

第十四章 食品中有害物质的检测

第一节 概论

一、有害物质与有毒物质的概念

在食品的安全检测方面,我们常常会碰到“有害物质”与“有毒物质”的概念。那么什么是“有害物质”?在自然界所有的物质中,当某物质或含有该物质的物质被按其原来的用途正常使用时,若因该物质而导致人体生理机能、自然环境或生态平衡遭受破坏时,则称该物质为有害物质。从对机体健康影响的角度可将有害物质分为普通有害物质、有毒物质、致癌物和危险物。那么什么又是“有毒物质”呢?一般的定义为凡是以小剂量进入机体,通过化学或物理化学作用能够导致健康受损的物质。根据这一定义可知,有毒物质是相对的,剂量决定着一种成分是否有毒,因而,一般有毒物质的毒性分级也是以中毒剂量作为基准的。参考表 14-1。

表 14-1 毒物毒性分级

| 毒性分级 | 大白鼠一次口服半数致死量 (LD ₅₀ mg/kg) | 人一次性致死量 (g/kg) |
|------|---------------------------------------|----------------|
| 剧毒 | < 1 | < 0.05 |
| 高毒 | 1~50 | 0.05~0.5 |
| 中等毒 | 50~500 | 0.5~5.0 |
| 低毒 | 500~5000 | 5.0~15 |
| 微毒 | >5000 | > 15 |

二、食品中有害物质的种类与来源

食品中有害物质可分为三类:一是生物性有害物质,如黄曲霉、李斯特菌、口蹄疫致病菌等;二是化学性有害物质,如 DDT、氯丙醇、河豚毒素、重金属、放射性元素等;三是物理性有害物质,如金属屑、石子、动物排泄物等。这些有害物质的主要来源有:不当地使用农药、兽药,包括施药过量、施药期不当或使用被禁药物;来自加工、贮藏或运输中的污染,如操作不卫生、杀菌不合要求或贮藏方法不当等;来自特定食品加工工艺,如肉类熏烤、蔬菜腌制等;来自包装材料中的有害物质,某些有害物质可能移溶到被包装的食品中;来自环境污染物,如二恶英、多氯联苯等;以及来自食品原料中固有的天然有毒物质。

三、加强食品中有害物质检测的必要性

我国是农产品生产总量第一的农业大国,增加农民收入的关键在于大力发展农产品的深加工,而农产品深加工的关键是食品加工。我国加入世贸组织(WTO)后,每年有大量农产品进出口贸易。加入世贸组织要求履行世贸组织的“贸易技术壁垒协议(TBT)”和“实施卫生与动植物检疫措施协议(SPS)”,这使食品安全卫生方面的壁垒日益突出,给我国农水产品的出口造成严重影响。另一方面,随着社会的发展人们越来越关心自身健康,对食品安全性的要求越来越高,使得世界各国不断降低食品中有害物质的最高残留限量(MRL)的数值,这对检测水平提出了新的要求。

第二节 食品中有害物质常用的检测方法

一、薄层色谱法 (Thin layer chromatography)

(一) 薄层色谱的原理

薄层色谱法属于色谱法的一种，色谱法(chromatography, 简称色谱)最初是一种分离技术，是依靠不同的被分离物质在固定相和流动相二者间的分配系数的不同而使混合物达到分离的技术。依靠该技术所得到的谱图 (pattern) 称为色谱图 (chromatogram)。

薄层色谱的原理是将吸附剂涂布于诸如玻璃板、铝薄板等固相支持物，经干燥后形成薄层板，当点有样品的薄层板被放入盛有流动相的层析缸中时，在流动相沿固定相(即吸附剂)移动的过程中,样品中不同的组分受到来自固定相和流动相的作用力不同,致使各组分的在固定相上迁移的速率不同，从而使得各组分被分开。被分离的各组分在薄层板上形成不同的斑点，斑点的位置常用比移值(Rf)来表示：

$$R_f = \text{斑点中心到原点中心距离} / \text{展开剂前沿到原点中心距离}$$

在一定的色谱条件下，物质的 Rf 值是一定的，因此可以用 Rf 值进行定性分析。

(二) 常用的固定相：

薄层分析中常用的固定相有硅胶、氧化铝、纤维素、硅藻土、氢氧化钙、硫酸钙等，其中最常用的是硅胶，包括普通硅胶和改性硅胶。普通硅胶的表面是极性硅醇基(-Si-OH)，能与极性化合物和可极化的化合物形成氢键而表现出吸附性能。改性硅胶是采用化学方法，将有机分子以共价键连接到硅胶表面的硅醇基上，键合的有机分子带有一-CN、-NH₃ 或一(OH)₂ 等极性基团的称为正相键合，一般用于分离非极性或极性较小物质；键合的有机分子带有十八烷基、辛烷基或乙基等非极性基团的称为反相键合，一般用于分离极性较大的物质。其工作原理如图 14-1。

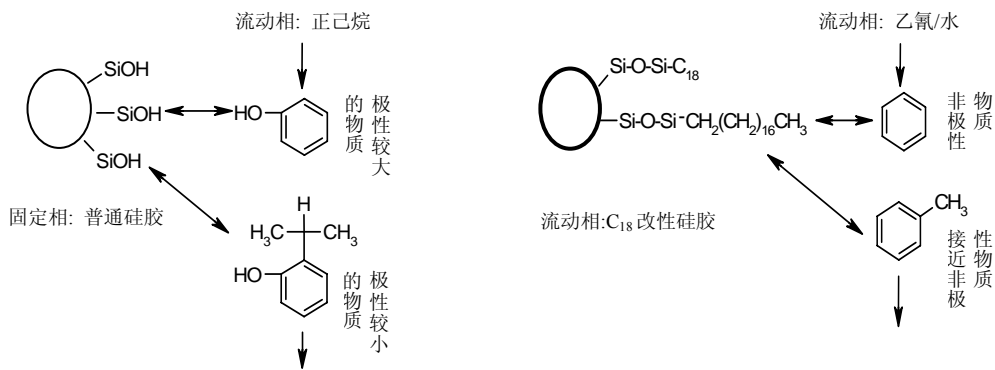


图 14-1. 正相色谱 (左) 与反相色谱 (右) 的工作原理图

(三) 常用的有机溶剂：

对于有机溶剂而言，介电常数大则极性大，其在正相色谱中的洗脱能力强。表 14-2 中列出了几种常用溶剂的介电常数及其在正相色谱中的相对洗脱能力。由于介电常数与溶剂的纯度有很大的关系，因此采用高纯度的溶剂是提高实验结果可重复性的基础。在实际操作中，使用混合溶剂的机会比使用单一溶剂的机会要多得多。

(四) 吸附剂的活度级别与吸附力、含水量及 Rf 值的关系

物质之所以能在吸附剂(以硅胶、氧化铝或正相键合硅胶为例)的薄层上分离，是因为吸附剂的表面及其孔隙的表面存在许多活性点，被吸附物质(极性或可极化的物质)的量及被吸附的牢固程度在其它条件一定的条件下取决于活性点的强度(单位面积的表面能量)及数目(单位质量的表面积)，单位质量吸附剂所含活性点的数目越多、活性点的强度越大，则吸附剂的活度越高，即，对物质(极性或可极化的物质)的吸附能力越强，被吸附物质的 Rf 值就越小。当此类吸附剂的含水量增加时，吸附剂的活性点被水中羟基占据的数目增多，因此，自由活性点减少，吸附剂的活度变小，吸附力也变小，于是被吸附物质的 Rf 就变大。因此，为了使薄层板的水分含量相对一致，使用对薄板进行活化可以使 Rf 值具有较好的重

现性。

Brockmann 和 Schodder 根据氧化铝及硅胶对偶氮苯、苏丹红等染料的 Rf 值(分以 CCl₄ 及 CHCl₃ 作展开剂)按活度由大到小的顺序将氧化铝及硅胶的活度分为 I~V 级。活度级别为 I 级时表示活度最大,活度级别为 V 级时活度最小。表 14-3 列出了薄层吸附剂的活度级别与含水量、吸附力及 Rf 值的关系。

表 14-2 几种常用溶剂的介电常数及其在正相色谱中洗脱能力变化趋势



| 中文名称 | 英文名称 | 介电常数 (25 °C) | 洗脱能力 |
|------|----------------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| 正己烷 | n-hexane | 1.9 |  增强 |
| 环己烷 | Cyclohexane | 2.0 | |
| 苯 | Benzene | 2.3 | |
| 四氯化碳 | carbon tetrachloride | 3.4 | |
| 氯仿 | Chloroform | 4.8 | |
| 乙酸乙酯 | ethyl acetate | 6.0 | |
| 四氢呋喃 | Tetrahydrofuran | 8.20 (20 °C) | |
| 二氯乙烷 | Dichloroethane | 10.6 | |
| 正丁醇 | n-butanol | 17.8 | |
| 异丙醇 | Isopropanol | 18.3 | |
| 丙酮 | Acetone | 20.7 | |
| 乙醇 | Ethanol | 24.3 | |
| 甲醇 | Methanol | 32.6 | |
| 乙腈 | Acetonitrile | 37.5 (20 °C) | |
| 水 | Water | 78.5 | |
| 甲酰胺 | Formamide | 110 (20 °C) | |

表 14-3 硅胶、氧化铝的活度级别与含水量、吸附力及 Rf 值的关系

| 活度级别 | 含水量 (%) | | 吸附力/ Rf 值 |
|------|---------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | 硅胶 | 氧化铝 | |
| I | - | - |  吸附力减弱 Rf 值增加 |
| II | 10 | 3 | |
| III | 12 | 6 | |
| IV | 15 | 10 | |
| V | 20 | 15 | |

二、气相色谱法 (Gas chromatography)

(一) 气相色谱仪的组成

气相色谱的流动相是气体。按固定相状态的不同,又可分为气液色谱和气固色谱;按柱内径的粗细可分为填充柱(包括柱内径为 3~6 mm 的普通柱及柱内径大于 9 mm 的制备柱)和毛细管柱(柱内径小于 1.5 mm)。气相色谱仪如图 14-1 所示,由载气、调压系统、进样系统、色谱柱、控温系统、检测器等组成。此处仅简介在现代分析技术中经常应用的毛细管柱气相色谱。

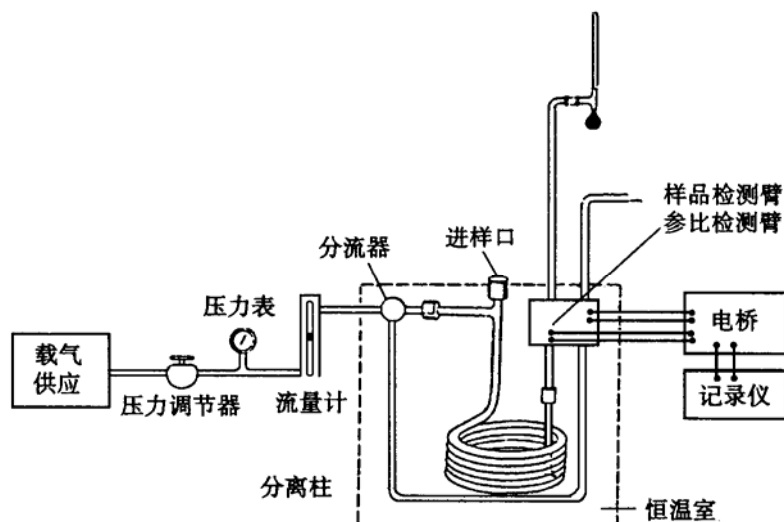


图 14-2 气相色谱仪组成示意图

(二) 毛细管柱的选择

气相色谱的毛细管柱的内径 0.12 ~ 0.5 mm, 长 30~45 m, 材质有铜、不锈钢、玻璃和尼龙。毛细管柱的极性依其内表面所涂固定相的极性有极性、中性和非极性之分。柱的选择主要考虑柱的极性应与待测物的极性相匹配。表 14-4 介绍了毛细管柱应用于部分危害物检测的范围。另外固定相膜厚、内径及柱长也是应考虑的因素。

表 14-4 GC 毛细管柱的选择与部分危害物的分析

| 固定相 | 极性 | 应用 |
|-----------------------------------------------------------------|-------|-------------------------------|
| 二甲基聚硅氧烷 | 非极性 | 胺类、烃类、杀虫剂、多氯联苯类、酚类、硫化物、调料和香精 |
| (5%) -二苯基- (95%) -二甲基聚硅氧烷 或 (5%) -二苯基- (95%) -二甲基亚芳基聚硅氧烷 | 非极性 | 生物碱、药物、脂肪酸甲酯、氯代化合物痕量分析、半挥发性物质 |
| (6%) -氰丙基苯- (94%) -二甲基聚硅氧烷 | 弱至中极性 | 芳氯物、醇类、杀虫剂、挥发性物质 |
| (35%) -二苯基- (65%) -二甲基聚硅氧烷 或 (35%) -二苯基- (65%) -二甲基亚芳基硅氧烷共聚物 | 中极性 | 芳氯物、胺类、杀虫剂 |
| (14%) -氰丙基苯- (86%) -二甲基聚硅氧烷 | 中极性 | 杀虫剂、除草剂、芳氯物 |
| (50%) -二苯基- (50%) -二甲基聚硅氧烷 | 中极性 | 药物、乙二醇类、杀虫剂、甾类 |
| (50%) -三氟丙基苯- (50%) -二甲基聚硅氧烷 | 极性 | 醛类、含氯有机物、有机磷化合物 |
| (50%) -氰丙基苯- (50%) -二甲基聚硅氧烷 | 中至极性 | 脂肪酸甲酯、醛醇乙酸酯、中性甾醇 |
| INNO 相(TM) 键合聚乙二醇 | 极性 | 醇类、游离酸类、芳烃、精油 |
| 键合/交联改性聚乙二醇用于碱性化合物分析 | 极性 | 胺类和其他碱性化合物 |
| TPA 改性聚乙二醇 | 极性 | 酸、醇、醛、酮、腈类、丙烯酸酯类 |
| (50%) -氰丙基- (50%) -二甲基聚硅氧烷 | 极性 | 脂肪酸甲酯顺/反同分异构体 |

(三) 检测器的选择

检测器用于检测色谱柱流出物组成的变化。常用的 GC 检测器在食品有害物检测面的应用见表 14-5。另外,最近有二种或几种检测器联用的报道,这样可扩大被检测化合物的范围,降低负面的干涉。如采用 FID/XSD(卤素检测器)组合的 FM-2000 便携式气相色谱可以用一个或两个检测器通道选择性地检测芳香族和含氯化物,大大提高了选择性和灵敏性。

表 14-5 常用的 GC 检测器在食品有害物检测中的应用

| 检测器 | 原理 | 优点 | 缺点 |
|---------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------|
| 氢火焰离子化(FID) | 当有机物被载气带入,经火焰离子化,正、负离子在电场作用下向两极迁移而形成信号 | 简单,稳定,适于检测烃类有机物的通用检测器 | 对 N、S、P 有机物响应低 |
| 电子俘获(ECD) | 载气通过电离室被 β 放射源作用产生基流,当电负性物质俘获电子时则基流降低,即为 ECD 对电负性物质的响应 | 对多氯联苯、二恶英、金属有机物等电负性物质具有高灵敏度和选择性,适宜于农药残留分析 | 检测器易污染 |
| 氮磷检测器(NPD) | 改进了 FID,使火焰与铷盐接触,提高氮磷有机物灵敏度 | 对含 N、P 有机物响应较 FID 高三个数量级,适宜于农药残留分析 | 淬灭* |
| 火焰光度(FPD) | 有机物被载气带入,经火焰离子化产生特征光谱,经滤光片、光电倍增管吸收转变成信号 | 选择性检测器,对含 S、P 有机物响应较 FID 高三个数量级,适于农残分析 | 淬灭* |
| 脉冲式火焰光度(PFPD) | 独特脉冲火焰改进 FPD,原理同 FPD | 对含 S、P 的农药和有机锡等化合物比 FPD 具有更高的灵敏度和选择性 | 价格昂贵 |

*火焰型检测器有易灭火和易淬灭的缺点。前者指进样体积大时引起缺氧产生灭火,后者指选择性检测器当其它杂质较多时,引起被检测的信号减弱或消失。

(四) 气相色谱法的注意要点

1. 载气:应是化学惰性气体,最常用的载气有氦气、氢气、氮气。高纯度的载气对于保护毛细管柱免受伤害是很重要的。对于氦气和氢气的纯度要求达到 99.999%~99.9999%,即使采用最高纯度的载气,也要求通过去氧处理。高纯度的氦气和氢气价格很贵,因此可以采用普通纯度的气体(99.995%)与串连载气净化器相结合的方式降低分析成本。氮气不可用于毛细管柱,只用于填充柱。应根据检测器的要求来选择载气。

2. 柱端压力差:色谱柱两端的压力差是很重要的。通常色谱柱的出口端压力(p_1)是大气压,而载气入口端的压力(p_2)一般维持在 2~3 个大气压。压力差过大或过小都会降低物质的分离效率。对于一般的分析工作只采用附于载气钢瓶上的压力调节计就可以,但对于精细的分析则要求准确的辅助压力计。

3. 柱温控制:好的气相色谱仪有单独的色谱柱加热源。当待测混合物的组分少,沸程

窄时, 直接将柱温升至某一温度 (通常为待分离物质中沸点最高物质的沸点的 2/3) 进行分析。但当待测混合物的组分多, 沸程宽时, 则应当采用程序升温 (programmed temperature), 即, 柱温随着分析时间的增加而呈线性或阶段性增加, 从而使不同沸点的物质在相应的柱温下被分离开, 这样不仅可以缩短分析的时间, 也可以改善峰形, 提高定量分析的准确性。

4. 柱预处理: 进样分析之前, 应将柱温升高出计划最高分析温度 20 度 (但应在色谱柱允许的温度范围内), 同时通以载气, 载气的流速控制在很小的水平 (5-10 mL/min), 如此预处理色谱柱至少 10 h。以防止上次分析柱内残留杂质的干扰。

5. 进样: 一般采用气相色谱专用注射器 (注射针锐尖, 有别于液相色谱的平头注射器) 取气体样品进样 0.5~1.0 mL, 液体样品进样 1~100 μl , 通过预先加热的进样口 (injection port) 注射到气化室中, 以便液体样品能够迅速气化。先进的仪器其进样口带有单独的加热源。对于采用毛细管柱的气相色谱, 由于毛细管柱的容量仅为零点几个微升的液体样品, 所以需要有一个分样器来将上述大量的样品分成两部分, 其中小的部分进入毛细管柱, 而大的部分弃去。对于待测组分含量很少的样品需要选用不分流进样。

6. 检测器的灵敏度: 亦称响应值或应答值, 即, 单位变化量的样品进入检测器后所引起的检测信号变化的大小, 用公式可表示为: $S = \Delta R/\Delta Q$ 。应当注意检测器的灵敏度与仪器的灵敏度以及分析方法的灵敏度是不同的概念。检测器的灵敏度考察的只是检测器的特性, 仪器的灵敏度考察的是包括检测器在内的整个仪器的特性, 而分析方法的灵敏度考察的是整个仪器及分析条件 (如色谱柱、检测器、柱温、流动相等) 的加合特性。事实上, 一般所说的灵敏度都是指一定分析条件之下的仪器的灵敏度, 亦即, 某一分析方法的灵敏度。

三、高效液相色谱法 (High performance liquid chromatography, HPLC)

(一) 高效液相色谱仪的组成

高效液相色谱的流动相为液相, 属于柱色谱的一种, 但它不同于经典的采用玻璃柱和重力引流的“慢”而“重复性差”的普通柱色谱, 高效液相色谱采用不锈钢柱及高压促流, 而且填充料的粒径小而均匀, 从而达到了“快”而“重复性好”的高效效果。HPLC 柱长 7.5~30 cm, 内径 1~5 mm, 填充剂粒子的直径 3~50 μm 。高效液相色谱仪包括贮液瓶、泵、进样阀、色谱柱、检测器及数据处理器等部件, 见图 14-3。

常用的高效液相色谱法包括正相色谱、反相色谱、离子对色谱、离子交换色谱、离子色谱、排阻色谱。在这些高效液相色谱法中, 以反相高效液相色谱最常用, 占高效液相色谱法的 70%~80%。

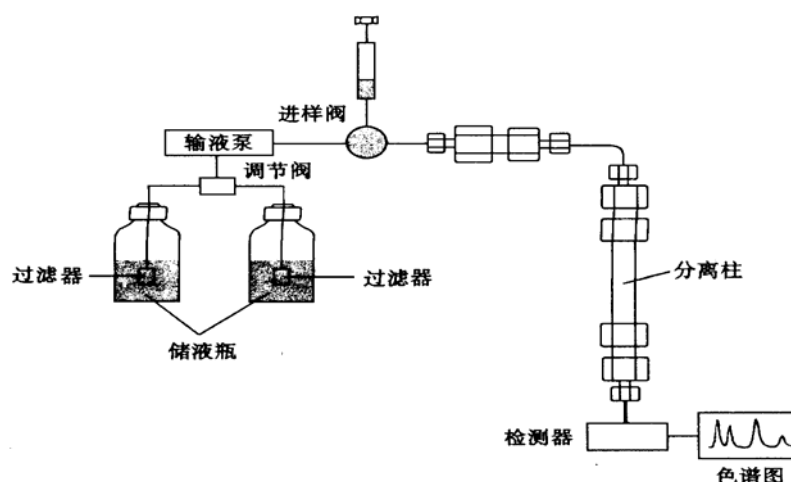


图 14-3 高效液相色谱仪组成示意图

(二) 常用的 HPLC 检测器:

| 检测器 | 原理 | 灵敏度 | 应用范围 |
|----------------|--------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------|
| 紫外可见分光光度 | 样品对紫外/可见光的吸收度与样品的浓度成比例 | + | 适用于对紫外或可见光有吸收的物质, 可用于胺、芳胺、联苯胺、有机酸, 线性范围宽; 可采用梯度流动相 |
| 视差折光 | 样品池与参比池的折光指数差与色谱流出物中样品的浓度成比例 | - | 适用于同流动相折光率不同的样品组分, 主要用于糖类化合物的检测, 不适用于采用梯度流动相的检测 |
| 二极管阵列 (PDA) | 原理同 UV 检测器; 工作方式为在同一时间 UV 光谱峰可经多波长确认 | + | 适用于有紫外吸收者, 应用于农药、不稳定极性除草剂、杀菌剂、杀虫剂等 |
| 电化学 | 氧化还原中电子转移形成电动势差 | ++ | 适用于有还原电位者, 可用于测定维生素、无机阴离子等 |
| 荧光 | 利用特定物质发光中荧光释放进行检测 | ++ | 适用于能产生荧光或能与产生荧光的物质衍生化者。如多环芳烃、氨基甲酸酯、氨基酸、胺类、维生素和某些蛋白质等的测定。 |
| 蒸发激光光散射 (ELSD) | 雾化、加热使流动相蒸发从而测定剩余样品颗粒的光散射 | ++ | 检测挥发性低于所使用流动相的任何物质 |
| 质谱 (SIM) | 不同的物质在一定能量的电子轰击下可电离产生不同的离子峰谱 | ++ | 适用于各种物质的检测, 但仪器昂贵 |

(三) 色谱柱的保护

色谱柱是 HPLC 重要组成部件, 价格较贵, 懂得色谱柱的保护, 不仅可以提高分析的灵敏度及准确度, 而且可以延长柱的使用寿命。一般应从以下几个方面加以保护色谱柱:

1. 溶剂的纯度: 有机溶剂要求色谱纯, 水要求三蒸水。
2. 流动相的选择: 正相柱不可选用极性溶剂, 反相柱不可选用非极性溶剂。以缓冲溶液为流动相的, 要考虑色谱柱的容许 pH 值范围。
3. 微膜过滤: 无论是流动相还是样品都不可有不溶性的颗粒存在, 因此要求对两者在分析前采用水溶液用或有机溶剂用的微孔滤膜 (微孔 0.2~0.45 μm) 进行过滤。
4. 脱气: 流动相在使用时必须经过脱气处理, 可采用超声波与抽真空相结合的办法。一般处理 10~20 min, 流动相为水或水所占的比例大时, 脱气时间长些, 流动相为有机溶剂时, 脱气时间短些。
5. 保护柱: 保护柱是一个与主色谱柱性能相似的很短的小色谱柱。当保护柱堵塞或污染时, 可以更换一个新的保护柱, 这样可以大大地延长色谱柱的使用寿命。
6. 洗柱: 色谱柱易受污染而失活, 需要进行清洗以使之再生, 一个行之有效的方法是采用分析用流动相以 0.1 mL/min 的流速冲洗一夜。对于正相硅胶柱而言, 先用 100 mL 的异丙醇洗柱后, 再用极性减弱的溶剂如丙酮、氯仿最后用正己烷各 100 mL, 以 2~4 mL/min 的流速进行清洗。对于反相柱而言, 若清洗前的流动相是缓冲液则先用水清洗, 再用 50 mL

的甲醇或乙氰清洗。对于用于蛋白分离色谱柱,其中保留的蛋白质则可以先用 100 mL 8 mol/L 的尿素水溶液清洗,再用水清洗。注意,不要太轻易地抛弃一根柱子。

四、质谱法 (Mass Spectroscopy, MS)

(一) 质谱仪的组成

质谱法 (MS) 是使所研究的混合物或单体在一定的条件下形成气态离子,然后使气态离子通过依赖电/磁场作用的质量分析器,使各离子按质荷比大小的不同,依次到达收集器,并产生信号,经过检测记录,即可得到这些离子峰的信息。世界上第一台抛物线质谱仪是由英国人汤姆逊 (Thomson) 于 20 世纪 10 年代研制出来的。早期的质谱法主要是测定原子质量和同位素丰度。自 20 世纪 50 年代初期质谱仪进入有机分析领域以来,质谱技术有了飞速发展,现今的质谱仪器已汇集了当代先进的电子技术、高真空技术和计算机技术,质谱已成为食品有害物质分析不可缺少的工具。

如图 14-3 所示质谱仪由进样系统、离子源系统、质量分析器、检测器及真空系统组成。

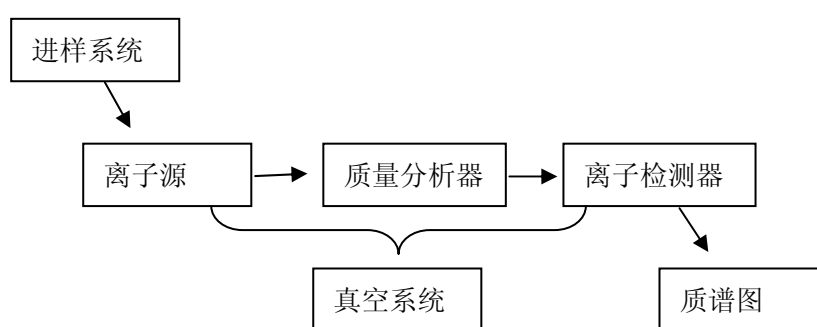


图 14-4 质谱仪组成示意图

真空系统: 在质谱分析过程中,为了避免离子源灯丝损坏,离子损失,负反应增多等负面影响,质谱仪从离子的产生到离子被检测器捕捉,系统要求必须保持在 $10^{-6}\sim 10^{-8}$ Pa 的高真空状态。

进样系统: 样品在通入离子化室之前必须保证是气态,因此,进样系统常置于 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温箱中,这一温度对于气体或挥发性强,沸点低的液体样品是合适的,对于难挥发的液体样品,可提高恒温箱的温度,但一般控制在 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下,以防止一些有机化合物热分解,热稳定性高的化合物温度可提高到 $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。固体样品则需置于固体样品气化瓶中加热气化。样品气化后,通过扩散小孔直接进入真空度为 10^{-2} Pa 的贮气球中,再由细小的铂片漏气孔导入离子化室。

离子源: 是质谱仪的心脏,其作用是使样品分子或原子电离成离子。最常用的离子源有电子轰击离子源,化学电离,场电离,快原子轰击,二次离子质谱,场解吸及大气压离子源,其中,电子轰击离子源产生的离子流率高,稳定性好,灵敏度高,因而应用最广泛。

质量分析器: 其作用是将离子源来的离子按质荷比的大小进行分离和排列。目前有四种质量分析器:单聚焦质量分析器,双聚焦质量分析器,飞行时间质量分析器以及四极质量分析器,各质量分析器的分离原理请参考相关资料。

离子检测器: 质谱检测器有三种:照相板,法拉第环及电子倍增管,其中,照相板是应用最早的质谱检测器,目前只用在某些无机质谱仪中;法拉第环检测器方便,廉价,但灵敏度差;电子倍增管检测器灵敏度高且时间差可以忽略,是现代质谱仪中最常用的检测器。

(二) 质谱的表示方法:

在质谱分析中,质谱的表示方法主要有图形和表格两种形式。图 14-5 是甲苯的质谱图,

表 14-7 是甲苯的质谱。在质谱图中, 横坐标为质荷比、纵坐标为离子相对丰度, 每个质谱峰表示一种质荷比的离子。将最强的峰的丰度作为基准峰 (100%), 其他离子峰的丰度采用相对于基准峰丰度的百分比来表示, 质谱峰的丰度与该种离子的含量成正比。根据质谱峰出现的位置, 即质荷比, 可以进行定性分析; 根据质谱峰的丰度可进行定量检测。对于有机化合物可以根据质谱峰的质荷比和相对丰度确定其分子结构。

表 14-7 甲苯的质谱表

| m/e | 相对丰度 (%) | m/e | 相对丰度 (%) |
|-----|----------|-----|--------------|
| 28 | 4.4 | 63 | 8.6 |
| 39 | 16 | 65 | 11 |
| 45 | 3.9 | 91 | 100 (基峰) |
| 50 | 6.3 | 92 | 68 (M^+) |
| 51 | 9.1 | 93 | 5.3 |
| 62 | 4.1 | 94 | 6.21 |

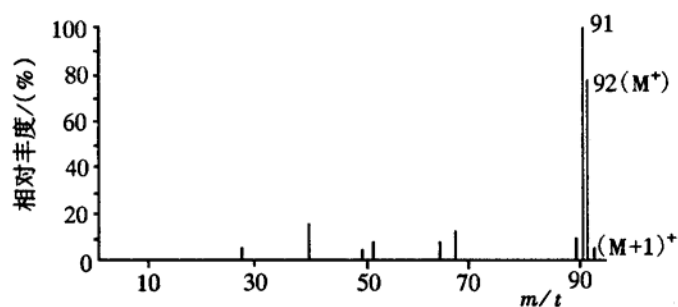


图 14-5 甲苯的质谱图

(三) 质谱峰的类型:

一种分子的质谱图中一般有许多个质谱峰, 因为在离子源中分子不仅是简单地失去一个电子, 而且化学键也常常断裂而形成带正、负电荷及中性的碎片, 另外分子或离子还可以发生重排。在质谱图中比较重要的质谱峰有分子离子峰、同位素离子峰、碎片离子峰、重排峰及亚稳离子峰。一种分子的质谱峰受分子结构、离子源的种类、离子源的能量及仪器构造的影响。

1. 分子离子峰与碎片离子峰

一个分子失去一个电子即为分子离子 (也称母离子, M^+), 在一个化合物的质谱图中分子离子峰是除了同位素峰之外质荷比最大的质谱峰, 在质谱的右侧, 其质量即为化合物的分子量 M 。形成分子离子所需的能量很低, 一般有机分子的电离能在 $7\sim 15$ eV 的范围, 而电子轰击源常选用的轰击电子能量为 $50\sim 80$ eV, 因此, 被轰击的分子, 除了形成分子离子外, 尚有足够的能量使化学键断裂, 形成带正、负电荷及中性的碎片粒子, 有机分子也可能获得一个电子而成为阴离子, 但这种几率只有千分之一左右。其中, 带正电的分子离子和碎片离子, 能够到达检测器而被检出, 表现在质谱图上为分子离子峰和碎片离子峰; 中性粒子不能被磁场加速, 不会有中性粒子的质谱峰; 带负电的阴离子, 运动到相反的方向, 在一般的质谱仪中也检查不出来。

2. 同位素离子峰

组成有机化合物的元素除了 P、I 和 F 外, 其他常见元素如 H、C、N、O、S、Cl 和 Br 等都有天然同位素, 不同元素的天然同位素的丰度是不同的, 如 ^{12}C 的丰度是 98.93%, ^{13}C , 1.07%; ^{32}S 的丰度是 95.02%, ^{33}S , 0.77%, ^{34}S , 4.21%。分子离子峰(M)由丰度最大的由同位素元素组成, 若分子中含有比丰度最大的同位素大一个或两个质量单位的一种和几种同位素时, 则在质谱图中将会出现分子离子峰的伴峰, 即同位素峰 $(M+1)^+$, $(M+2)^+$, $(M+3)^+$, $(M+4)^+$ 。同位素峰的相对丰度比与同位素的丰度比是相当的, 因此借用同位素峰的信息可以帮助判断某一元素在化合物中是否存在。

3. 重排离子峰

分子离子裂解时,除简单的断裂外产生碎片离子外,还可能发生原子或原子团的重排,产生比较稳定的重排离子,形成重排离子峰。发生重排的基团常常是氢原子,最典型的重排方式是 γ -氢原子转移到羰基氧原子上。可以发生这类重排的化合物有: 含 C=O, P=O, S=O 基团的化合物, 另外, 烯烃类和苯环化合物的分子断裂时也易发生重排。

4. 亚稳离子峰

有些离子在进入接受器之前可能发生碰撞而断裂形成亚稳离子。亚稳离子峰比较容易识别, 峰的相对丰度小, 峰钝, 比一般质谱峰宽 2-5 倍, 质荷比通常不是整数。通过亚稳离子峰可以了解离子的断裂部位, 并确定丢失的中性碎片, 有助于推断化合物的结构。

五、色谱-质谱联用技术

质谱仪(MS)具有灵敏度高、定性效果好的特点, 它可以确定化合物的分子量、分子式甚至官能团。但是, 一般的质谱仪只能对单一组分给出良好的定性, 对混合物是无能为力的, 且进行定量分析也较复杂。而色谱仪(气相色谱仪和液相色谱仪)对混合物中各组分的分离和定量有着显著的优势, 但严格来说, 色谱仪难以做定性分析, 因色谱仪是依靠保留时间来定性的, 而同一物质的保留时间在不同的分析条件下常常不同, 所以仅用色谱难以进行确切的定性。因此两者的有效结合可提供一种对复杂化合物最为有效的定性定量分析的方法。色谱和质谱联用的关键问题是如何解决色谱的流出物与质谱相连的接口转换。

目前常用的色谱-质谱连用方法有: 气相色谱-质谱联用(GC-MS), 液相色谱-质谱联用(LC-MS), 另外还有串联质谱联机(MS-MS), 毛细管区带电泳-质谱联用(CZE-MS)等等。在此只简单地介绍前两种方法。

(一) 气相色谱-质谱联用

气相色谱在常压条件下工作, 流出组分也处于常压, 且带有大量的载气, 而质谱仪则在高真空条件下工作, 流出组分不能直接进入质谱仪, 两者联用时要进行接口转换, 以解决常压到真空的过渡并分离载气浓缩被测组分。

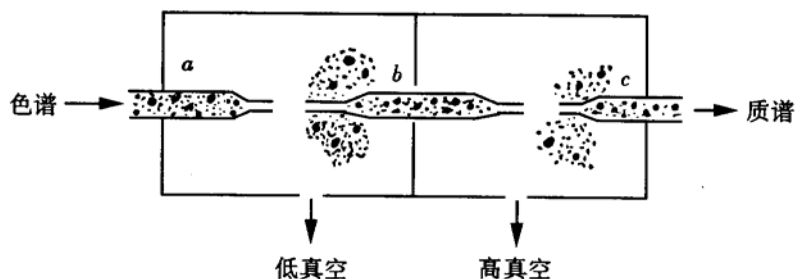


图 14-6 喷嘴分子分离器原理图

常用的接口是喷嘴分子分离器, 原理图如图 14-6 所示。其工作原理是基于气体分子量不同, 扩散速度也不同。分子量小的气体, 如色谱流出物中的大量载气氮, 扩散快, 由入口进入低真空室时, 大部分被扩散而分离。进入 b 入口时, 被测组分的分子量大、扩散慢而浓集,

在高真空室, 样品进一步浓集, 至 C 出口时已除去了载气组分并达到高真空的质谱工作条件。

用于与 GC 联用的质谱仪中四极质量分离器由于具有较快的扫描速度而应用得比较多。组分从分离器出来经离子源电离后, 位于离子源出口狭缝安装的总离子流检测器检测到离子流信号, 经放大记录后成为色谱图。当某组分出现时, 总离子流检测器发出触发信号, 启动质谱仪开始扫描而获得该组分的质谱图。

气-质联用技术目前已成为食品危害残留物质分析的主要手段之一。然而对于高温下不能汽化或热不稳定的物质仍需要采用高效液相色谱法, 具有高灵敏度和高选择性的液相色谱-质谱技术是近年来农残分析发展最快的手段之一。

(二) 液相色谱-质谱联用

同气相色谱-质谱联用相比, 液相色谱和质谱联用的难度大得多。因为液相色谱分离试样时, 用了大量的溶剂作流动相, 如果直接将液相色谱流出物送入质谱仪器, 则远远超过质谱仪器真空系统所能承受的范围, 而且还会导致混乱的质谱数据。如何有效地除去流动相而尽可能地少损失或不损失样品是 LC-MS 联用技术的关键。目前, 研究理想的 LC-MS 接口仍是 LC-MS 联用技术中颇为热门的难题。

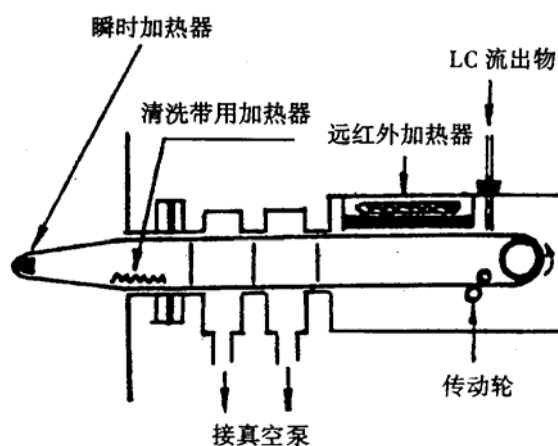


图 14-7 传送带式 LC-MS 接口

传送带式接口是一种较成熟的接口方法。它的结构示意图如图 14-7, 它是由一根不锈钢或聚酰亚胺传送带将 LC 流出物通过加热后, 除去溶剂, 并在送入离子源的端头时通过瞬间加热, 使样品送入离子源电离。剩余样品由清洗带用加热器加热后除去。这种接口对挥发性的非极性溶剂, 传送量可达 1-1.5 mL/min, 但对极性溶剂如水等, 则只能以 0.05~0.15 mL/min 的流量送入; 而且这种接口的不锈钢带存在记忆效应与热催化作用; 聚酰亚胺又受温度限制, 因而在使用上也受到很大限制。

最近, 发展了热喷雾接口和离子喷雾接口。在热喷雾接口中, 来自 LC 的流出液通过不锈钢柱直接进入喷雾器中, 靠高速空气或氮气的喷射变成细雾, 细雾被同轴气体吹入加热器内气化, 再进入大气压下化学电离源(APCI)反应区电离, 样品离子再进入质谱仪分析。热喷雾 LC-MS 接口的方法可用于热稳定性较好的化合物分析。在离子喷雾接口中, 被分析样品液体进入一个带有高电压的喷雾器, 形成带有高电荷微滴的雾, 当微滴蒸发时, 形成含有一个或多个电荷的离子, 进入质谱可以进行 pg 级分子完全分析, 这对于只有极少量样品的分析极为重要。

六、酶联免疫吸附剂测定 (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)

(一) ELISA 分析法的基本原理

ELISA 测定法的实质是采用酶标记的抗体或抗原(或抗抗体)与样品中的抗原或抗体间

进行的抗原-抗体反应。该法的优点是：①可以通过颜色来快速做定性结果分析；②特异性强；③灵敏度高；④酶标板上一次可作多份样品检测。

(二) ELISA 标记酶的特点及种类

ELISA 检测法中对标记酶的要求很高，应具备：①纯度高、溶解性高、特异性强、稳定性高；②测定方法应简单、敏感、快速；③与底物作用后会呈现颜色；④与抗体交联后仍保持酶的活性。最常用的是辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP)，它广泛存在于植物界，辣根中的含量尤高。HRP 是一种糖蛋白，由酶蛋白和铁卟啉结合而成，相对分子质量为 40000，其底物是二氨基联苯胺 (DAB)，DAB 经酶解可产生棕褐色沉淀物，因而可用目测或用比色法测定。此外，还有碱性磷酸酶、酸性磷酸酶、苹果酸脱氢酶、葡萄糖氧化酶和 Beta-D-半乳糖苷酶等可供应用。

(三) ELISA 分析法的类型

ELISA 可用于测定抗原，也可用于测定抗体。常用的是以下三种类型：

1. 双抗体夹心法 双抗体夹心法是检测抗原最常用的方法，如图 14-8 所示，操作步骤如下。

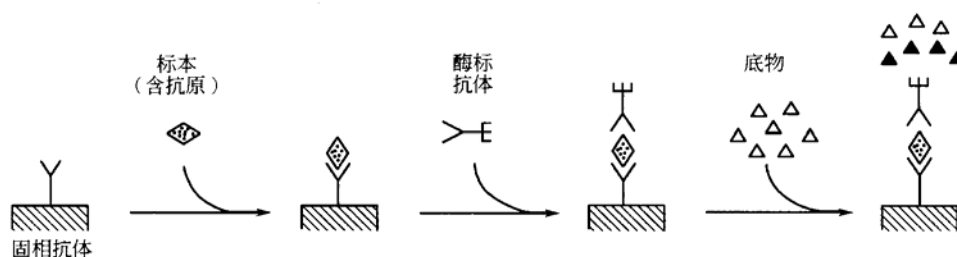


图 14-8 双抗体夹心法

- 将特异性抗体与固相载体连接，形成固相抗体 洗涤除去未结合的抗体及杂质。
- 加受检标本 使之与固相抗体接触反应一段时间，让标本中的抗原与固相载体上的抗体结合，形成固相免疫复合物。洗涤除去其他未结合的物质。
- 加酶标抗体 使固相免疫复合物上的抗原与酶标抗体结合。彻底洗涤未结合的酶标抗体。此时固相载体上带有的酶量与标本中受检物质的量正相关。
- 加底物 夹心式复合物中的酶催化底物成为有色产物。根据颜色反应的程度进行该抗原的定性或定量。

根据同样原理，将大分子抗原分别制备固相抗原和酶标抗原结合物，即可用双抗原夹心法测定标本中的抗体。

2. 间接法 间接法是检测抗体最常用的方法，如图 14-9 所示，其原理为利用酶标记的抗体以检测已与固相抗原结合的受检抗体，故称为间接法。操作步骤如下。

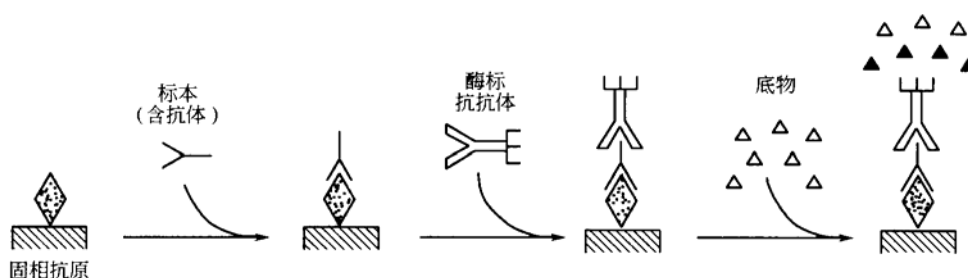


图 14-9 间接法

- a. 将特异性抗原与固相载体连接, 形成固相抗原 洗涤除去未结合的抗原及杂质。
 - b. 加稀释的受检血清, 其中的特异抗体与抗原结合, 形成固相抗原抗体复合物。经洗涤后, 固相载体上只留下特异性抗体。其他免疫球蛋白及血清中的杂质由于不能与固相抗原结合, 在洗涤过程中被洗去。
 - c. 加酶标抗抗体 与固相复合物中的抗体结合, 从而使该抗体间接地标记上酶。洗涤后, 固相载体上的酶量就代表特异性抗体的量。
 - d. 加底物显色 颜色深度代表标本中受检抗体的量。
- 本法只要更换不同的固相抗原, 可以用一种酶标抗抗体检测各种与抗原相应的抗体。
3. 竞争法 竞争法可用于测定抗原, 也可用于测定抗体, 如图 14-10 所示。以测定抗原为例, 受检抗原和酶标抗原竞争与固相抗体结合, 因此结合于固相的酶标抗原量与受检抗原的量呈反比。操作步骤如下。

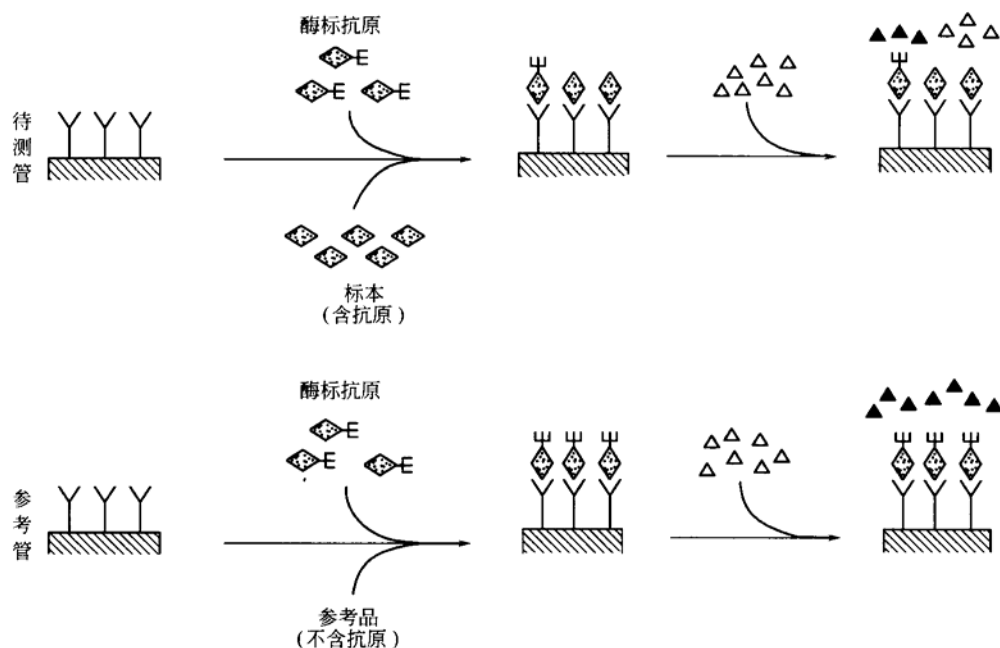


图 14-10 竞争法

- a. 将特异抗体与固相载体连接, 形成固相抗体, 然后洗涤。
- b. 待测管中加受检标本和一定量酶标抗原的混合溶液, 使之与固相抗体反应。如受检标本中无抗原, 则酶标抗原能顺利地于固相抗体结合。如受检标本中含有抗原, 则与酶标抗原以同样的机会与固相抗体结合, 竞争性地占去了酶标抗原与固相载体结合的机会, 使酶标抗原与固相载体的结合量减少。对照管中只加酶标抗原, 保温后, 酶标抗原与固相抗体的结合可达最充分的量。然后洗涤。
- c. 加底物显色 对照管中由于结合的酶标抗原最多, 故颜色最深。对照管颜色深度与待测管颜色深度之差, 代表受检标本抗原的量。待测管颜色越淡, 表示标本中抗原含量越多。

(四) ELISA 试剂盒

目前 ELISA 试剂盒已得到广泛宣传。现在市面上关于针对抗生素残留检测的商品化 ELISA 试剂盒有许多, 例如英国 Randox 公司、德国 r-Biopharm 公司、意大利 Tecna 及美国 Idexx 公司等的产品。其中在中国使用较多的是英国 Randox 公司和德国 r-BioPharm 的产品。英国 Randox 公司 ELISA 试剂盒已获 AOAC 认可, 2001 年 12 月 21 日国家质量监督检验检疫总局推荐 Randox 公司的 ELISA 试剂盒作为动物激素、抗生素残留的首选筛选试剂。

第三节 食品中农药残留及其检测

农药是指用于预防、消灭或者控制危害农业、林业的病、虫、草及其它有害生物, 以及有目的地调节植物、昆虫生长的药物的通称。目前, 全世界实际生产和使用的农药品种有上千种, 其中绝大部分为化学合成农药。按用途可分为杀虫剂、杀菌剂、除草剂、杀螨剂、植物生长调节剂和杀鼠药等; 按化学成分可分为有机磷类、氨基甲酸酯类、有机氯类、拟除虫菊酯类、苯氧乙酸类、有机锡类等; 按药剂的作用方式, 可分为触杀剂、胃毒剂、熏蒸剂、内吸剂、引诱剂、驱避剂、拒食剂、不育剂等。按其毒性可分为高毒、中毒、低毒三类; 按杀虫效率可分为高效、中效、低效三类; 按农药在植物体内残留时间的长短可分为高残留、中残留和低残留三类。

农药残留是指由于喷施农药后存留在环境和农产品、食品、饲料、药材中的农药及其降解代谢产物, 还包括环境背景中存有的污染物或持久性农药的残留物再次在商品中形成的残留。一般来说, 农药残留量是指农药本体物及其代谢物的残留量的总和, 表示单位为 mg / kg 。当农药过量或长期施用, 导致食物中农药残存数量超过最大残留限量 (MRL) 时, 将对人和动物产生不良影响, 或通过食物链对生态系统中其他生物造成毒害。本节主要介绍目前市面上使用比较普遍的几类农药的残留分析, 包括: 有机氯类农药、有机磷类农药、氨基甲酸酯类农药、拟除虫菊酯类农药等的残留分析。

一、有机氯农药残留及其检测

1. 有机氯农药的性质及常见品种

有机氯农药 (Organochlorine pesticides, OCPs) 是具有杀虫活性的氯代烃的总称。通常, OCPs 分为三种主要的类型, 即 DDT 及其类似物、六六六和环戊二烯衍生物。这三类不同的氯代烃均为神经毒性物质, 脂溶性很强, 不溶或微溶于水, 在生物体内的蓄积具有高度选择性, 多贮存于机体脂肪组织或脂肪多的部位, 在碱性环境中易分解失效。

常见的有机氯农药有滴滴涕, DDT, 六六六 (也称 BHC, 工业品是多种异构体的混合物, 其中, 生物活性组分 γ -BHC 仅占 15% 左右, 其余均为无效组分), 林丹 (lindane, 99% γ -BHC), 氯丹 (chlordane), 硫丹 (endosulfan), 毒杀芬 (camphechlor), 七氯 (heptachlor), 艾氏剂 (aldrin), 狄氏剂 (dieldrin), 异狄氏剂 (endrin) 等。

由于这类农药具有较高的杀虫活性, 杀虫谱广, 对温血动物的毒性较低, 持续性较长, 加之生产方法简单, 价格低廉, 因此, 这类杀虫剂在世界上相继投入大规模的生产和使用, 其中, “六六六”、DDT 等曾经成为红极一时的杀虫剂品种。但, 从 20 世纪 70 年代开始, 许多工业化国家相继限用或禁用某些 OCPs, 其中主要是 DDT、“六六六”及狄氏剂。我国早已停止生产和使用有机氯农药。但由于其性质稳定, 在自然界不易分解, 属高残留品种, 因此, 在世界许多地方的空气、水域和土壤中仍能够检测出微量 OCPs 的存在, 并会在相当长时间内继续影响食品的安全性, 危害人类健康。

2. GC-ECD 法测定有机氯农药残留

在有机氯农药分析领域, 最为广泛使用的检测技术是气相色谱 / 电子捕获检测器 (GC-ECD), 它具有灵敏度高、分离效果好、定量准确等特点。此处介绍的方法节录自 GB/T 17332-1998, 主要适用于粮食、蔬菜等作物中机氯农药残留的检测。

(1) 原理

样品中的有机氯农药经石油醚提取, 硅藻土柱层析净化后, 采用气相色谱-电子捕获检测器检测, 根据色谱峰的保留时间定性, 外标法定量。

(2) 样品提取

- ① 粮食: 称取 10 g 粮食试样于三角瓶中, 加入 20 mL 石油醚, 振荡 30 min。
- ② 蔬菜: 称取 20 g 样品于三角瓶中, 加入 30 mL 丙酮和 30 mL 石油醚, 捣碎、提取 2 min,

过滤, 向滤液加入 100 mL 2% 硫酸钠溶液, 摇匀, 静置分层, 下层溶液用 20 mL × 2 石油醚萃取, 合并三次石油醚萃取液, 过无水硫酸钠层, 浓缩至 10 mL。

(3) 净化与浓缩

在玻璃层析柱中自下而上依次加入 1 cm 高无水硫酸钠、5 g 5% 灭活弗罗里硅土 (层析用弗罗里硅土于 620 °C 灼烧 4 h 后备用, 用前 140 °C 烘 2 h, 趁热加 5% 水灭活)、1 cm 高无水硫酸钠, 轻轻敲实, 先用 20 mL 石油醚淋洗柱, 弃去淋洗液, 柱面要留有少量石油醚液, 准确吸取 2 mL 提取浓缩液上柱, 用 100 mL 石油醚-乙酸乙酯 (95 : 5) 洗脱, 洗脱液浓缩至小量, 用少量石油醚定容至 1 mL, 供 GC 分析。

(4) 测定-色谱条件

色谱柱: 石英毛细管柱, 0.25 mm × 15 m, 内涂 OV-101 固定液

温度: 180 °C 以 5 °C/min 升至 230 °C 保持 30 min, 进样口及检测器温度为 250 °C。

载气流速: 氮气 40 mL / min

进样量: 1 μl

(4) 含量计算: 略。

3. 薄层色谱法测定有机氯农药残留

(1) 原理

食品样品中的有机氯农药 (如六六六及 DDT 类) 经提取、净化、浓缩、点样后, 在氧化铝薄层上被分离, 用硝酸银显色, 经紫外线照射可生成黑色斑, 与标准品比较可进行定性和半定量。

(2) 样品处理

提取、净化及浓缩 均同气相色谱法。

(3) 测定

① 薄层板的制备: 称取氧化铝 9 g, 加 1 mL 1% 硝酸银溶液及 13 mL 水于研钵中研磨成糊状, 立即涂布在三块 10 cm × 20 cm 玻璃板上, 薄层厚度 0.25 mm, 于 100 °C 烘 0.5 h, 置干燥器中, 避光保存。

② 点样: 在同一薄层板的底端 2 cm 处, 用微量注射器或经标定的自制点样微管点 3~10 ul 的测定液和标准品液。保证至少有 4 个标准品点, 标准品的点样量为 0.02 μg、0.04 μg、0.08 μg、0.1 μg, 各点相距 0.5-1.0 cm。

③ 展开剂: 丙酮-石油醚=1 : 99, 体积比

④ 显色: 将展开、晾干的薄层板于通风厨中喷以 10 mL 1% 硝酸银显色剂, 吹干后距紫外灯 8 cm 处照射 10~20 min, 则六六六、DDT 各异构体呈现棕黑色斑点。分别测量六六六、DDT 各异构体斑点的 Rf 值。

⑤ 定性定量分析: 对照比较样液斑点与标准斑点的 Rf 值即可对六六六、滴滴涕等各个异构体进行定性分析。采用目测比较法进行半定量, 即目测样品斑点的大小、颜色深浅, 与一系列相应的标准农药异构体斑点相比较, 进而近似地估测原样品中的含量。

二、有机磷农药残留及其检测

1. 有机磷农药的特性及种类

有机磷农药 (OPPs) 是含有 C—P 键或 C—O—P、C—S—P、C—N—P 键的有机化合物。在农药方面, 它不但可以作为杀虫剂、杀菌剂, 而且也可以作为除草剂和植物生长调节剂。大部分有机磷农药不溶于水, 而溶于有机溶剂, 在中性和酸性条件下稳定, 不易水解, 在碱性条件下易水解而失效。

目前正式商品化的有机磷农药有上百种。常见的有代表性的或影响较大的有机磷农药有敌敌畏 (dichlorvos), 二溴磷 (naled), 久效磷 (monocrotophos), 磷胺 (phosphamidon), 对硫磷

(parathion), 甲基对硫磷(parathion-methyl), 杀螟硫磷(fenitrothion), 倍硫磷(fenthion), 内吸磷(1059, demeton), 双硫磷(temephos), 毒死蝉(chlorpyrifos)二嗪农(diazinon), 辛硫磷(phoxim), 氧乐果(omethoate), 丙溴磷(profenofos), 甲拌磷(3911, phorate), 马拉硫磷(malathion), 乐果(dimethoate), 甲胺磷(methamidophos), 乙酰甲胺磷(acephate), 敌百虫(Trichlorfon), 杀虫畏(tetrachlorvinphos), 杀螟威(GC3583), 杀螟腈(cyanophos), 异丙胺磷(isofenphos)等。

有机磷杀虫剂由于药效高, 易于被水、酶及微生物所降解, 很少残留毒性等, 因而从 20 世纪 40 年代到 70 年代得到飞速发展, 在世界各地被广泛应用, 有 140 多种化合物正在或曾被用作农药。但是, 有机磷杀虫剂存在抗性问题, 某些品种存在急性毒性过高和迟发性神经毒性问题。从 70 年代以后, 有机磷杀虫剂的研究和开发速度大大放慢了, 但在杀虫剂领域, 目前它仍被广泛使用。过量或施用时期不当是造成有机磷农药污染食品的主要原因。有机磷农药主要是抑制生物体内的胆碱脂酶的活性, 导致乙酰胆碱这种传导介质代谢紊乱, 产生迟发性神经毒性, 引起运动失调、昏迷、呼吸中枢麻痹甚至死亡。

2 有机磷农药的检测

文献中报导的有机磷农残分析方法包括色谱法、波谱法和酶抑制法三大类, 而以色谱法中的 GC 及 HPLC 法应用的最多。AOAC 在 20 世纪 80 年代就对大部分有机磷农药建立了气相色谱分析方法。近年来, AOAC 又有近半数的有机磷农药建立了 HPLC 检测法。

我国食品卫生国家标准 GB/T 17331-1998 采用的是气相色谱法检测有机磷农残。该法的适用范围是粮食、蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留(见后文)的检测, 此处将蔬菜中有机磷农药残留的检测方法的主要内容节录如下。

(1) 原理

样品中残留的有机磷和氨基甲酸酯类农药经有机溶剂提取, 并经液液分配、微型柱净化等步骤除去干扰物质, 采用气相色谱-氮磷检测器(GC-FTD)法检测, 根据色谱峰的保留时间定性, 外标法定量。

(2) 样品提取: 称 10 g 蔬菜试样于三角瓶中, 加入与样品含水量之和约为 10 g 的水和 20 mL 丙酮, 振荡提取 30 min 后, 过滤, 取 20 mL 滤液于分液漏斗中,

(3) 净化与浓缩: 向分液漏斗中加入 40 mL 凝结液(5 g 氯化铵+10 mL 磷酸+100 mL 水, 用前稀释 5 倍)和 1 g 助滤剂 celite545, 轻摇后放置 5 min, 过滤, 滤液加入 3 g NaCl, 用约 50、50、30 mL 二氯甲烷萃取三次, 合并二氯甲烷萃取液, 经无水硫酸钠漏斗过滤, 滤液在 35 °C 水浴上浓缩至少量, 用氮气吹干。残渣用少量正己烷溶解, 然后上微型(1 g 硅胶, 正己烷湿法装柱)硅胶层析柱, 依次用 4 mL 正己烷-丙酮(7:3), 4 mL 乙酸乙酯, 8 mL 丙酮-乙酸乙酯(1:1), 4 mL 丙酮-甲醇(1:1)洗脱, 合并洗脱液, 45 °C 下浓缩近干, 用丙酮定容至 1 mL, 供 GC 分析。

(4) 测定-色谱条件

色谱柱: 石英毛细管柱, 0.32 mm × 25 m, 内涂 OV-101 或 BP5 固定液

检测器: 氮磷检测器

温度: 140 °C 以 5 °C/min 升至 185 °C 保持 2 min, 再以 2 °C/min 升至 195 °C 继而以 10 °C/min 升至 235 °C 保持 1 min, 进样口温度为 240 °C。

气流速度: 氮气 50 mL / min, 氢气 0.5 kg / cm², 空气 0.3 kg / cm²,

进样量: 1 μl

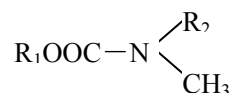
(4) 含量计算: 略。

三、氨基甲酸酯类农药残留及其检测

1. 氨基甲酸酯类农药的性质及常用品种

氨基甲酸酯类农药, 可视为氨基甲酸的衍生物, 氨基甲酸是极不稳定的, 会自动分解为

CO₂ 和 H₂O, 但氨基甲酸的盐和酯均相当稳定, 该类农药通常具有以下通式:



其中, R₁ 几乎都是苯环、稠环、杂环等基团, 其羟基化合物 R₁OH 往往呈弱酸性; R₂ 是氢或者是一个易于被化学或生物方法断裂的基团。大多数氨基甲酸酯类的纯品为无色和白色晶状固体, 易溶于多种有机溶剂中, 但在水中溶解度较小, 只有少数如涕灭威、灭多虫等例外。氨基甲酸酯一般没有腐蚀性, 其储存稳定性很好, 只是在水中能缓慢分解, 提高温度和碱性时分解加快。

常见的氨基甲酸酯农药有甲萘威(carbaryl), 戊氰威(nitrilacarb), 呋喃丹(carbofuran), 仲丁威(fenobucarb), 异丙威(isoprocarb), 速灭威(metolcarb), 残杀威(propoxur), 涕灭威(aldicarb), 抗蚜威(pirimicarb), 灭虫威(methiocarb), 灭多威(methomyl), 恶虫威(bendiocarb), 硫双灭多威(thiodicarb), 双甲咪(amitraz)等。

这些氨基甲酸酯农药在农业生产与日常生活中, 主要用作杀虫剂、杀螨剂、除草剂、杀软体动物剂和杀线虫剂等。20 世纪 70 年代以来, 由于有机氯农药受到禁用或限用, 且抗有机磷农药的昆虫品种日益增多, 因而氨基甲酸酯的用量逐年增加, 这就使得氨基甲酸酯的残留情况倍受关注。

2. 氨基甲酸酯类农药残留的测定

GC-ECD 法测定氨基甲酸酯类农药残留与本节有机磷农残的测定方法相同, 详见 GB/T 17331-1998。

四、拟除虫菊酯类农药残留及其检测

1. 拟除虫菊酯的特性及常用品种

拟除虫菊酯(pyrethroids)是近年来发展较快的一类重要的合成杀虫剂。拟除虫菊酯分子较大, 亲脂性强, 可溶于多种有机溶剂, 在水中的溶解度小, 在酸性条件下稳定, 在碱性条件下易分解。拟除虫菊酯具有高效、广谱、低毒和生物降解等特性, 拟除虫菊酯和除虫菊酯杀虫剂在光和土壤微生物的作用下易转变成极性化合物, 不易造成污染。拟除虫菊酯在化学结构上具有共同的特点之一是分子结构中含有数个不对称碳原子, 因而包含多个光学和立体异构体。这些异构体又具有不同的生物活性, 即使同一种拟除虫菊酯, 总酯含量相同, 若包含的异构体的比例不同, 杀虫效果也大不相同。

常见的拟除虫菊酯有烯丙菊酯(allethrin), 胺菊酯(tetramethrin), 醚菊酯(ethofenprox), 苯醚菊酯(phenothrin), 甲醚菊酯(methothrin)氯菊酯(permethrin), 氯氰菊酯(cypermethrin), 溴氰菊酯(deltamethrin), 氰菊酯(fenpropanate), 杀螟菊酯(phencyclate), 氰戊菊酯(fenvalerate), 氟氰菊酯(flucythrins), 氟胺氰菊酯(flualinate), 氟氰戊菊酯(flucythrinate), 溴氟菊酯(brothrin)等。

1973 年第一个对光稳定的拟除虫菊酯苯——醚菊酯开发成功之后, 溴氰菊酯、氯氰菊酯、杀灭菊酯等优良品种相继问世。目前, 已合成的菊酯数以万计, 迄今已商品化的拟除虫菊酯有近 40 个品种, 在全世界的杀虫剂销售额中占 20%左右。拟除虫菊酯主要应用在农业上, 如防治棉花、蔬菜和果树的食叶和食果害虫, 特别是在有机磷、氨基甲酸酯出现抗药性的情况下, 其优点更为明显。除此之外, 拟除虫菊酯还作为家庭用杀虫剂被广泛应用, 它可防治蚊蝇、蟑螂及牲畜寄生虫等。

2. 拟除虫菊酯的残留的检测

参考本节中有机氯农药残留的检测, 详见 GB/T 17332-1998。

第四节 食品中兽药残留及其检测

一、兽药残留的种类与危害

典型的兽药是指用于预防和治疗畜禽疾病的药物。但是,随着集约化养殖生产的开展,一些化学的、生物的药物成分被开发成具有某些功效的动物保健品或饲料添加剂,也属于兽药的范畴。兽药的主要用途有防病治病、促进生长、提高生产性能、改善动物性食品的品质等。兽药残留是指动物性产品的任何可食部分含有兽药母化合物或其代谢物。兽药最高残留限量(MRLVD)是指某种兽药而在食物中或食物表面产生的的最高允许兽药残留量(单位 $\mu\text{g}/\text{kg}$,以鲜重计)。兽药残留主要是由于各种正常用药和药物滥用造成的,另外,休药期(是指自停止给药到动物获准屠宰或其动物性产品获准上市的间隔时间)过短,是造成动物性食品兽药残留过量的另一个重要原因。常见兽药残留的种类如下。

1. 抗生素类药物 多为天然发酵产物,是临床应用最多的一类抗菌药物,如青霉素类、氨基糖苷类、大环内酯类、四环素类、螺旋霉素、链霉素、土霉素、金霉素等。青霉素类最容易引发超敏反应,四环素类、链霉素有时也能引起超敏反应。轻至中度的超敏反应一般表现为短时间内出现血压下降、皮疹、身体发热、血管神经性水肿、血清病样反应等,极度超敏反应可能导致过敏性休克,甚至死亡。长期摄入含氨基糖苷类残留超标的动物性食品,可损害听力及肾脏功能。

2. 磺胺类药物 主用于抗菌消炎,如磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶,磺胺咪,菌得清、新诺明等。近年来,磺胺类药物在动物性食品中的残留超标现象,在所有兽药当中是最严重的。长期摄入含磺胺类药物残留的动物性食品后,药物可不断在体内蓄积。磺胺类药主要以原形及乙酸磺胺的形式经肾脏排出,在尿中浓度较高,其溶解度又较低,尤其当尿液偏酸性时,可在肾盂、输尿管或膀胱内析出结晶,产生刺激和阻塞,造成泌尿系统损伤。引起结晶尿、血尿、管型尿、尿痛、尿少甚至尿闭。

3. 硝基呋喃类药物 主用于抗菌消炎,如呋喃唑酮、呋喃西林、呋喃妥因等。通过食品摄入超量硝基呋喃类残留后,对人体造成的危害主要是胃肠反应和超敏反应。剂量过大或肾功能不全者,可引起严重毒性反应,主要表现为周围神经炎、药热、嗜酸性白细胞增多、溶血性贫血等。长期摄入可引起不可逆性末端神经损害,如感觉异常、疼痛及肌肉萎缩等,我国尚未制定硝基呋喃类药物残留检测国家标准。

4. 抗寄生虫类药物 主要用于驱虫或杀虫,如苯并咪唑、左旋咪唑、克球酚、吡喹酮等。而常用的苯并咪唑类抗寄生虫药物有丙硫苯咪唑、丙氧咪唑、噻苯咪唑、甲苯咪唑、丁苯咪唑等。食用残留有苯并咪唑类药物的动物性食品,对人主要的潜在危害是其致畸作用和致突变作用。对于妊娠期的孕妇有可能发生胎儿畸形,如短肢、兔唇等;对所有消费者来说,可能由于其致突变作用使消费者发生癌变和性染色体畸变,从而其后代有发生畸形的危险。

5. 激素类药物 主要用于提高动物的繁殖和加快生长发育速度,使用于动物的激素有性激素和皮质激素。而以性激素(包括多种内源性性激素、人工合成的类似性激素的类固醇化合物、人工合成的具有性激素某些特性的非类固醇化合物)最常用,如孕酮、睾酮、雌二醇、甲基睾酮,丙酸睾酮、苯甲酸雌二醇、己烯孕酮等。正常情况下,动物性食品中天然存在的性激素含量是很低的,因而不会干扰消费者的激素代谢和生理机能。但摄入性激素残留超标的动物性食品,可能会影响消费者的正常生理机能,并具有一定的致癌性,可能导致儿童早熟、儿童发育异常、儿童异性趋向等。

二、兽药残留检测举例

(一) HPLC 法测定肉中四环素族药物残留

1. 原理

样品经提取,微孔滤膜过滤后直接进样,用反相色谱分离,紫外检测器检测,与标准比较定量。

2. 混合标准溶液：分别吸取 1.0 mg/mL 土霉素、四环素的稀盐酸溶液各 1 mL, 1.0 mg/mL 金霉素水溶液 2 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加蒸馏水至刻度。此溶液每毫升含土霉素、四环素各 0.1 mg, 金霉素 0.2 mg, 临用现配。

3. 样品处理: 称取 5 g 切碎的肉样 (<5 mm), 置于 50 mL 三角烧瓶中, 加入 5% 高氯酸 25 mL, 振荡提取 10 min, 2000r / min 离心 3 min, 上清经 0.45 μm 滤膜过滤, 取 10 μl 滤液注入 HPLC。

4. HPLC 条件

检测器: 紫外检测器, 波长为 355nm,

色谱柱: ODS C18, 5 μm, 6.2 mm × 15 cm,

流动相: 乙睛 / 0.01 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (用 30% 硝酸调 pH 2.5) = 35/65 (V/V),

流速: 1.0 mL / min,

柱温: 室温。

(二) GC-ECD 法测定食品中硝基呋喃唑酮残留

1. 原理

将样品用乙酸乙酯抽提、浓缩后, 溶于异丙醇, 加入稀盐酸, 加热分解, 所得的 5-硝基呋喃醛用弗罗里硅柱精制后, 用 GC 测定。

2. 标准溶液及处理: 取纯 5-硝基呋喃醛用含内标物七氯 (heptachlorodicyclopentadiene) 的苯溶液 (约 10 ng / mL) 配成 10~1000 μg/mL 的标准溶液。

3. 样品处理: 称取 10.0 g 切碎均匀的样品, 加入 8.0 g 氯化钠, 15 mL 2% 偏磷酸溶液, 均质。装入 50 mL 离心管, 加入 10 mL 正己烷, 振荡 2 min 后, 3000r / min 离心 5 min, 弃去上层己烷。下层加入 3 × 10 mL 乙酸乙酯, 振摇, 离心, 合并乙酸乙酯层, 浓缩近干, 用 10 mL 异丙醇溶解残渣, 加入 20 mL 1 mol/L 盐酸, 70 °C 水浴中反应 25 min, 立即冷却, 移入分液漏斗中, 用 3 × 15 mL 苯振荡抽提, 浓缩抽提液至约 2 mL, 上弗罗里硅土层析柱, 用 30 mL 乙酸乙酯-苯 (5: 95) 混合液洗脱。洗脱液浓缩至干, 残渣用内标物七氯的苯溶液 (约 10 ng / mL) 溶解, 定容至 1.0 mL, 供气相色谱分析。

4. GC 条件

检测器: ⁶³Ni 电子捕获检测器,

色谱柱: 玻璃柱 15 m × 3 mm, 内填充 EGSS-X Chromosorb W,

温度: 柱温 190 °C, 进样口温度, 190 °C, 检测器为 220 °C。

第五节 食品中霉菌毒素及其检测

一、霉菌毒素的种类

霉菌是一些丝状真菌的通称, 在自然界分布很广, 几乎无处不有, 主要生长在不通风、阴暗、潮湿和温度较高的环境中。霉菌可非常容易地生长在各种食品上并产生危害性很强的霉菌毒素。目前已知的霉菌毒素约有 200 余种, 与食品关系较为密切的霉菌毒素有黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、杂色曲霉毒素、岛青霉素、黄天精、桔青霉素、展青霉素、单端孢霉毒素类、玉米赤霉烯酮、丁烯酸内酯等。已知有五种毒素可引起动物致癌, 它们是黄曲霉毒素(B₁、G₁、M₁)、黄天精、环氯素、杂色曲霉毒素和展青霉素。

霉菌污染食品可使食品的食用价值降低, 甚至完全不能食用, 造成巨大的经济损失。据统计全世界每年平均有 2% 的谷物由于霉变不能食用。霉菌毒素引起的中毒大多通过被霉菌污染的粮食, 油料作物以及发酵食品等引起。霉菌毒素多数有较强的耐热性, 一般的烹调加热方法不能使其破坏。当人体摄入的霉菌毒素量达到一定程度后, 可引起中毒。霉菌中毒往往表现为明显的地方性和季节性, 临床表现较为复杂, 有急性中毒、慢性中毒以及致癌、致畸和致突变等。食品中常见的几类霉菌毒素如下。

1. 黄曲霉毒素

黄曲霉毒素(aflatoxin, 简称为 AFT)是黄曲霉菌和寄生曲霉菌的代谢产物。目前已发现的 20 多种 AFT 均为二呋喃香豆素的衍生物。根据其在波长 365nm 紫外光下呈现不同颜色的荧光, 可分成 B (蓝紫色荧光)和 G (黄绿色荧光) 两大组; 又根据其 Rf 值不同, 分为 B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂ 等。人及动物摄入黄曲霉毒素 B₁ 和 B₂ 后, 在乳汁和尿中可检出其代谢产物黄曲霉毒素 M₁ 和 M₂。

黄曲霉毒素在水中的溶解度很低, 易溶解在油和一些有机溶剂中, 如氯仿、甲醇、乙醇等, 但不溶于乙醚、石油醚、己烷。黄曲霉毒素耐热, 100 °C, 20 h 也不能将其全部破坏, 在普通烹调加工的温度下破坏很少, 在 280 °C 时发生裂解。其结构式都有一内酯环, 内酯环被打开则荧光消失, 毒性消除。在水溶液中, 毒素的内酯环很容易与氧化剂起反应, 特别是与碱性试剂反应, 可部分水解为酚式化合物。

在各种黄曲霉毒素中以黄曲霉毒素 B₁ 的毒性最强, 污染最广泛。黄曲霉毒素 B₁ 可诱发人类肝癌, 对肝癌高发区人们的膳食进行调查发现, 膳食中黄曲霉毒素的污染水平与人类原发性肝癌的发病率呈很强的正相关。因此, 在食品卫生监测中, 主要以黄曲霉毒素 B₁ 为污染指标。

世界各国的农产品普遍遭受过黄曲霉毒素的污染, 黄曲霉毒素在食品中的污染大大地超过其他几种霉菌毒素的总和。主要污染的品种是粮油及其制品, 如花生、花生油、玉米、大米及棉籽等。

2. 赭曲霉毒素

赭曲霉毒素是分子结构类似的一组化合物, 包括赭曲霉毒素 A、B、C、D 和 α, 是由曲霉属和青霉属的某些菌种的次生代谢产物, 是谷物、大豆、咖啡豆和可可豆的常见污染物, 其中赭曲霉毒素 A 是该类毒素的代表化合物。赭曲霉毒素 A 微溶于水, 易溶于极性溶剂和稀的碳酸氢钠水溶液, 耐热, 稳定性强, 在紫外光下呈绿色荧光。赭曲霉毒素 A 的毒性较强, 接近黄曲霉毒素 B₁, 主要损伤肾脏。在巴尔干地方性肾病流行地区, 6%~18% 人群的血液中能检出赭曲霉毒素 A。1993 年国家癌症研究机构认为赭曲霉毒素 A 同时也是一种具有免疫抑制、神经毒性以及致癌、致畸形的物质。

3. 展青霉毒素

展青霉毒素是多种真菌的有毒代谢产物, 其分子式为 C₈H₈O₃, 该物质一方面是一种广谱的抗生素, 另一方面对小鼠、兔子等试验动物具有较强的毒性。其污染食品和饲料后产生的毒性远大于其抗菌作用。

容易污染食品和饲料并产生展青霉素的真菌主要有柛麻青霉、扩展青霉、棒曲霉、巨大曲霉、雪白丝衣霉等。展青霉素还能够对苹果及其制品造成严重污染, 1989~1990 年, 中国预防医学科学院等单位对我国水果制品展青霉素的污染情况进行调查的结果显示: 水果制品的原汁、原酱等半成品展青霉素的检出率达 76.9%, 含量为 18-953 μg/kg, 水果制品的成品展青霉素的检出率达 19.6%, 含量为 4-262 μg/kg。

高剂量的展青霉素对大鼠的肾及胃肠道有毒性作用, 也有致癌、致畸形的作用。目前, 已有十几个国家制定了水果及其制品中展青霉素的限量标准。我国 GB 14974-1994 中规定, 苹果和山楂半成品中展青霉素的最高限量标准为 100 μg/kg, 果汁、果酱、果脯、果酒和糖果类中展青霉素的最高限量标准为 50 μg/kg, 尚未制定国家标准检测方法。

4. 单端孢霉烯族化合物

单端孢霉烯族化合物是一组由镰刀菌的某些菌种 (主要有三线镰刀菌、拟枝孢镰刀菌、梨孢镰刀菌、木贼镰刀菌、禾谷镰刀菌、黄色镰刀菌) 产生的有毒代谢产物。镰刀菌属的菌种广泛分布于自然界, 主要侵害的谷物有玉米、小麦、大米、燕麦、大麦等。到目前为止, 已分离鉴定出 148 种单端孢霉烯族化合物, 其中污染谷物和饲料的主要有脱氧雪腐镰刀菌烯醇

(DON)、雪腐镰刀菌烯醇、二醋酸薰草镰刀菌烯醇、T-2 毒素等。该类化合物为无色结晶，难溶于水，溶于有机溶剂，非常稳定，在烹饪加工过程中很少被破坏，紫外光下无荧光。

该组化合物的主要毒性表现在细胞毒性、免疫抑制和致畸、致癌作用。关于单端孢霉烯族化合物造成的食物中毒在国内外已有多起报道，主要症状是恶心、呕吐、头痛、腹痛、腹泻等。

5. 玉米赤霉烯酮

玉米赤霉烯酮也称 F-2 毒素。镰刀菌属的多个菌种如禾谷镰刀菌、三线镰刀菌、粉红镰刀菌、半裸镰刀菌、木贼镰刀菌、黄色镰刀菌、茄病镰刀菌、串珠镰刀菌等都可以产生该毒素。这些菌广泛存在于土壤、空气及污染的谷物中，主要污染玉米，也污染大麦、小麦、燕麦等。玉米的阳性检出率可达 45%，最高含毒量可达 2909 mg/kg，小麦的阳性检出率可达 20%，含毒量为 0.36~11.05 mg/kg。

玉米赤霉烯酮对动物的急性毒性很小。该化合物具有雌激素样的作用，主要作用于生殖系统，可引起阴道和乳腺肿胀、流产、畸胎、死胎等。对玉米赤霉烯酮的最高限量很多国家已制定了标准，如巴西规定玉米中不超过 200 μg/kg，罗马尼亚规定所有食品中不超过 30 μg/kg，我国尚未制定限量。

6. 杂色曲霉素

杂色曲霉素主要是由杂色曲霉、构巢曲霉、皱褶曲霉、黄褐曲霉、四脊曲霉等产生，主要污染玉米、花生、大米、小麦等谷物。杂色曲霉素与黄曲霉素 B₁ 相似，也具有二呋喃杂氧蒽酮结构，研究证实杂色曲霉素可以转换为黄曲霉素 B₁。杂色曲霉素的分子式为 C₁₈H₁₂O₆，淡黄色结晶，熔点 246 °C，不溶于水、氢氧化钠或碳酸钠水溶液，易溶于氯仿、乙醚、苯等有机溶剂。紫外灯下有暗砖红色荧光。

杂色曲霉素是一种毒性很强的肝及肾脏毒素。肝癌高发区居民所食用的食物中杂色曲霉素的污染也较为严重。食品中杂色曲霉素的测定参见 GB/T 5009.25-1996，该标准采用的是薄层色谱法，喷三氯化铝显色，加热后，紫外光下观察。

7. 棒曲霉素

棒曲霉素主要是由棒曲霉、土曲霉、扩展青霉和寻麻曲霉等霉菌产生的内酯代谢物，可污染谷物、豆类及水果等，是食品和饲料的有毒污染物。对许多生物系统都有毒害作用，小白鼠口服 LD₅₀ 为 0.7 mg/kg，也有致畸、致癌作用。我国尚未制定限量或国家级标准测定方法。

8. 岛青霉毒素

岛青霉毒素是由岛青霉产生的代谢产物，岛青霉为青霉属。岛青霉类毒素包括黄天精、环氯素、岛青霉毒素、红天精等。并已证实黄天精和环氯素有致癌作用。国外报道的“黄变米”主要含有青霉属，最常分离的霉菌有黄绿青霉、岛青霉、和桔青霉等。“黄变米”是由于稻谷收割后，贮存中含水份过高，被霉菌污染后发生霉变所致，因为霉变呈黄色，故称：“黄变米”。

9. 其它霉菌毒素

串珠镰刀菌毒素，伏马菌素（主要是 FB₁）该两种毒素都可由串珠镰刀菌产生，二者皆为水溶性化合物，都有强烈的毒性；前者主要危害心肌，后者对不同试验动物表现不同的毒性作用，对马表现为神经毒性，对羊表现为肝肾病变，对猪表现为肺水肿症候等。

3-硝基丙酸是霉变甘蔗中节菱孢霉产生的主要毒性物质，是储运过程中的甘蔗霉变中毒的优势毒素。变质甘蔗中毒在我国北方地区常有发生，症状为呕吐、眼球偏侧凝视、阵发性抽搐，重患者可在 1~3 天内死亡。

二、霉菌毒素的检测

由于造成食品污染的霉菌种类很多，不同的霉菌又可产生多种毒素，而且尚有一些毒素

是未被认识的,因此,要对各种霉菌毒素都建立检测方法是不切实际的。在此仅就已建立国家标准检测方法的三类霉菌毒素的限量及检测做一下简介。

1. 黄曲霉毒素的检测

我国涉及黄曲霉毒素的限量及检测的国家标准有 GB 2761-1981 (食品中黄曲霉毒素 B₁ 允许量标准), GB 9676-1988 (牛乳及其制品中黄曲霉毒素 M₁ 限量卫生标准), GB/T 17480-1998 (酶联免疫吸附法测定饲料中黄曲霉毒素 B₁), GB/T 5009.22-1996 (薄层色谱法(第一法)/ELISA(第二法)测定食品中黄曲霉毒素 B₁), GB/T 5009.23-1996 (薄层色谱法(第一法)/微柱筛选法(第二法)测定食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂)及 GB/T 5009.24-1996 (薄层色谱法测定食品中黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁)。

2. 赭曲霉毒素 A 的检测

关于赭曲霉毒素 A 的限量标准, 1995 年 FAO 和 WHO 联合专家委员会推荐赭曲霉毒素 A 的周摄入量不得超过 100 ng/kg 体重。目前, 部分国家已制定了食品及饲料中赭曲霉毒素 A 的限量标准, 我国尚未制定。赭曲霉毒素 A 的测定参考我国国家标准 GB/T 13111-1991 谷物和大豆中赭曲霉毒素 A 的测定方法。

3. 单端孢霉烯族化合物的检测

我国国家标准 GB 16329-1996 规定小麦、玉米及其面粉中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的限量标准为 ≤1000 μg/kg。谷物及其制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定方法参见 GB/T 14929.5-1994; T-2 毒素的测定方法参考 GB/T 14933-1994 (小麦中 T-2 毒素的酶联免疫吸附测定方法)。

第六节 食品中天然有害物质及其检测

第六节 食品中天然有害物质及其检测

人类至今已经发现的食物种类是很丰富的,这是人类在不断地探索自然的过程中而积累的成果。其中包括了绝大多数的不含任何天然有害物质的食物,也包括少数的含有天然有害物质的食物。随着科学技术的发展,人们发现一些原来被认为是安全的食物事实上也含有某种或某些天然有害物质。本节主要介绍一些常见的动物性及植物性天然有害物质及部分有害物质的检测原理,对于具体的检测方法则不作介绍。

一、常见的动物性天然有害物质

1. 动物肝脏中的毒素

动物肝中主要的毒素是胆酸、牛磺胆酸和脱氧胆酸。它们是中枢神经系统的抑制剂,其中牛磺胆酸的毒性最强,脱氧胆酸次之。许多试验研究还发现,脱氧胆酸对结肠癌、直肠癌的发生有促进作用。猪肝脏中的胆酸含量较少,一般不会产生明显的毒性作用,但食用过多或食用时处理不当也会给人体健康产生一定的危害。

动物的肝脏中维生素 A 的含量都较高,尤其在鱼类肝脏中含量最多。一般偶尔进食普通动物的肝脏是有益而无害的,只有当摄入量超过 200 万 IU 以上时(约相当于 30 g 比目鱼肝, 200 g 鳕鱼肝, 10 kg 牛肝),才可引起急性中毒,表现为前额和眼睛疼痛、眩晕、呕吐及皮肤发红、出现红斑、脱皮等症状。很多研究结果显示,人每天摄入 100 mg (约 3000IU) /kg 体重维生素 A 可引起慢性中毒。另一方面,动物肝脏中可能存在着机体本身代谢产生的毒素和病原体带来的有毒物质,也对动物肝类食品的安全性构成了潜在的威胁。

2. 河豚毒素

河豚鱼是一种味道鲜美又含剧毒的鱼类。全球有 200 种左右,我国有 70 多种,广泛分布于各海区。河豚鱼的肝、脾、胃、卵巢、卵子、睾丸、皮肤以及血液均含有毒素,其中以卵和卵巢的毒性最大,肝脏次之,一般品种的河豚鱼肌肉的毒性较低,但双斑圆鲸鲀、虫纹圆

鲑、铅点圆鲑肌肉的毒性较强。毒素含量的大小随着生长水域、品种及季节的不同而不同。河豚鱼中毒是世界上最严重的动物性食物中毒。河豚毒素是一种神经毒素，剧毒，河豚毒素的毒性比氰化钠高 1000 倍。据统计日本每年由于食用河豚鱼导致中毒的人数多达 50 人。我国沿海居民也有食用河豚鱼的习惯，因此每年发生河豚鱼的中毒事件较多，北方则少见。

我国《水产品卫生管理办法》中严禁餐馆将河豚鱼作为菜肴经营，也不得流入市场销售，因此我国没有相关的限量标准，也尚未制定国家级标准测定方法。目前，实验室检验河豚毒素的方法有生物试验法和化学试验法两种。生物试验法的大致内容是先用 1%乙酸酸化的甲醇溶液回流提取，浓缩成膏状，然后用乙醚脱脂，再用少量水溶解，所得溶液用于小白鼠腹腔注射，通过观察小白鼠的中毒症状或出现中毒症状的时间间隔进行定性或定量检测。化学试验法取生物试验法所得的膏状浓缩物溶于浓硫酸中，加入少量重铬酸钾，若呈绿色，则说明有样品中有河豚毒素存在。

3. 岩蛤毒素

蛤的两壳相等，质地坚厚。蛤的种类很多，只有少数几种如文蛤、石房蛤等含有有毒物质。目前认为，这些有毒物质源于一些属于膝沟藻科的藻类，如涡鞭毛藻，当此种藻类大量繁殖时，可形成“赤潮”。海洋软体动物，包括蛤类，摄食了这类海藻后，海藻所含的岩蛤毒素及膝沟藻毒素在中肠腺以无毒的结合态大量蓄积，当人体摄食此类蛤肉后，毒素被释放出来，引起中毒。岩蛤毒素对小鼠的经口 LD₅₀ 为 0.263 mg/kg。1 mg 岩蛤毒素即可使人中度中毒。

4. 螺类毒素

螺的种类很多，绝大多数食用安全性较高，但少数种类如接缝香螺、间肋香螺、油螺、节棘骨螺及蛎敌荔枝螺等含有四甲胺，骨螺毒素，千里酰胆碱、丙烯酰胆碱等有毒物质。

5. 组胺

组胺分子式为 C₅H₉N₃，属于生物碱，溶于水及乙醇。组胺中毒，国内外均有报道，大多是由于食用不新鲜或腐败变质的鱼类引起的。一般认为，成人摄入 100 mg 的组胺就有可能引起中毒。组胺是由鱼体内的游离组氨酸在鱼的存放过程中经脱羧而形成的，比如金枪鱼及沙丁鱼在 7 ℃储藏 96 h 可产生组胺大约 1.6~3.2 mg/g，温度升高时则组胺形成的更多。鱼体中的组胺被水或极性有机溶剂提取后，在弱碱条件下，能与偶氮试剂反应生成橙色物质，利用这一点，可以对组胺进行定性或定量检测。

二、常见的植物性天然毒素

1. 氰苷：氰苷进入体内水解后产生 HCN，从而具有较强的毒性。含有氰苷的食源性植物有木薯、豆类以及一些果树的种子如杏仁、桃仁、枇杷仁及亚麻仁等。氰化物在酸性条件下可产生 HCN 气体，HCN 可使苦味酸试纸显红色，据此可对含有氰苷的物质进行定性检测。

2. 红细胞凝集素：是一类对红细胞具有凝集作用的蛋白质，多为糖蛋白。含有红细胞凝集素的食源性植物有蓖麻、豆类及花生的种子中。不同植源性的红细胞凝集素其毒性是不同的，以蓖麻凝集素的毒性最强，其对小鼠的 LD₅₀ 为 0.05 mg/kg。红细胞凝集素比较耐热，80 ℃数小时不能使之失活，100 ℃，需经过 1 h 可完全破坏其活性。

3. 皂甙：也称皂素，很多豆科植物如黄豆、菜豆、蚕豆等不仅含有红细胞凝集素、氰苷，还含有有毒的皂甙。其中菜豆中毒是天然食物中毒中较常见的。菜豆中的毒皂甙对消化道粘膜有强烈的刺激作用。

4. 龙葵碱：又名茄碱、马铃薯毒素、龙葵毒素，不溶于水，能溶于乙醇，与稀酸共热可发生分解。龙葵碱广泛存在于马铃薯、番茄及茄子的茄科植物中。马铃薯中龙葵碱的含量一般在 0.005%~0.01%，且随着储存时间的增加而渐增，发芽的马铃薯其幼芽及芽眼部分的含量可高达 0.3%~0.5%。人摄入 0.2 g~0.4 g 龙葵碱即可引起中毒。

5. 秋水仙碱：是鲜黄花菜（也称金针菜）中的一种生物碱，其本身无毒，但当它进入人体后会转化成一种剧毒物质，二秋水仙碱，后者对胃肠道、泌尿系统、神经系统等具有毒性。成人一次摄入 0.1 mg~0.2 mg 秋水仙碱可引起中毒，摄入 3 mg~20 mg 可致死。食用鲜黄花菜时一定要用开水焯，浸泡后，再经充分烹饪，以防中毒。食用干黄花菜较安全。

6. 棉酚：系萘的衍生物，分子式为 C₃₀H₃₀O₈，在结构上有醛、稀醇及醌式三种同分异构体。溶于中等极性的有机溶剂，不溶于水及己烷等。棉酚对心、肝、肾及神经系统、生殖系统均有毒性。棉酚在棉子中的含量为 0.15%~0.28%，冷榨棉子油中可高达 1%~1.3%，因此不可食用冷榨棉子油或毛棉子油。

7. 毒蘑菇：毒蘑菇所含有的有毒成分可分为生物碱类、肽类及其它化合物，根据中毒的症状可分为胃肠毒素、神经精神毒素、血液毒素、原浆毒素和其它毒素五类。

第七节 食品中源于包装材料的有害物质及其检测

一、主要的食品包装材料及其有害物的种类

食品包装的主要目的是保护食品质量和卫生，不损失原始成分和营养，方便贮运，促进销售，提高货架期和商品价值。现代包装技术无疑可大大延长食品的保存期，延长食品的新鲜度，提高食品的美观性和商品价值。但是，由于包装材料直接和食物接触，很多材料成分可迁移到食品中，造成食品污染。表 14-8 列出几种主要包装材料中可能存在的并可能迁移到食品种的有害成分。

二、食品包装材料中有害物质检测

我国国家标准 GBT 17409 中规定了食品包装材料及其制品的浸泡试验方法通则，详述了各种包装材料及其制品理化检验时，样品预处理方法。有关包装材料及其制品的卫生检验方法我国已制定了一系列的标准，详见 GB/T 5009.58~72-1996、GB/T 13120-1996、GB/T 15205-1996 及 GB/T 17338-1998 等。

第八节 食品加工过程中形成的有害物质及其检测

一、食品加工过程中形成的有害物质

烟熏、油炸、焙烤、腌制等加工技术，在改善食品的外观和质地，增加风味，延长保存期，钝化有毒物质（如酶抑制剂、红细胞凝集素）以及提高食品的可利用度等方面发挥了很大作用，但随之还产生了一些有害物质，相应的食品存在着严重的安全性问题，对人体健康可产生很大的危害。例如，在习惯吃熏鱼的冰岛、芬兰和挪威等国家，胃癌的发病率非常高。我国胃癌和食管癌高发区的居民也有喜食烟熏肉和腌制蔬菜的习惯。在这几类食品加工过程

表 14-8 主要的食品包装材料及其有害物的种类

| 包装材料类别 | 包装材质 | 可能污染物 | 备注 |
|--------|-----------|-------------------------|----------------------------|
| 热塑性塑料 | 聚乙烯（PE） | 单体乙烯，低聚乙烯，增塑剂、稳定剂 | 不宜盛装油脂；其再生品不可作食品包装材料 |
| | 聚丙烯（PP） | 增塑剂、稳定剂 | 可包装各种食品，其再生品不可作食品包装材料 |
| | 聚苯乙烯（PS） | 常残留有苯乙烯、乙苯、甲苯、异丙苯等挥发性物质 | FDA 规定用于食品包装的该材料苯乙烯含量小于 1% |
| | 聚氯乙烯（PVC） | 单体氯乙烯、增塑剂、稳定剂 | 氯乙烯有麻醉、致癌、致畸作用 |

| | | | |
|---------|----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 热固性塑料 | 三聚氰胺（蜜胺） 脲醛树脂（电玉） | 甲醛 甲醛 | 我国暂定此两材料中甲醛含量不得超过 30 mg/L 水浸泡液不宜与包装食品直接接触；正在被其它材料取代 |
| | 酚醛树脂 | 甲醛、苯酚 | |
| 丙烯腈共聚塑料 | 聚丙烯腈-丁乙烯 | 丙烯腈 | CAC 提出食品中丙烯腈应小于 0.02 mg/kg |
| | 聚丙烯腈-苯乙烯 | 丙烯腈 | |
| 橡胶 | 天然橡胶/合成橡胶 | 单体/促进剂、抗老化剂、填充剂 | 促进剂：金属氧化物，乌洛托品，抗老化剂：酚及芳香胺类 填充剂：炭黑（含苯并芘） |
| 纸类 | 普通纸/托蜡纸/玻璃纸 | 造纸原料中的农残，回收纸中的油墨，荧光增白剂/石蜡/CS2 | 荧光增白剂及石蜡中的多氯联苯是致癌剂 |
| 无机包装材料 | 铁、铝、不锈钢/玻璃/搪瓷、陶瓷 | 铅、铬、镍、铝、锡/铅、钠、钴、铜/瓷釉或陶釉中含有的铅、铬、镉等 | 检测方法等请参考本书第 13 章 |

中形成的有害物质主要可分为三类：N-亚硝基化合物、多环芳烃和杂环胺。本节主要简介 N-亚硝基化合物和多环芳烃中的苯并[α]芘。

1. N-亚硝基化合物

N-亚硝基化合物(NOC)是一大类有机化合物，根据其化学结构，可分为两类：一类为亚硝胺，另一类为 N-亚硝酰胺。低分子量的亚硝胺在常温下为黄色油状液体，高分子质量的为固体。二甲基亚硝胺可溶于水及有机溶剂，其他亚硝胺只能溶于有机溶剂。亚硝胺在通常条件下，不易水解、氧化，化学性质稳定。N-亚硝酰胺的化学性质较活泼，在酸性条件下可分解为相应的酰胺和亚硝酸，或经重氮甲酸酯重排，放出氮和羧酸酯；在碱性条件下可快速分解为重氮烷。亚硝胺和 N 亚硝酰胺在紫外光照射下都可发生光分解反应。

通过对 300 多种 N-亚硝基化合物的研究，已经证明约 90% 具有强致癌性，其中 N-亚硝酰胺是终末致癌物，亚硝胺需要在体内活化后才能成为致癌物。

含有 N-亚硝基化合物较多的食品有干鱿鱼（300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、熏肉（0.3~6.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、熏鱼（4~9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、咸鱼（12~24 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、咸肉（0.4~7.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、油煎火腿（10~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、干香肠（19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、腌制蔬菜（亚硝酸盐含量可达 78 mg/kg，而鲜蔬菜中亚硝酸盐的含量在 1 mg/kg 以下）等。另外，在啤酒及干奶酪、奶粉、奶酒等全乳制品中也含有微量的 N-亚硝基化合物，一般在 0.5~5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2. 苯并[α]芘

苯并[α]芘，又称 3,4-苯并芘，是一种由 5 个苯环构成的多环芳烃。常温下苯并[α]芘为浅黄色针状结晶，性质稳定，熔点 179~180 $^{\circ}\text{C}$ ，在水中溶解度为 0.004~0.012 mg/L，微溶于乙醇、甲醇，易溶于环己烷、己烷、苯、甲苯、二甲苯、丙酮等有机溶剂。在有机溶剂中，用波长 365 nm 紫外线照射时，可产生典型的紫色荧光。苯并[α]芘在碱性条件下较稳定。在常温下不与浓硫酸作用，但能溶于浓硫酸；能与硝酸、过氯酸、氯磺酸起化学反应，人们可利用这一性质来消除苯并[α]芘。

苯并[α]芘是已发现的 200 多种多环芳烃中最主要的环境和食品污染物，是一种强烈的致癌物质，对机体各器官，如对皮肤、肺、肝、食道、胃肠等均有致癌作用。

加工过程中苯并[α]芘对食品的污染主要是针对熏制、烘烤和煎炸等食品而言的，该类食品中的苯并[α]芘一方面来源于煤、煤气等不完全燃烧，另一方面来源于食品中的脂肪、

胆固醇等成分的高温热解或热聚。据研究报道,在烤制过程中动物食品所滴下的油滴中苯并[α]芘含量是动物食品本身的10~70倍。当食品经烟熏或烘烤而发生焦烤或炭化时,苯并[α]芘生成量随着温度的上升而急剧增加。当淀粉在加热至390℃时可产生0.7 μg/kg的苯并[α]芘,加热至650℃时可产生17 μg/kg;葡萄糖、脂肪酸加热至650℃可分别产生7 mg/kg和88 mg/kg的苯并[α]芘。

另外,由于输送原料或产品的橡胶管道、包装糖果、棒冰、面包等用的蜡纸、食品加工机械用的润滑油等都可能含有苯并[α]芘,这样,就可能使得某些食品在加工环节中被污染。

在此顺便指出,人们生活常用的煤、石油、天然气、木材等,当不完全燃烧时都会产生苯并[α]芘;沥青中苯并[α]芘含量为2.5%~3.5%,烧沥青和喷洒沥青时会有大量苯并[α]芘散发在空气中,这些都可能对环境造成污染,进而污染原料食品。

二、该类有害物质的检测

1. 食品中N-亚硝基化合物的测定

我国国家标准 GB/T 9677-1998 规定了 N-二甲基亚硝胺及 N-二乙基亚硝胺在海产品(分别为≤4 及 ≤7 μg/kg)及肉制品(分别为≤3 及 ≤5 μg/kg)中的限量标准。另外,国家标准 GB/T 5009.26-1996 规定了食品中 N-亚硝胺类的检测方法。该标准中的第一法,气相色谱-热能分析法,适用于啤酒中 N-二甲基亚硝胺的检测。该法的原理是先将样品中 N-二甲基亚硝胺经硅藻土吸附或真空低温蒸馏,然后用二氯甲烷提取分离后,采气相色谱-热能分析法测定。第二法,GC-MS 法,适用于酒类、肉类、蔬菜、茶叶及豆制品等食品中 N-二甲基亚硝胺、N-二乙基亚硝胺、N-二丙基亚硝胺及 N-亚硝基吡咯烷含量的检测。详见国家标准 GB/T 5009.26-1996。

2. 食品中苯并[α]芘的测定

请参考 GB/T 5009.27-1996。该法先将样品用有机溶剂提取或皂化后提取,再将提取液经液-液分配或层析柱净化,然后经乙酰化滤纸层析分离后,在365 nm 或254 nm 的紫外光下圈出相应蓝紫色斑点,用溶剂溶出后,用荧光分光光度法比色测定。

第九节 食品中其他有害物质及其检测

一、食品中二恶英及其检测

(一) 二恶英的特性与种类

二恶英的全名为多氯代二恶英,英文名称为 Dioxins 或 Polychlorodibenzodioxins,简称 PCDDs,是一类三环芳香族化合物。与多氯代二恶英共存的常常有多氯代苯并呋喃,简称 PCDFs,其母核的结构式如图 14-11。按苯上氯原子的数目和位置不同,多氯代二恶英共有75种同系物和异构体,多氯代苯并呋喃共有135种同系物和异构体,详见表 14-9。

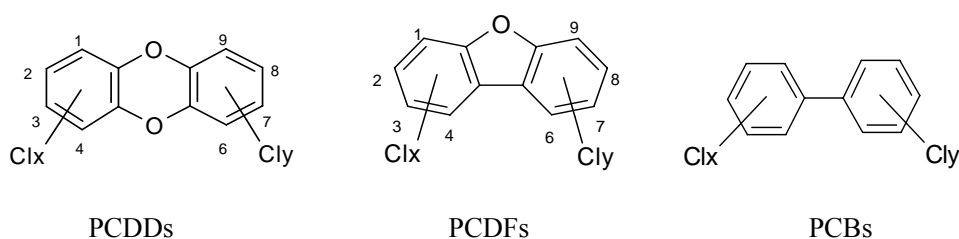


图 14-11 二恶英及多氯联苯的母核结构

表 14-9 二恶英的同系物及异构体

| PCDDs | 分子量 | 异构体数目 | PCDFs | 分子量 | 异构体数目 |
|----------|--------|-------|----------|--------|-------|
| MCDD | 218.12 | 2 | MCDF | 197.13 | 4 |
| DCDD | 151.97 | 10 | DCDF | 235.98 | 16 |
| TriCDD | 289.29 | 14 | TriCDF | 273.29 | 28 |
| TetraCDD | 319.90 | 22 | TetraCDF | 303.90 | 38 |
| PentaCDD | 353.86 | 14 | PentaCDF | 337.86 | 28 |
| HexaCDD | 387.96 | 10 | HexaCDF | 387.96 | 16 |
| HeptaCDD | 421.78 | 2 | HeptaCDF | 406.79 | 4 |
| OCDD | 455.74 | 1 | OCDF | 439.75 | 1 |
| 合计 | | 75 | | | 135 |

二恶英属于脂溶性化合物, 难于生物降解, 且随着两个环上的卤素含量增加, 其在环境中的稳定性、亲脂性、热稳定性以及对酸、碱、氧化剂和还原剂的抵抗能力增加。二恶英的毒性很强。PCDFs 与 PCDDs 的毒性相近, 其中, 毒性最强的是 17 种在 2, 3, 7, 8 位有氯代的化合物, 而其中又以 2,3,7,8-TeCDD 的毒性最强,它是目前已知的最毒的化合物。有的动物对 2,3,7,8-TeCDD 的半致死量仅为 $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ 。二恶英还具有强烈的致肝癌毒性。TCDD 只要有 $10 \sim 100 \mu\text{g} / \text{kg}$ 量试验动物就会诱发肝癌变。TCDD 对哺乳动物的急性毒性主要表现在, 肝器官受损。二恶英对人类不致命的慢性症状包括痤疮、脱发、尿血、神经麻木和体重减轻, 有时会出现极度衰弱。

已有不少国家对食品中二恶英作了最高残留量限量规定, 对于奶制品: 比利时为 $5 \text{ ng} / \text{kg}$ 、荷兰为 $6 \text{ ng} / \text{kg}$ 、德国为 $5 \text{ ng} / \text{kg}$; 美国 FDA 规定日摄入量不超过 $0.01 \text{ ng} / \text{kg}$ 体重, 1998 WHO 根据最新毒性资料, 规定日摄入量不超过 $1 \sim 4 \text{ pg} / \text{kg}$ 体重。我国尚未制定相关的限量标准。

(二) 二恶英的主要来源

1. 含氯化化合物的生产和使用。这些含氯化化合物主要包括: 作为农药或防腐剂的氯酚类、作为除草剂的氯代苯氧酸型除草剂、被广泛用于电器设备的多氯联苯 (PCBs,) 类、造纸业的纸浆加氯漂白等,

2. 垃圾的焚烧。垃圾的不充分燃烧, 可产生大量的有害化合物。如含有聚氯乙烯塑料的垃圾在焚烧过程中可能产生酚类化合物和强反应性的氯和氯化氢等, 这些物质是合成二恶英的前体物。医院废弃物中含有卤代化合物, 焚烧时释放的二恶英含量高于生活垃圾, 废水处理后的污泥经脱水后进行焚烧处理, 也可释放二恶英, 其含量较生活垃圾稍低。据估计, 每 50 万人在生活当中产生的垃圾经焚烧处理, 每天可产生 $350 \text{ mg} \sim 1600 \text{ mg}$ 二恶英。

3. 煤、石油、汽油、沥青等的燃烧。汽油的不完全燃烧, 致使汽车排出的尾气中也含有二恶英, 其中 2,3,7,8-TCDD 约为 $0.5 \sim 16.7 \text{ pg} / \text{m}^3$, 2,3,7,8-TCDF 约为 $0.55 \sim 201.4 \text{ pg} / \text{m}^3$ 。

4. 含除草剂的枯草残叶的燃烧及森林大火也会产生二恶英。

(三) 二恶英的检测

环境中的二恶英主要是通过食物链和生物富集作用进入食品。二恶英难溶于水而溶于有机溶剂和脂肪, 所以在食品的脂肪中二恶英的浓度较高。二恶英含量最常用的分析方法是高分辨率气相色谱-质谱法, 对氯取代基小于 7 个的 PCDDs 和 PCDFs 的测定, 选用极性毛细管色谱柱; 对氯取代基等于或大于 7 个的 PCDDs 和 PCDFs, 应选用极性小或非极性的毛细管色谱柱; 质谱仪分辨率至少要在 10000 以上。采用非分流进样及选择离子检测方式, 用

内标法定量。由于二恶英种类繁多、标准品不全、含量少而且常常会受到多氯联苯(PCBs, 结构如图 14-11)或多氯二苯醚的干扰等, 因此, 现在的分析方法还不能完全将其所有的异构体进行分离检测。二恶英残留量的分析需要随着分析手段的提高而不断改进。在此仅介绍二恶英检测的一般性方法。

1. 二恶英的提取方法

对不同种类食品中二恶英的提取, 目前主要有下述三种方法。

A. 碱分解法

对于蛋白质或脂肪含量高的样品, 可称取 50~100 g, 加 1 mol/L KOH 的乙醇溶液 300 mL, 在室温下振荡 2 h, 再加入 1: 1 正己烷饱和水-正己烷 300 mL 提取 10 min, 分离水相后, 于水相中再加入 150 mL 正己烷提取, 有机层用硫酸钠脱水。

B. 丙酮-正己烷提取法

蔬菜类样品, 捣碎后取 100 g, 加入 2 × 200 mL 1: 1 丙酮-正己烷振荡提取 1 h, 过滤, 合并正己烷层, 加入 1 体积正乙烷饱和水, 振荡 10 min, 弃去水层, 正己烷层用无水硫酸钠脱水。

C. 草酸钠-乙醇-乙醚-正己烷提取法

对于牛奶样品, 取牛奶 100 mL, 加入饱和草酸钠溶液 50 mL、乙醇 100 mL、乙醚 100 mL, 搅拌均匀后, 加入正己烷 200 mL, 振荡 10 min, 下层再用 200 mL 正己烷提取两次, 合并正己烷层, 加入 2% NaCl 200 mL 振摇, 弃去水相。正己烷相用无水硫酸钠脱水。

2. 常用的净化方法

A. 浓硫酸与多层硅胶柱处理法, 在提取样液中加入浓硫酸, 分解提取液中共存的有机成分及有色物质, 然后将有机相用多层硅胶柱净化。层析柱从下至上分别装填 0.9 g 硅胶, 3 g 2% KOH / 硅胶, 0.9 g 硅胶, 4.5 g 44% 硫酸 / 硅胶, 6 g 22% 硫酸 / 硅胶, 0.9 g 硅胶, 3 g 10% 硝酸银 / 硅胶, 最上层为 6 g 无水硫酸钠。本法净化效果较好, 但费时、繁琐。

B. 硅胶柱层析处理法, 用 130 g 活化硅胶填充柱吸附试样, 用正己烷或苯洗脱二恶英类化合物。

C. 其它净化方法, 氧化铝柱层析法、聚酰胺色谱分离方法或透析法等。

3. 分析方法

GC-MS 分析法。

二、食品中氯丙醇及其检测

(一) 氯丙醇的种类及性质

丙三醇和盐酸反应可产生四种氯丙醇产物, 即, 3-氯-1,2-丙二醇 (3-MCPD)、2-氯-1,3 丙二醇 (2-MCPD)、1,3-二氯-2-丙醇 (1,3-DCP) 和 2,3-二氯-1-丙醇(2,3-DCP)。其中主要的产物是 3-氯-1,2-丙二醇 (3-MCPD)。氯丙醇微溶于水, 易溶于有机溶剂。不同的氯丙醇其毒性不一样, 3-MCPD 会影响肾脏及生育, 还可引发癌症; 1,3-DCP 会引起肝、肾脏、甲状腺等的癌变; 2,3-DCP 对肾脏、肝脏和精子也有一定的毒性。

(二) 氯丙醇的来源

食品中的氯丙醇主要来源于酸水解动植物蛋白, 在酸水解蛋白的同时, 原料的脂肪或油脂中存在的三酰甘油也被水解成丙三醇, 并进一步与盐酸反应生成氯丙醇。

在国外, 水解植物蛋白作为风味剂在食品中大量使用, 包括许多加工和预加工食品、汤、肉汁混合物、风味快餐和固体汤料中, 其典型的添加水平大致在 0.1%~0.8%之间; 在我国, 允许用水解植物蛋白来生产配制酱油, 因此, 有可能导致一些酱油制品中氯丙醇含量过多。

我国《食品卫生法》中对食品生产使用的原料和辅料提出了明确的规定, 指出非食品用原料不准用于食品生产。因此, 使用人发、猪毛、畜蹄角等非食用原料生产所谓的“氨基酸调味液”作为配制酱油是一种违法行为。

另外, 氯丙醇的其他来源还包括: 袋泡茶的包装袋; 以含氯凝聚剂作成的净水剂; 被包装工业称为“第三代”食品包装材料的聚 3-氯-1,2-环丙烷树脂等。

美国、英国、瑞士及欧盟规定食品中氯丙醇的最高限量标准分别为 ≤ 1 mg/kg、0.01 mg/kg、10 mg/kg 及 1 mg/kg。我国行业标准 SB 10338-2000 规定了酸水解植物蛋白调味液中氯丙醇的最高限量为 1 mg/kg。

(三) 酸水解植物蛋白调味液中氯丙醇的测定 (节录自中国行业标准 SB 10338-2000)

1. 氯丙醇提取与净化

用 20% NaCl 溶液调节酸水解植物蛋白调味液至固形物含量为 36% 的溶液后, 取适量上弗罗里硅藻土柱, 用乙酸乙酯洗脱, 洗脱液在 50 °C 下浓缩至近干, 用乙酸乙酯定容后, 用 GC 法测定, 内标法定量。

2. GC 条件

检测器: 电导检测器 (以卤素方式进行工作)

毛细管柱: 0.53 mm \times 30 m, Supelcowax 10, 或 Carbowax 柱

气体流速: 氦气, 8 mL/min,

温度: 柱温, 170 °C 保持 5 min, 以 5 °C/min 升至 250 °C 保持 10 min, 进样口温度, 225 °C

反应条件: 反应氢气, 30 mL/min, 反应溶剂, 1-丙醇, 反应温度, 900 °C, 基本温度, 275 °C

详见 SB 10338-2000。

思考题

1. 食品有害物的概念及其检测的意义?
2. 食品有害物质的种类及其来源?
3. 正相色谱及反相色谱对物质分离的原理?
4. 表面活性吸附剂的活度与含水量的关系?
5. GC 及 HPLC 检测器的种类及其工作原理?
6. 质谱的表示方法及质谱峰的种类?
7. 造成农药及兽药污染的可能原因?
8. 主要的霉菌毒素及各自的主要污染对象?
9. 如何做到既注重食品的精美包装又减少来自包装材料的污染?
10. 如何减少水解植物蛋白中氯丙醇的含量?

(王启军)