

食品中有害金属元素的形态分析技术

徐茂军

(杭州商学院食品、生物与环境工程学院 杭州 310035)

摘 要 简要介绍了国内外食品中微量有害金属元素形态分析的几种常用技术及一些新的研究进展。

关键词 形态分析 食品 微量金属

近年来,随着各种工业废液及固体废弃物的排放量和化肥等化学成品的使用量不断增加,蔬菜等食物中的 Cd、Pb、Hg 等有害金属的含量越来越高^[1,2]。由于 Cd、Pb、Hg 等重金属具有致癌、致畸等毒害作用^[3],因此食品中有害金属对人类健康的影响受到了广泛关注。

金属毒性常用的测试方法是生物试验法^[4],即通过考查试验动物的存活时间、繁殖量等指标来判断有害金属毒性的高低,获得有害金属毒性的相关信息。生物试验法的缺点是耗时长、费用高,而且试验结果表征的只是有害金属对生命的影响。毒理学认为,有害金属元素的毒性取决于元素的赋存形态、浓度、生物体的摄入方式、生物体的种类和健康状况等^[5]。从分子水平看,有害金属元素对生物体的毒性主要表现在以下 3 个方面^[6]:(1)有害金属元素取代了生物体中某些活性大分子中的必需元素。例如,生物体中一些蛋白激酶需以 Mg^{2+} 为辅助因子,由于 Ba^{2+} 与某些蛋白激酶的结合强度比 Mg^{2+} 大,因此 Ba^{2+} 可以取代蛋白激酶中原有的 Mg^{2+} ,从而抑制酶的活性。(2)有害金属元素影响并改变生物大分子活性部位所具有的特定空间构象,使生物大分子失去原有的生物学活性。(3)有害金属元素能改变生物大分子的重要生物学功能。例如,摄入体内的 Hg^{2+} 、 Ag^{2+} 等重金属能与生物体内某些酶蛋白分子中的半胱氨酸残基中的 SH 基结合,

抑制酶蛋白的催化活性。从有害金属使生物体中毒的分子机理不难看出,有害金属元素的毒性都是以金属元素与生物大分子的配位能力为基础。由于金属元素与生物大分子的结合能力主要取决于金属元素的化学形态,因此同一种金属元素的不同化学形态可以产生不同的生物效应,例如,Cr(III)是人体必需的微量元素,而 Cr(VI)则对人体具有很高的毒性^[7]。有害金属元素的毒性高低同样与其化学形态有关,例如,不同化学形态砷化物的半致死剂量(LD_{50})可以相差数百倍,亚砷酸盐的 LD_{50} 为 14.0 mg/kg,而存在于海产品中的砷甜菜碱(AsB, arsenobetaine)的 $LD_{50} > 10\,000$ mg/kg^[8]。

由于有害金属元素的毒性在很大程度上取决于其化学形态,因此近年来利用形态分析技术研究有害元素的毒性受到了国内外研究者的广泛重视。人们期望通过建立简单而快速的有害金属元素的形态分析方法,为食品中有害金属元素的安全性评价提供一种新的辅助性手段。文中对目前国内外有害金属元素形态分析的几种常用技术及一些新的研究进展作一简要综述。

1 阳极溶出伏安法(ASV)在有害金属元素形态分析中的应用

有害金属元素能否透过细胞膜并在生物体内蓄积是决定其毒性高低的关键因素之

—^[4]。而金属元素透过细胞膜的过程(见图 1)与阳极溶出伏安法中金属离子穿过扩散层而蓄积在电极上的过程十分相似。因此,阳极溶出伏安法常被用来分析金属元素的毒性形态。该法按有害金属的电极行为特征将其分为易变态和稳定态,易变态主要包括游离离子和一些易解离的简单无机络合物,而稳定态则为一些性质稳定的有机络合物。由于易变态的金属可以与细胞膜中的运载蛋白结合并被运至细胞内部,因而被认为是可能的毒性形态,而稳定态的有机络合物则因不能被运输到细胞内部,因而被视为无毒或低毒形态。例如不同形态砷化物的半致死剂量 LD_{50} (mg/kg) 分别为^[8]:亚砷酸盐, 14.0;砷酸盐, 20.0;单甲基砷酸盐, 700~1 800;二甲基砷酸盐, 700~2 600;砷胆碱络合物, 6500;砷甜菜碱络合物, > 10 000。这些数据表明,易变态的无机砷毒性最大,甲基化砷的毒性较少,而稳定态的砷甜菜碱和砷胆碱有机络合物常被认为是无毒的。

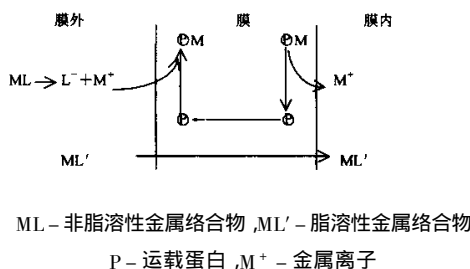


图 1 金属元素透过细胞示意图

目前,阳极溶出伏安法已被用于 Pb、Cr、Cu 等多种金属的毒性形态分析,而且分析结果与生物试验所获得的金属毒性也具有较好的一致性^[9]。用阳极溶出伏安法测定样品中金属毒性形态时,常会因一些表面活性物质吸附在电极表面,干扰了测定结果的准确性,使阳极溶出伏安法测出的易变态金属数量与实际毒性形态不一致,采用两步酸化法或交换介质法可消除表面活性物质的影响。

虽然利用阳极溶出伏安法测定有害金属元素的毒性形态具有很高的灵敏度(检测限可达 $10^{-10} mol/L$),而且在一定程度上能获

得测定结果与金属毒性的一致性,但是利用阳极溶出伏安法的测定结果,评价食品中有害金属元素的毒性,仍存在着一些不足之处。首先,金属元素通过生物膜的过程与阳极溶出伏安法中金属离子通过扩散层的过程仍有一定差异,因此这种模拟与生物体中的实际情况并不完全相符。但是通过对膜电极的改造可以弥补这一不足,例如 Hoyer 等以 Nafion 离子交换树脂模拟生物膜,对汞膜电极进行改造,发现 Nafion 离子交换树脂覆盖的汞膜电极的测定结果能比较真实地反映金属的实际毒性形态^[9]。其次,阳极溶出伏安法只能测定出样品中一大类金属形态的含量,无法区分并测定各种不同形态的有害金属含量,而且不能够专一性地区分出对生物体毒性很大的脂溶性金属络合物的数量,这些问题都有待进一步研究解决。

2 滤膜方法在有害金属形态分析中的应用

由于高毒性形态的金属(主要为游离的离子和一些不稳定的简单络合物)和低毒性形态的金属(主要为稳定的有机络合物和胶体络合物)在粒度大小上差异悬殊(从 1 nm 到几百 nm),因此可以根据重金属对滤膜的透过性能判断其毒性高低。超滤法和透析法就是根据这一原理对金属的毒性形态进行分析测定。通过调节滤膜孔径的大小,使高毒性的小分子金属形态透过滤膜,而低毒性的大分子金属络合物被截留,因此超滤法和透析法的测定结果能在一定程度上反映金属的毒性高低。目前,滤膜方法已被用于一些金属的形态分析^[10]。利用滤膜法进行有害金属形态分析的主要缺点是,由于膜对金属的吸附而影响分析结果的准确性。此外,膜的价格昂贵也影响了该方法的广泛使用。

3 离子交换树脂法在有害金属分析中的应用

利用离子交换树脂对不同毒性形态金属

吸附能力的差异,通过测定吸附在离子交换树脂上的高毒性形态的重金属量,可以快速判断样品中重金属毒性的高低。离子交换树脂法被认为是一种简单、快捷的有害金属元素形态分析技术。

利用离子交换树脂法测定金属元素毒性形态的关键之一是选择合适的树脂类型。Chelex-100(一种含亚氨基二乙酸基的螯合树脂)是金属元素形态分析中最常用的离子交换树脂,从20世纪70年代起就被用于金属形态的分析测定^[11]。一些研究结果表明, Chelex-100树脂截留的不稳定态金属元素的量与生物实验法所获得的金属毒性高低具有明显的相关性^[12]。然而,由于重金属与生物膜蛋白的反应主要是通过膜中的含硫蛋白质中的双硫键进行的,而 Chelex-100树脂中不含双硫键,因而不能真实地模拟金属透过生物膜的实际情况,因此不少研究者改用硫醇型离子交换树脂来测定金属的毒性形态^[13],使测定结果更加接近实际情况。此外,还可以通过与其他方法联用,提高离子交换树脂法测定结果的准确性和灵敏度。例如,蒋育澄等通过将离子交换树脂法与流动注射技术联用,实现对样品中不同化学形态Cr的微型在线分离^[14]。

虽然离子交换树脂对多种金属截留量的测定值与金属的毒性试验结果具有较高的一致性,但一般认为树脂截留金属的量与金属毒性之间的关系没有广泛适用性,而且树脂分离方法同阳极溶出伏安法一样也不能对每一种金属形态进行准确区分。

4 色谱法在有害金属元素形态分析中的应用

色谱法因对不同化学形态的金属元素具有较强的分离能力而被广泛地应用于有害金属元素的形态分析中。由于不同化学形态金属元素的理化性质不同,因此在色谱分离时对柱型、流动相、pH及分离模式等要求均不相同,采用不同的色谱条件就可以对不同化

学形态的金属元素加以分离。例如,可以根据不同形态砷化物的解离常数(pK_a)的差异,利用高效液相色谱法对砷酸(pK_a :2.3、6.8、11.6),亚砷酸(pK_a :9.2),单甲基砷酸(pK_a :2.6、8.2),二甲基砷酸(pK_a :6.2)以及砷甜菜碱(pK_a :2.2)等不同形态的砷化物进行分离。根据上述原理,Zhang等成功地利用聚苯乙烯-二乙烯基苯基阳离子交换色谱分离了单甲基砷酸、二甲基砷酸、砷甜菜碱和砷胆碱络合物,又用 C_{18} 反相离子对色谱分离了 $As(III)$ 及 $As(V)$ ^[15]。

有时为了提高对不同化学形态金属元素的分离效率,可以先用特定的化学试剂与待分离的组分进行反应,利用色谱方法对反应产物进行分析测定。例如,胡广林等利用葛氏试剂与待分离的无机汞、甲基汞、乙基汞、苯基汞进行反应,将上述待分离的组分分别衍生为相应的正丁基衍生物,用SE-54熔融毛细管柱可在9 min内分离了上述不同形态的汞^[16]。

在应用色谱法分析金属元素的化学形态时,为了提高灵敏度,常常将色谱法同其他技术联用。例如,Zhang等利用离子交换色谱分离测定不同形态的砷化物,检测限仅为 $1.0 \sim 1.5 \mu g/L$ ^[15],一些研究者通过将离子交换色谱与ICP-MS联用,可以使砷化物的检测限达到 $0.04 \mu g/L$ ^[17]。其他可与色谱法联用的技术还有HGAAS、HG-ICP-AFS等。

色谱与ICP-MS等技术联用后,对有害金属不同化学形态的检测灵敏度得到了明显提高,但同时对检测条件也提出了更高的要求,其中色谱流出物的雾化效率尤其重要。事实上色谱法与上述检测技术联用的关键就是雾化器的设计,这方面已有不少研究报道。

5 毛细管电泳在有害金属元素形态分析中的应用

毛细管电泳(CE)法具有样品用量少、速度快、分辨率高、柱效高等优点,每米理论塔板数可达上百万。因此,该方法可用于对

有害金属不同化学形态的高效分离。毛细管电泳法的基本原理是根据不同组分的表观电泳力(表观淌度)的差异实现对不同组分的分离,因此毛细管电泳法在分离过程中可以保证形态粒子和形态物质的稳定性,使分离结果不受仪器或其他方面的影响,克服了色谱法中由于待分离组分与固定相之间的相互作用而影响形态平衡和分布的缺点。对不同化学形态的金属元素而言,只要它们在结构或电荷上有差异,就可以利用毛细管电泳法进行分离。因此,该技术可广泛地用于对不同化学形态的金属元素进行分离测定。

目前,毛细管电泳技术已被用于多种有害金属元素的形态分析,例如,利用毛细管电泳柱上 UV 检测的方法,在 pH4.5~6.5 的磷酸缓冲液中可以对 As(III)、As(V)、单甲基砷酸和二甲基砷酸进行分离测定^[18]。而将间接紫外检测法(IUV)、间接激光诱导荧光检测(ILIF)等技术与毛细管电泳法联用,可大大提高该方法的检测灵敏度^[19]。

今后除了要加强有害金属元素形态分析新技术的研究外,如何将现有的各种形态分析检测技术有机地结合起来提高分析效率,使形态分析结果能够更加真实的反映食品中金属元素的毒性将是一个重要的研究方向。

参 考 文 献

- 1 张超兰,白厚义. 广西农业生物科学, 2001, 3: 186~189
- 2 彭玉魁,赵锁芳,王 波. 陕西农业学报, 2002, 1: 97~100
- 3 徐厚恩主编. 中国污染物有毒危险性评价. 北京:中国医科大学·中国协和医科大学联合出版社, 1997. 14~72
- 4 孟紫强主编. 环境毒理学. 北京:中国环境科学出版社, 2000. 490~526
- 5 纪云晶. 实用毒理学手册. 北京:中国环境科学出版社, 1993. 386~401
- 6 张毓琪,陈叙龙. 环境生物毒理学. 天津:天津大学出版社, 1993. 165~197
- 7 朱莲珍译. 人和动物的微量元素营养. 青岛:青岛大学出版社, 1994. 187~202
- 8 Poison C J, Tattersal R N. Clinical Toxicology. London: Pitman Press, 1969. 101~284
- 9 Hoyer B, Florence T M, Batley G E. Anal Chem, 1987, 59(13): 1608~1614
- 10 曾志蒋,颜伟玉,王开发. 上海交通大学学报(农业科学版), 2002, 20(2): 131~137
- 11 Florence T M, Batley G E. Talanta, 1976, 23(3): 179~182
- 12 Florence T M, Talanta, 1982, 29(5): 345~348
- 13 Florence T M, Batley G E. Anal Chem, 1980, 52(12): 1962~1964
- 14 蒋育澄,张 琪,庞奖励. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2000, 28(2): 43~47
- 15 Zhang X, Comelis R, MessL Vanholder R. Analyst, 1998, 123: 13~17
- 16 胡广林,王子如. 分析测试学报, 2000, 19(4): 31~37
- 17 Kavanagh P, Farage M E, Thomson I. Analyst, 1998, 123: 27~29
- 18 Liu Y, Lopez-Avila V, Zhu J J. Anal Chem, 1995, 67: 2020~2025
- 19 Tian X D, Zhuang Z X, Chen B. Analyst, 1998, 123: 899~903

Speciation Analysis of Trace Metals in Foods

Xu Maojun

(College of Food Science and Biotechnology and Environmental Engineering, Hangzhou University of Commerce, Hangzhou 310035)

ABSTRACT The frequently used techniques for the speciation analysis of trace metals in foods and the new development were introduced in this paper.

Key words speciation analysis, foods, trace metals