

应用 HPLC-ICP-MS 联用技术进行食品中汞形态分析的优势

应用简报

食品检测

作者

Sébastien Sannac, Yu-Hong Chen,
Raimund Wahlen, Ed McCurdy

Agilent Technologies
Manchester, UK



前言

汞是对生物体具有较强毒性的元素之一。环境中汞的浓度相对较低，但是食物链传递过程会使其浓度增大，最终导致一些食品中汞含量很高。此外，其毒性不仅与其总含量有关，还与其存在形态相关。因此研究食品中汞的存在形态对全面评价其对人体的潜在危害至关重要。

由于汞形态分析需要较低的检出限，因此 GC-ICP-MS 联用是首选方法。然而，随着现代 ICP-MS 系统灵敏度的提高，HPLC 也已开始应用到形态分析中。HPLC 与 ICP-MS 的联用由于其简单快速的技术连接而备受瞩目。此外，与 GC 分析相比，HPLC 可以对萃取的样品溶液直接进样，不需进行各形态的柱前衍生，大大简化了样品前处理，节省了总分析流程所需的成本。

Agilent 7800 ICP-MS
已得到验证



Agilent Technologies

本研究工作中,对采用 HPLC-ICP-MS 联用技术进行食品中汞的形态分析进行了评估。从毒理学角度来说无机汞 (Hg^{2+}) 和一甲基汞是主要的目标分析物,但本工作对可能遇到的乙基汞 (EtHg^+) 和苯基汞 (PhHg^+) 也作了研究。通过有机溶剂的梯度洗脱可将各形态分离开来。Agilent 7700/7800 ICP-MS 系统中采用了独特的快速频率匹配的固态射频 (RF) 发生器,允许在水相和有机相之间轻易转换而不会影响等离子体的稳定性。通过分析认证标准物质 (CRM) 验证了本方法的可靠性。结果表明,安捷伦的 HPLC-ICP-MS 联用系统是进行食品中汞形态分析的完整、全面集成和有效的解决方案。

实验部分

仪器

色谱分离采用 Agilent 1260 HPLC。1260 HPLC 最大允许压力可达 600bar,可使用极小粒径的色谱柱进行快速分离。本工作使用 $1.8\mu\text{m}$ 粒径的 Zorbax C-18 色谱柱 (安捷伦)。色谱条件见表 1。该分离基于 High 等人的之前的工作进行了优化 [1]。

表 1. Agilent 1260 HPLC 系统操作条件

| 参数 | 数值 |
|------|--------------------------------------------------------------|
| 流速 | 1 mL/min |
| 进样量 | 50 μL |
| 流动相: | |
| A 通道 | 0.5 g/L L-半胱氨酸 |
| B 通道 | 0.5 g/L L-半胱氨酸、HCl、 H_2O 、HCl 调节 pH 至 2.3 甲醇 |

采用 Agilent 7700x ICP-MS 通过汞同位素 ^{201}Hg 测定汞,通过 7700x 可选的第 5 个质量流控制器往载气中加入氧气 (含有 20% 氧气的氩气)。等离子体中加入氧气确保有

机物可直接进入 ICP-MS,而不会造成接口锥的积碳。使用铂锥防止氧气加入造成的氧化,同时使用有机分析常用的内径为 1.0mm 的矩管。ICP-MS 7700x 仪器操作参数见表 2。

表 2. Agilent 7700x ICP-MS 操作参数

| 参数 | 数值 |
|-------------------|-----------------------|
| 射频功率 | 1600 W |
| 载气流速 | 0.54 L/min |
| 补偿气流速 | 0.10 L/min |
| 辅助气 (含 20% 氧气和氩气) | 0.06 L/min |
| 雾化室温度 | -5 $^{\circ}\text{C}$ |
| 采样深度 | 8.0 mm |

7700/7800 ICP-MS 的 Mass Hunter 工作站能同时控制常见的安捷伦 LC 和 GC 模块,可以在 ICP-MS Mass Hunter 软件中直接运行 1260 HPLC 方法和序列 (图1)。该特性不但简化了 HPLC-ICP-MS 的联用操作,还增加了此类分析的安全性,因为双向通讯可保证 HPLC 或 ICP-MS 任何一方停止运行的时候,该软件可自动停止另一方的运行。

样品前处理

选用两个 CRM 标准物质对方法进行了验证。取自金枪鱼肌肉组织的标准物质 BCR-464 (比利时 IRMM) 甲基汞标准值为 $5.12 \pm 0.16 \text{ mg/kg}$ (以汞计),占总汞的 97%。由角鲨肝脏制成的 DoIt-4 标准物质 (加拿大 NRC) 中甲基汞标准值为 $1.33 \pm 0.12 \text{ mg/kg}$ (以汞计),占总汞的 52%。

样品萃取过程参考前人的工作[2]。称取 150 mg 样品,加入 20 ml 流动相 A,在 140 w 条件下微波消解 11 min,取表层上清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜后直接进样 HPLC。

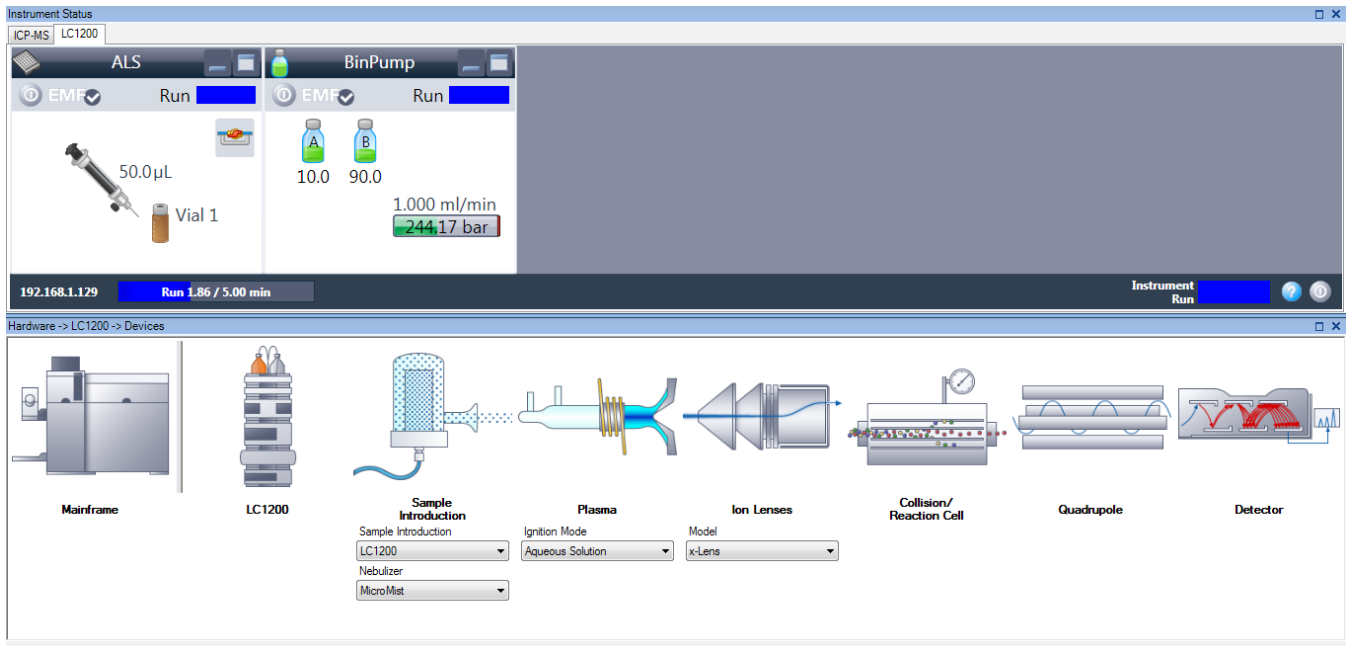


图 1. HPLC-ICP-MS 详细配置的 ICP-MS Mass Hunter 软件屏幕截图

结果和讨论

色谱条件优化

初始的汞形态色谱分离条件采用 L-半胱氨酸 (A 通道) 中加入 2% 甲醇 (B 通道) 的等度条件。色谱分离图如图 2 所示。

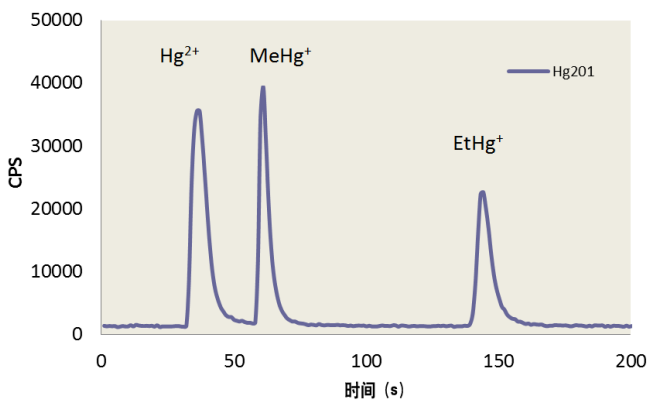


图 2. 等度条件下的汞形态分离

如图所示, 在等度条件下, 三种汞形态在三分钟内即可得到分离, 并且 Hg^{2+} 和 $MeHg^+$ 在两分钟内即可分离。但是苯基汞却被柱子保留无法检测。因此, 为了增强流动相的洗

脱能力, 试验了梯度洗脱方法。图 3 显示了分离过程中使用的梯度洗脱程序: 初始用 2% 甲醇洗脱, 在 1 min 内升高到 90%。

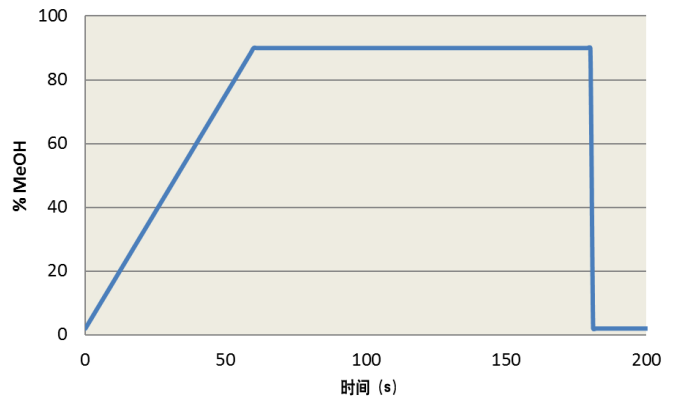


图 3. 分离过程中使用的梯度洗脱程序

通过使用梯度洗脱, 在 3 分钟内四种汞形态可以完全分离出来 (图 4)。此外, 由于 7700/7800 ICP-MS 的等离子体射频发生器具有快速频率匹配能力, 使得甲醇梯度洗脱并没有影响等离子体的稳定性。当分离结束时流动相迅速恢复为 2% 的甲醇, 没有出现等离子体稳定性问题。

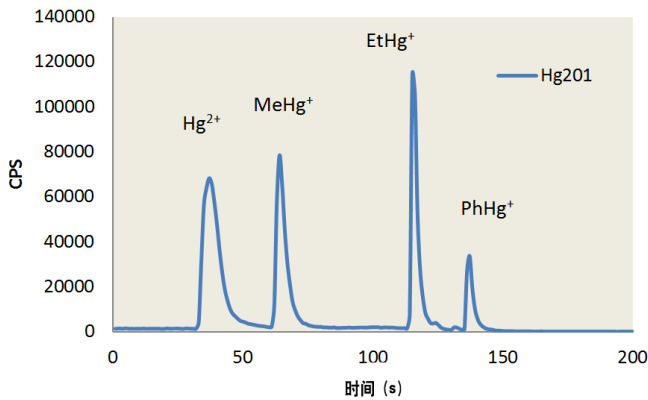


图 4. 梯度条件下的汞形态分离

HPLC-ICP-MS 系统的性能

在测定样品提取物之前，系统经由 4 个汞形态物质混标进行了校准，混标的浓度范围从大约 100 ng/L (ppt) 到 10 µg/L (ppb)。校准曲线如图 5 所示。

校准曲线展现了该分析方法优异的线性度：每种形态物质在其整个浓度范围内都能被完美校准。另外，流动相的背景等效浓度 (BEC) 测定结果如图 5 中所示。所有形态物质的背景等效浓度皆低于 20ng/L。这么低的背景等效浓度值意味着本检测几乎不存在流动相污染，并且也说明了该检测系统具有卓越的低浓度汞检出能力。

样品分析

两种 CRM 提取物通过优化的梯度洗脱方法进行分析。每个 CRM 重复提取三次。空白样品也通过相同的提取过程进行制备，分析结果显示空白中不含有任何可测得的污染。表 3 中所示是样品的测定结果。

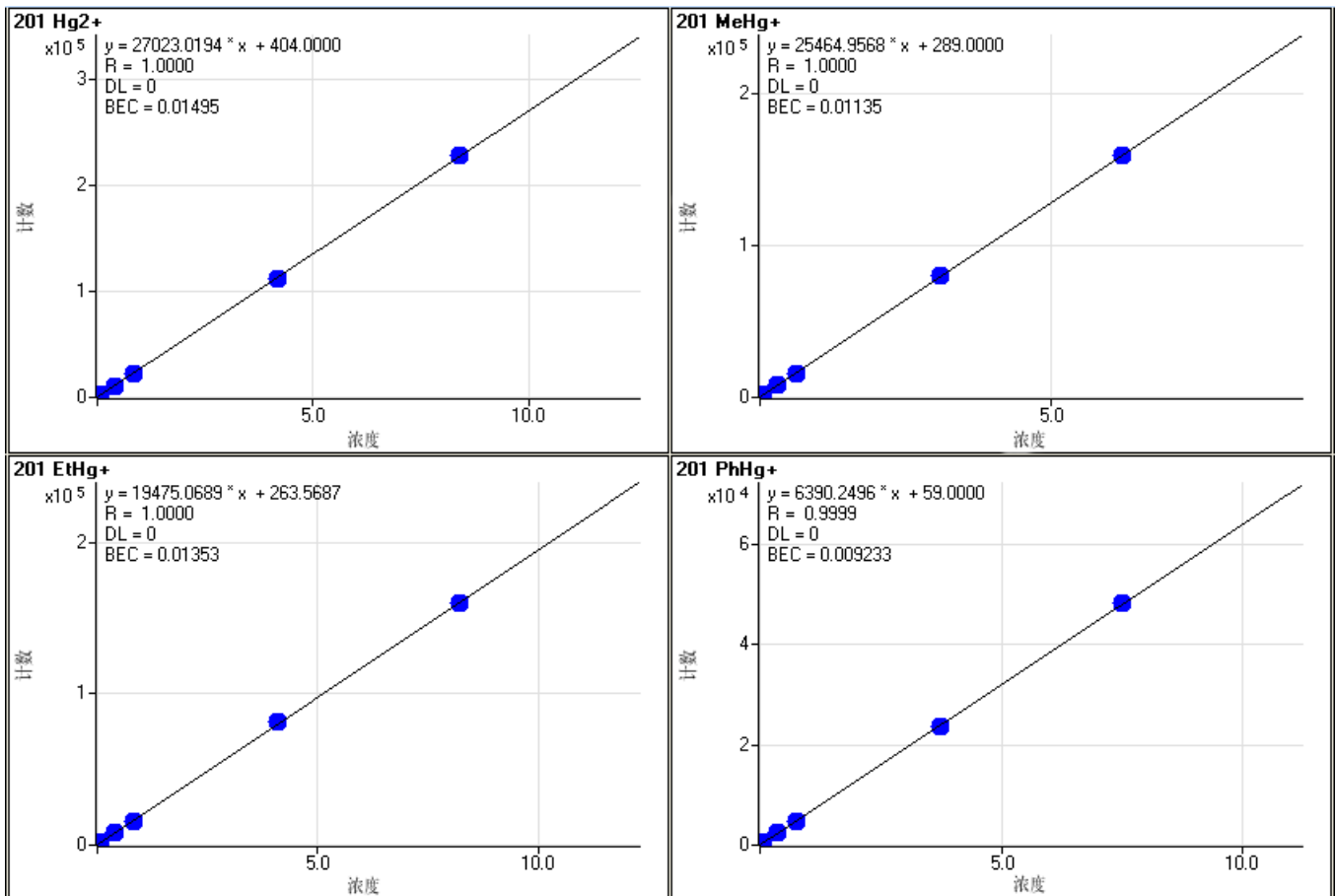


图 5. 4种汞形态分析的校准曲线

表 3. 认证标准物质样品分析结果——浓度以 mg/kg 汞表示

* 未认证浓度

| | BCR-464 | Dolt-4 | |
|---------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| | 201 MeHg ⁺ | 201 Hg ²⁺ | 201 MeHg ⁺ |
| 结果 | 4.93 | 1.17 | 1.34 |
| RSD (%) | 8 | 8 | 10 |
| 认证值 | 5.12 ± 0.16 | (1.25)* | 1.33 ± 0.12 |
| 回收率 (%) | 96 | 94 | 101 |

由于这些样品中的无机汞含量是无参考值的, 因此无法评估实测值的准确度。只有样品中的甲基汞和总汞浓度是有准确参考值的。表 3 中括号里的浓度值是假设 Dolt-4 样品中仅存在二价汞和甲基汞(样品色谱图中未观察到乙基汞或苯基汞)的情况下获得的。在这种假设下, Dolt-4 样品中测得的无机汞含量结果与参考值相一致。

两种样品中甲基汞形态的测得值与参考值都非常的一致, 验证了该新方法对食物样品中甲基汞形态分离测定的准确性。尤其是 Dolt-4 标样中的甲基汞含量仅占总汞的 52%, 该甲基汞实测值与标准参考值的高度一致证明了样品制备阶段的提取操作过程充分保持了甲基汞形态, 而未发生转化。

结论

本研究针对食物样品中的汞形态分析开发了快速有效的梯度洗脱 HPLC-ICP-MS 方法。该方法能够在 3 分钟内将样品中的 4 种目标汞形态物质完全分离出来。用标准物质测定对该方法进行了验证, 与标准物质参考值相比较, 汞各形态回收率良好。另外, 若无需分离测定苯基汞, 该方法则可进一步简化为等度分离。

7700/7800 ICP-MS 的射频发生器所具有的快速频率匹配特性允许流动相由水相快速转换为 90% 甲醇, 因此可以在不影响等离子体稳定性的前提下实现汞形态的分离。这种特性为有机溶剂流动相 HPLC 分离和 ICP-MS 联机应用带来了新的可能。

致谢

感谢法国国家计量学实验室 (LNE, Laboratoire National de Métrologie et d'Essais) 的 Guillaume Labarraque 和 Caroline Oster 提供 CRM 提取物。

参考文献

1. Hight, S. C. & Cheng, J. (2006). *Anal. Chim. Acta.* 567:160–172
2. Sannac, S., Labarraque, G., Fiscaro, P., Pannier, F. & Potin Gautier, M. (2009). *Accred. Qual. Assur.* 14:263–267

Agilent 7800 ICP-MS
已得到验证



本文中列出的结果均由 7700x 获得，但经验证后得知性能参数同样适用于 7800 ICP-MS。

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2017
2017 年 6 月 21 日, 中国印刷
出版号: 5991-0066CHCN