

EPA 方法的改进及其在测定熟鱼片和生鱼片中微量元素的应用

孙 杰^{1,2}, 陈发荣^{1,2*}, 韩力挥²¹国家海洋局第一海洋研究所, 青岛 266061;²中国海洋大学化学理论与工程技术教育部重点实验室, 青岛 266100

摘要: 文章结合国外方法 EPA200.11 与 EPA6020 建立了适用于处理生物样品的实验方法, 采用 ICP-MS 测定了 4 种生鱼片和相应熟鱼片中 14 种微量元素 (Cr、Co、Ni、As、Se、Cd、Pb、Zn、Cu、Mo、Ag、Be、V、Ge) 的含量, 结果发现 Pb、Cd 和 Cu 元素的含量均低于标准 (GB2762-2012) 限量值, 同时进行了 Pb、Cd 和 Se 元素的 EWI 值计算, 得出 Pb、Cd 元素的 EWI 值均低于 PTWI 值, 结果表明食用生鱼片和熟鱼片均对人体无害。采用 SPSS11.5 对鱼样品中的 14 种微量元素进行主成分分析, 得出 Ge、As、Co、Mo 和 Se ($P < 0.0500$) 和 V ($P > 0.0500$) 元素为所测鱼样品中的主成分元素, 并且进行熟鱼片和生鱼片中主成分元素的比较分析, 可见蒸煮可以作为降低鱼肉中有害元素含量的一种重要途径。

关键词: EPA 方法; ICP-MS; 熟鱼片; 生鱼片; 微量元素; 主成分分析

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

Improved EPA Methods and Their Application for the Determination of Trace Elements in Cooked and Raw Fish Tissues

SUN Jie^{1,2}, CHEN Fa-rong^{1,2*}, HAN Li-hui²

¹First Research Institute of State Oceanic Administration, Shandong Qingdao 266061, China; ²Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education in Ocean of China, Shandong Qingdao 266100, China

Abstract: In this study, a new method for processing biological samples was developed by modifying EPA200.11 and EPA6020 methods. The concentrations of 14 trace elements (Cr, Co, Ni, As, Se, Cd, Pb, Zn, Cu, Mo, Ag, Be, V, Ge) in 4 raw and cooked fish tissues were determined by ICP-MS. The results showed that the concentrations of Pb, Cd and Cu in the tested samples were all lower than the limited values listed in GB2762-2012. In addition, the EWI values of Pb, Cd and Se elements in raw and cooked fish tissues were calculated. The results turned out that the EWI values of Pb and Cd elements were lower than PTWI values of these elements. It revealed that the cooked and raw fish did not pose any health risk for the consumers. The results also showed that Ge, As, Co, Mo, Se ($P < 0.0500$) and V ($P > 0.0500$) were the principal component elements by using SPSS11.5. Besides, the principal component elements in the raw fish tissues were compared with these elements in the cooked fish tissues. It was concluded that cooking was an important means of reducing the concentrations of hazard elements in fish tissues.

Key words: EPA methods; ICP-MS; cooked fish; raw fish; trace elements; principal component analysis

随着人们生活水平和关于海鲜方面消费知识的提高, 近些年来世界范围内鱼类消费品的需求也越来越高^[1]。这主要因为鱼中含有大量人类所需的高质量蛋白^[2], 然而由于鱼肉和海洋沉积物中重金属元素和 DDTs 的积累致使鱼产品对消费者健康存在一定威胁^[3-5], 最近关于鱼肉中 As、Pb、Cd 等有毒

元素的健康风险评估也得到关注^[6], 同时人们也对鱼肉中有益元素 Se 元素和有毒元素 Hg 元素之间的关系进行探索^[7], 探讨出可以采用 L-Cysteine 等措施提高有益 Se 元素的含量并且降低有害 As、Hg 和 Br 元素的含量^[8]。但是并没有关于采用转化的 EPA200.11 和 EPA6020 方法测定生鱼片和熟鱼片中微量元素的研究, 本文对生鱼片和熟鱼片中 Se、Cd、Pb、Cu 等 14 种微量元素进行了比较分析报道, 同时运用 SPSS11.5 对测定的样品中的微量元素进行了主成分分析和显著性差异分析。

收稿日期: 2014-03-24 接受日期: 2014-08-05

基金项目: 科技基础性工作专项 (2008FY230600); 青岛市公共领域科技支撑计划 (12-1-3-82-jh); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (2014G13)

* 通讯作者 E-mail: frchen@fio.org.cn

1 材料与仪器

1.1 仪器与试剂

7500a型电感耦合等离子体质谱仪(美国 Agilent),真空冷冻干燥机(美国 LABCONCO), Milli-Q超纯水处理系统(美国 Milipore, 18.2 M Ω)。双氧水(优级纯)、四甲基氢氧化铵(天津市光复精细化工研究所, 优级纯)、硝酸(德国 Merck, 优级纯); Ar(纯度 99.999%);

^7Li 、 ^{89}Y 、 ^{205}Tl 、 ^{140}Ce 的调谐溶液 10 mg/L(美国 Agilent); ^6Li 、 ^{45}Sc 、 ^{89}Y 、 ^{115}In 、 ^{159}Tb 、 ^{209}Bi 的内标溶液 10mg/L(美国 Agilent),使用前用 3%的硝酸稀释到 1 mg/L。

1.2 仪器工作条件

ICP-MS 条件:分析模式为定量分析;射频功率为 1360 W;采样锥为铂锥;采样深度为 6.5 mm;等离子体气流速为 15.0 L/min;载气流速为 1.26 L/min;辅助气流速为 1.0 L/min;雾化室温度为 2.0 $^{\circ}\text{C}$;积分时间为 0.3s;采集次数为 3 次;分析测试前用 10 $\mu\text{g/L}$ 的 ^7Li 、 ^{89}Y 、 ^{205}Tl 、 ^{140}Ce 的调谐液对 ICP-MS 进行调谐,使仪器的灵敏度、双电荷、氧化物干扰、分辨率达到分析测定要求。

1.3 样品处理和测定

从山东青岛某商场随机购买 4 份鱼样品,保证鱼样品的质量范围在 1.0 ~ 2.0 kg。按照 EPA200.11 方法中所述对鱼样品进行去鳞和去皮以及分割鱼肉操作,将所得鱼肉用二次蒸馏水进行清洗并且浸泡 3 ~ 5 min,然后用二氯甲烷:甲醇(2:1, v/v)混合溶液清洗 3 ~ 5 次进行脱脂操作,再用二次蒸馏水清洗 3 次,混匀,取出一部分放入装有 100 mL 二次蒸馏水的 250 mL 的烧杯进行煮熟,然后用冷冻干燥机进行冷冻干燥 24 h,之后粉碎,混匀分别装入聚四氟乙烯瓶中保存在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中。生鱼样品分别标记为 Y1 ~ Y4,相应熟鱼样品标记为 S1 ~ S4。

采用差量法称量 2 g 鱼样品放入 50 mL 的离心管中,添加与样品质量相同的四甲基氢氧化铵溶液,取回盖子并且牢固地拧紧离心管盖。把样品放在温度设置为 65 $^{\circ}\text{C}$ 的干燥炉中将样品加热 1 h,然后把样品从干燥炉中移出来,用设定中等功率的旋涡混合器将样品进行混合 30 s。把样品重新放在干燥炉中继续加热 1 h。然后再次旋涡混合样品 20 s,并把混合样品在冰水浴中冷却 30 min。然后从冰水浴中取出冷却的样品并添加 0.5 mL 冷的 50% 双氧水。

立即慢慢地重新盖上试管和拧紧盖子。在室温下样品放置过夜,使样品与有限的氧气进行反应。然后加入 0.9 mL 5% 的硝酸进行酸化,并且用二次蒸馏水定重至 20 g 左右。加酸之后溶液中会有沉淀析出,这是一个正常理想的过程。稀释完成之后,打开试管瓶盖并且旋转试管混合样品。混合之后,以 2000 rpm 的转速进行离心 10 min。然后用玻璃棉进行过滤,同时也需要过滤方法空白以确定玻璃棉没有被污染,保存在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中并且在 24 h 内进行样品分析。每份样品做 3 份平行实验和 3 份空白实验,用 ICP-MS 进行测定。

1.4 质量保证与质量控制

质量控制是通过每测定 10 份样品进行测定一次空白和 10 $\mu\text{g/g}$ 的混合标准溶液,本次方法的准确度和精确度的验证主要通过使用国家标准物质的真实值与测定值进行比较,使用与样品一样的实验方法测定国家标准物质扇贝(GBW10024)中微量元素的含量。

防止样品的污染,所有实验器皿均用 10% 的硝酸浸泡 48h,并且使用二次蒸馏水冲洗 5 遍以上,待用。

1.5 数据分析

数据分析主要使用 Origin 7.5 和 SPSS11.5 for Windows 中主成分分析和独立样本 T 检验。

2 结果与讨论

2.1 方法性能的初始证明

国外方法 EPA200.11 是关于电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)测定鱼样品中重金属元素的论述,其中所述鱼样品为没有经过冷冻的湿鱼样品,而在本研究中使用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定干鱼样品中的 14 种微量元素的含量,并且结合 EPA6020 对 ICP-MS 进行仪器校准。同时考虑到样品基体的复杂性和多样性,为了验证方法的准确性,首先采用上述方法测定扇贝(GBW10024)国家标准物质中的微量元素含量,通过表 1 分析表明 14 种微量元素的 RSD < 4.9700%,回收率变化范围为 87% ~ 120%。在测定样品过程中每 10 个样品进行一次 10.0000 $\mu\text{g/g}$ 的质控,通过分析表 2 说明了在实验过程中实验数据的稳定性,且 RSD < 3.8000%,通过以上叙述说明本次实验数据准确可靠。

表1 测定国家标准物质扇贝(GBW10024)中微量元素总量($\mu\text{g/g}$, $n=3$)Table 1 Determination of total concentration of trace element in National croaker standard material(GBW10024) ($\mu\text{g/g}$, $n=3$)

元素 Element	标准参考值 Standard reference values	测定值 Measured values	回收率 Recovery	相对标准偏差 RSD
Cr	0.2800 ± 0.0700	0.2492 ± 0.0059	0.8900	0.0237
Co	0.0470 ± 0.0470	0.0423 ± 0.0013	0.9000	0.0297
Ni	0.2900 ± 0.0800	0.3190 ± 0.0044	1.1000	0.0137
As	3.600 ± 0.6000	3.7080 ± 0.0960	1.0300	0.0259
Se	1.5000 ± 0.5000	1.4250 ± 0.0660	0.9500	0.0464
Cd	1.0600 ± 0.1000	1.1872 ± 0.0210	1.1200	0.0177
Pb	0.1200	0.1224 ± 0.0025	1.0200	0.0204
Zn	75.0000 ± 3.0000	77.2500 ± 0.8340	1.0300	0.0108
Cu	1.3400 ± 0.18000	1.5142 ± 0.0753	1.1300	0.0497
Mo	0.0660 ± 0.01600	0.0593 ± 0.0009	0.8980	0.0152
Ag	8.0000	8.5600 ± 0.1712	1.0700	0.0200
Be	3.2000 ± 0.70000	3.072 ± 0.0369	0.9600	0.0120
V	0.3600 ± 0.10000	0.3204 ± 0.0074	0.8900	0.0230
Ge	8.0000	7.4400 ± 0.1380	0.9300	0.0186

表2 4次测定10 $\mu\text{g/g}$ 的质控混合标准溶液的值($\mu\text{g/g}$)Table 2 The measured values of quality control of 10.0000 $\mu\text{g/g}$ mixed standard solution($\mu\text{g/g}$)

元素 Element	1	2	3	4	相对标准偏差 RSD(%)
Cr	10.0000	10.2000	10.2300	10.1200	1.0136
Co	10.1000	10.2300	10.2600	10.0500	0.9940
Ni	10.0100	10.1200	10.3300	10.1000	1.3350
As	10.0000	10.2100	10.6500	10.2300	2.6510
Se	10.2400	10.8400	10.8600	10.1100	3.7420
Cd	10.1000	10.1100	10.1400	10.0900	0.2137
Pb	9.9600	10.1900	10.2100	10.1200	1.1209
Zn	10.1900	10.0000	10.2100	10.1100	0.9415
Cu	10.1700	10.1000	10.1200	10.1300	0.2906
Mo	9.4670	10.0000	10.1100	10.1300	3.1408
Ag	9.5390	10.1000	10.3300	10.2200	3.4996
Be	10.0000	10.0400	10.3000	10.1900	1.3660
V	9.9000	10.0400	10.2900	10.2300	1.7658
Ge	9.9800	10.1500	10.2300	10.1400	1.0343

2.2 生鱼样品和熟鱼样品中微量元素的分析

在生鱼肉中所测定的14种微量元素浓度的变化范围为0.0002 ~ 63.8500 $\mu\text{g/g}$,相应的熟鱼片中所测微量元素浓度的变化范围为0.0003 ~ 51.8500 $\mu\text{g/g}$ 。分析生鱼片中14种微量元素浓度大小顺序

为 $\text{Zn} > \text{Ge} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Se} > \text{Ni} > \text{As} > \text{Pb} > \text{V} > \text{Co} > \text{Cd} > \text{Mo} \approx \text{Ag} > \text{Be}$,而煮熟以后相应元素浓度变化范围为 $\text{Zn} > \text{Ge} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Se} > \text{Ni} > \text{As} > \text{Pb} > \text{V} > \text{Co} > \text{Cd} > \text{Ag} > \text{Mo} > \text{Be}$,这主要因为蒸煮的时候 Mo 元素比 Ag 元素容易挥发。

表 3 生鱼和熟鱼样品中微量元素的浓度(μg/g, n = 3)

Table 3 The concentration of trace elements in raw and cooked fish tissue(μg/g, n = 3)

元素 Element	Y1	Y2	Y3	Y4	S1	S2	S3	S4
Zn	42.5670 ± 0.9790	25.5400 ± 0.3320	52.3570 ± 1.1802	51.8500 ± 1.1220	40.4730 ± 0.9076	24.2840 ± 0.5451	50.0820 ± 1.1130	50.7100 ± 1.0548
Ge	17.3990 ± 0.5916	10.4390 ± 0.2192	21.4010 ± 0.7131	26.0980 ± 0.8348	15.1810 ± 0.0320	9.1090 ± 0.3023	18.6730 ± 0.6134	22.7720 ± 0.7002
Cu	4.7230 ± 0.0567	2.8340 ± 0.1020	5.8100 ± 0.0683	7.0850 ± 0.0799	2.7410 ± 0.0321	1.6440 ± 0.0193	3.3710 ± 0.0391	4.1110 ± 0.0466
Cr	2.0770 ± 0.0768	1.2460 ± 0.0187	2.5550 ± 0.0926	3.1160 ± 0.1085	2.0714 ± 0.0747	1.2430 ± 0.0449	2.5480 ± 0.0911	3.1070 ± 0.1040
Se	1.0440 ± 0.0329	0.6270 ± 0.0163	1.2846 ± 0.0397	1.5670 ± 0.0464	1.0263 ± 0.0315	0.6080 ± 0.0187	1.0480 ± 0.0319	1.1440 ± 0.0326
Ni	0.9850 ± 0.0330	0.5910 ± 0.027	1.2110 ± 0.0398	1.4770 ± 0.0456	0.6080 ± 0.0199	0.3650 ± 0.0119	0.7480 ± 0.0242	0.9120 ± 0.0276
As	0.6240 ± 0.0222	0.3740 ± 0.0130	0.7680 ± 0.0267	0.9360 ± 0.0313	0.4280 ± 0.0148	0.2570 ± 0.0089	0.5270 ± 0.0181	0.6420 ± 0.0206
Pb	0.2920 ± 0.0110	0.1750 ± 0.0066	0.3590 ± 0.0132	0.4380 ± 0.0155	0.1740 ± 0.0064	0.1050 ± 0.0038	0.2150 ± 0.0078	0.2620 ± 0.0089
V	0.1650 ± 0.0065	0.0989 ± 0.0040	0.2030 ± 0.0078	0.2470 ± 0.0092	0.1600 ± 0.0062	0.0963 ± 0.0037	0.1970 ± 0.0075	0.2410 ± 0.0086
Co	0.0607 ± 0.0025	0.0364 ± 0.0016	0.0746 ± 0.0030	0.0910 ± 0.0036	0.0420 ± 0.0017	0.0252 ± 0.0010	0.0517 ± 0.0021	0.0630 ± 0.0024
Cd	0.0434 ± 0.0019	0.0260 ± 0.0012	0.0534 ± 0.0022	0.0651 ± 0.0026	0.0179 ± 0.0008	0.0108 ± 0.0005	0.0221 ± 0.0009	0.0269 ± 0.0011
Mo	0.0090 ± 0.0004	0.0054 ± 0.0002	0.0111 ± 0.0005	0.0135 ± 0.0006	0.0079 ± 0.0004	0.0048 ± 0.0002	0.0098 ± 0.0004	0.0119 ± 0.0005
Ag	0.0089 ± 0.0004	0.0054 ± 0.0002	0.0101 ± 0.0005	0.0134 ± 0.0006	0.0141 ± 0.0007	0.0084 ± 0.0004	0.0173 ± 0.0008	0.0211 ± 0.0009
Be	0.0003 ± 0.0001	0.0002 ± 0.00006	0.0004 ± 0.00002	0.0005 ± 0.00002	0.0004 ± 0.00001	0.0003 ± 0.00001	0.0006 ± 0.000002	0.0007 ± 0.00002

根据《中华人民共和国国家标准》(GB2762-2012)中规定 Pb ≤ 1.0000 μg/g, Cd ≤ 0.10000 μg/g, Cu ≤ 50.0000 μg/g。其中 Pb: 0.1050 ~ 0.4380 μg/g, Cd: 0.0108 ~ 0.0651 μg/g, Cu: 1.6440 ~ 7.0850 μg/g, 三种有毒元素在生鱼片和熟鱼片中均低于限量值, 而 Se 元素含量取消了限制, 但是人体吸收过多 Se 元素也会引起中毒, 为了评估食用鱼片对人体健康的危害, 通过以下公式计算熟鱼片中

人们日常生活中 Pb、Cd 和 Se 元素的吸收量 (EWI)^[9]。

$$EWI = (C \times FIR \times 7) / WAB$$

注: EWI 表示为每周吸收量 (μg/kg); C 表示为鱼中的元素浓度 (μg/g); FIR 表示为食品吸收率, 相当于每人 36 g/d; 7 表示一周的天数; WAB 表示为消费者的平均体重 (60 kg) (EU Scientific Committee)。

表 4 Pb、Cd 和 Se 元素的 EWI 值 (μg/kg)

Table 4 The EWI values of Pb, Cd and Se (μg/kg)

元素 Element	S1	S2	S3	S4	Y1	Y2	Y3	Y4
Se	4.6060	2.7650	5.6630	6.9090	4.3100	2.5540	4.4020	4.8050
Pb	0.7350	0.4410	0.9030	1.0990	0.1820	0.1090	0.2240	0.2730
Cd	0.0770	0.0490	0.0910	0.1120	1.2260	0.7350	1.5080	1.8380

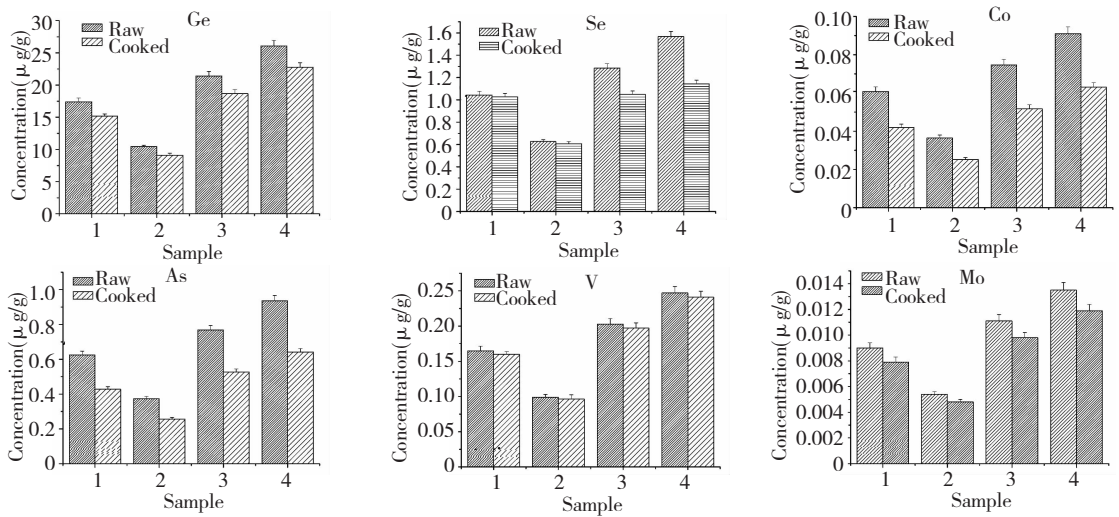
在表4中列举了4种鱼样品Pb、Cd和Se元素每周的吸收量, Se: 2.5540 ~ 6.9.9000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Pb: 0.1090 ~ 1.0990 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Cd: 0.0770 ~ 1.8380 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 结合每周最高吸收量限制(PTWI)值, 其中Cd元素的限量值为2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (EU Scientific Committee), Pb元素的限量值为25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (WHO), 表4中的Pb和Cd元素EWI值均低于限量值, 从重金属的角度上说明食用生鱼片和熟鱼片均对人体没有损害。

表5 主成分特征值和方差贡献率

Table 5 Eigenvalues of component and variance

成分 Component	特征值 Eigenvalues	方差贡献率 Variance (%)	累计方差贡献率 Cumulative Variance (%)
1	11.2788	80.5625	80.5625
2	2.7212	19.4375	100

2.4 蒸煮前后鱼样品中主成分元素分析

图1 生鱼片与熟鱼片中主成分元素含量的比较[As、Ge、Mo、Co和Se($P < 0.0500$), V($P > 0.05$)] ($\mu\text{g}/\text{g}$, $n = 3$)Fig. 1 Comparison of concentrations of trace elements in raw and cooked fish tissues [As, Ge, Mo, Co and Se ($P < 0.0500$), V ($P > 0.0500$)] ($\mu\text{g}/\text{g}$, $n = 3$)

注: 1代表Y1、S1; 2代表Y2、S2; 3代表Y3、S3; 4代表Y4、S4。

Note: 1 represent Y1 and S1; 2 represent Y2 and S2; 3 represent Y3 and S3; 4 represent Y4 and S4.

在鱼肉中重金属元素的毒性大小为As > Pb > Cd, 如图1所示, 主成分元素As、Ge、Co、V、Mo和Se的含量均为生鱼片 > 熟鱼片, 使用SPSS11.5中显著性差异分析方式中独立样本T检验方法, 鱼片中主成分元素除V元素($P > 0.0500$)外均存在显著性差异($P < 0.0500$), 表明经过煮沸的鱼肉中有害元素降低, 从重金属角度建议消费者食用熟鱼, 可见蒸煮是降低鱼中有害元素含量一种有效途径。

2.3 鱼样品中微量元素的主成分分析

采用SPSS11.5对鱼样品中14种微量元素进行主成分分析, 通过表5分析总方差贡献率为80.5625%来自第1个因子, 通过分析载荷矩阵分析, 第一主成分与Ge、Se、As、V、Co和Mo元素呈现出高度正相关, 所以Ge、Se、As、V、Co和Mo元素为鱼样品中的主成分元素。

3 结论

本研究实现了EPA200.11和EPA6020方法的转化, 并且结合本次实验的实际情况建立了适用于生物样品的实验方法, 采用ICP-MS测定了生鱼片和熟鱼片中14种微量元素的准确数值, 经过煮沸的Pb、Cd、Cu、As等有毒元素降低, 同时Mo元素在煮沸的过程中降低较大而致使元素含量大小顺序发生

改变,同时得出无论是食用生鱼片还是熟鱼片均对人体健康不构成危害,并且得出鱼片中的主成分元素为 Ge、Se、As、V、Co 和 Mo 元素,可见蒸煮是一种降低鱼肉中有毒元素的有效途径。

参考文献

- 1 Mendil D, Demirci Z, Tuzen M, *et al.* Seasonal investigation of trace element contents in commercially valuable fish species from the Black sea, Turkey. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48:865-870.
- 2 Hao Y, Chen L, Zhang XL. Trace elements in fish from Taihu Lake, China: Levels, associated risks, and trophic transfer. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2013, 90:89-97.
- 3 Yang J, Chen L, Liu LZ. Comprehensive risk assessment of heavy metals in lake sediment from public parks in Shanghai. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2014, 102:129-135.
- 4 Medeiros RJ, dos Santos LMG, Freire AS, *et al.* Determination of inorganic trace elements in edible marine fish from Rio de Janeiro State, Brazil. *Food Control*, 2012, 23: 535-

541.

- 5 Yohannes YB, Ikenaka Y, Nakayama SM, *et al.* Organochlorine pesticides and heavy metals in fish from Lake Awassa, Ethiopia: Insights from stable isotope analysis. *Chemosphere*, 2013, 91:857-863.
- 6 Leung HM, Leung AO, Wang HS. Assessment of heavy metals/metalloid (As, Pb, Cd, Ni, Zn, Cr, Cu, Mn) concentrations in edible fish species tissue in the Pearl River Delta (PRD), China. *Mar Pollut Bull*, 2014, 78:235-245.
- 7 Penglase S, Hamre K, Ellingsen S. Selenium and mercury have a synergistic negative effect on fish reproduction. *Aquatic Toxicol*, 2014, 149:16-24.
- 8 Anderson DL. Effect of L-cysteine on drying and neutron irradiation loss of Hg, Se, As, and Br from fish tissue. *J Food Compos*, 2012, 28:89-98.
- 9 Kalogeropoulos N, Karavoltos S, Sakellari A. Heavy metals in raw, fried and grilled Mediterranean finfish and shellfish. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50:3702-3708.

(上接第 1981 页)

- 3 Zhang XQ(张孝祺), Bai MJ(白懋嘉). The quality standards of oil product from *Melaleuca alternifolia* in China. *Guangdong Chem Ind*(广东化工), 2011, 38:3-4.
- 4 Xiao KJ(肖凯军), Li L(李琳), Guo SY(郭祀远), *et al.* Extraction and application of *Melaleuca alternifolia* oils. *Food Sci Technol*(食品科技), 2001, 1:12-13.
- 5 Chen HY(陈海燕), Liang ZY(梁忠云), Huang YH(黄耀恒), *et al.* Study on main chemical compositions of oil of *Melaleuca* of different seed source and family. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2003, 15:408-410.
- 6 Tang QL(唐庆兰), Li GZ(李桂珍), Liang ZY(梁忠云), *et al.* Study on the chemical constituents of oil of *Melaleuca* of γ -terpinene type. *Flavour Fragr Cosmet*(香料香精化妆品), 2013, 4:4-6.
- 7 He CM. The developing tea tree oil industry in Guangxi province, P. R. China. *Perfumer Flavorist*, 2005, 30(3):14-19.
- 8 Wu LJ(吴丽君), Chen BH(陈碧华), Weng QY(翁秋媛), *et al.* Selection and grate definition of high-essential-oil superior individuals of *Melaleuca alternifolia*. *J Fujian Coll Forest*

(福建林学院学报), 2011, 31:74-78.

- 9 Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典) part I. Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 11.
- 10 Liang ZY(梁忠云), Liu H(刘虹), Chen HY(陈海燕), *et al.* Study on quality of tea-tree oil produced by different production processes. *Chem Ind Forest Prod*(林产化学与工业), 2009, 29(1):107-109.
- 11 Zhang XQ(张孝祺), Bai MJ(白懋嘉). A preliminary trial report on introduction of tea tree(*Melaleuca alternifolia* L.) from Australia. *Flavour Fragr Cosmet*(香料香精化妆品), 2011, 2:14-16.
- 12 Lv Y(吕永), He TY(何庭玉), Chen S(陈珊). Review of volatile oil from *Melaleuca alternifolia*. *Guangdong Chem Ind*(广东化工), 2005, 32(3):38-40.
- 13 Liang ZY(梁忠云), Liu H(刘虹), Wen CL(文彩琳). Study on chemical constituents of oil of *Melaleuca* of terpinen-4-ol type in different seasons. *Flavour Fragr Cosmet*(香料香精化妆品), 2006, 2:5-7.