyls and organochlorinated pesticides in mussel by gas chromatography [J]. Guangzhou Chem Ind, 2014, 42(14): 134–136.
- [9] 吴金浩, 李爱, 刘桂英, 等. 微波辅助萃取-气相色谱法检测裙带菜中的多氯联苯和有机氯农药残留[J]. 环境化学, 2013, 32(1): 156–161.  
Wu JH, Li A, Liu GY, *et al.* Determination of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticide residues in wakame by gas chromatography with electron capture detection using microwave-assisted extraction [J]. Environ Chem, 2013, 32(1): 156–161.
- [10] Xiong GH, He XQ, Zhang ZX. Microwave-assisted extraction or saponification combined with microwave-assisted decomposition applied in pretreatment of soil or mussel sample for the

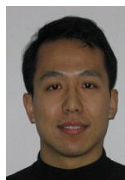
- determination of polychlorinated biphenyls [J]. *Anal Chim Acta*, 2000, 413: 49–56.
- [11] 傅武胜, 林麒, 吕华东, 等. 加速溶剂萃取-气相色谱质谱联用法测定食品中指示性多氯联苯的研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2006, 16(9): 1025–1028.
- Fu WS, Lin Q, Lu HD, *et al.* Determination of polychlorinated biphenyls (PCBs) in foodstuffs by the isotope dilution GC-LRMS coupled with accelerated solvent extraction (ASE) [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2006, 16(9): 1025–1028.
- [12] Mark M, Mary S, Karen T, *et al.* Simultaneous extraction of PCDD/PCDF and PCBs using accelerated solvent extraction for sediment, tissue and sludge matrices [J]. *Organ Comp*, 2003, 60: 37–40.
- [13] 王婷婷, 李莉, 陈易晖, 等. 鲭鱼罐头中 7 种多氯联苯的测定——亚临界水萃取-气相色谱法[J]. *宁波工程学院学报*, 2014, 26(2): 1–6.
- Wang TT, Li L, Chen YH, *et al.* Determination of 7 polychlorinated biphenyls in canned mackerel sub-critical water extraction-gas chromatography method [J]. *J Ningbo Univ Technol*, 2014, 26(2): 1–6.
- [14] 王建华, 张艺兵, 林黎明, 等. 毛细管气相色谱法同时测定水产品中的多氯联苯和有机氯农药残留量[J]. *化学分析计量*, 2003, 12(2): 13–15.
- Wang JH, Zhang YB, Lin LM, *et al.* Determination of the residual Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in aquatic products [J]. *Chem Anal Meterag*, 2003, 12(2): 13–15.
- [15] 黄冬梅, 于慧娟, 沈晓盛. 水产品中多氯联苯检测方法的研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(7): 359–361.
- Huang DM, Yu HJ, Sheng XS. Study on analytical method for trace polychlorobiphenyls in aquatic products [J]. *Food Sci*, 2008, 29(7): 359–361.

(责任编辑: 杨翠娜)

### 作者简介



吴益春, 硕士, 工程师, 主要研究方向为水产品质量安全。  
E-mail: wmq728@126.com



郝云彬, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为水产品质量安全。  
E-mail: yunbinhao@163.com