

ICP-AES 测定海洋生物体中 13 种元素的微波消解条件优化

孙玲玲, 宋金明, 林 强, 孙 萱, 于 颖

(中国科学院 海洋研究所 分析测试中心, 山东 青岛 266071)

摘要: 报道了微波密闭消解正交试验条件优化电感耦合等离子体发射光谱法 (ICP-AES), 同时测定 8 种海洋生物体中硒、铁、锰、锌、钙、镁、锶、砷、镉、铬、铜、铅和镍等 13 种元素含量的实验结果。优化后的样品消解条件为加入的 $V_{\text{HNO}_3} : V_{\text{H}_2\text{O}_2} = 6.0 \text{ mL} : 1.0 \text{ mL}$, 第二步程序升温温度为 170°C , 消解时间 20 min; 测定标准曲线相关系数大于 0.999, 相对标准偏差为 0.30%~2.55%, 加标回收率为 92.0%~104.8%, 方法检出限为 0.0010~0.0468 $\mu\text{g/g}$ 。结果表明, 优化后方法测定操作简便、具有高的灵敏度、准确度和精密度, 且能多元素同时测定, 适合于海洋生物样品中这些元素含量的准确测定, 并可作为评估海产品食用安全提供科学依据。

关键词: 条件优化; 微波消解; ICP-AES; 测定

中图分类号: O657.31 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2014)08-0026-08

doi: 10.11759/hyqx20130818001

海洋生物(鱼类、贝类、甲壳类等)中含有丰富的蛋白质、不饱和脂肪酸^[1]和多种人体必需的锌、硒、铁、铜等微量元素^[2-3], 是深受人们喜爱的海产品。但是海洋生物样品存在基体复杂, 含盐量高, 元素种类多, 浓度范围跨度大的特点, 给准确测定和质量控制带来一定困难。此外, 近年来随着海洋环境污染的加剧, 使许多有毒重金属在海洋生物体内经富集作用而蓄积, 海产品的质量安全问题日趋严重。因此, 建立能高效、快速、准确测定海洋生物样品中重金属含量的方法显得尤为重要。

电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-AES) 具有分析速度快, 检出限低, 灵敏度高, 准确性好, 线性范围宽及多元素同时测定等优点, 已成为重要的无机元素分析工具^[4], 在海洋生物中金属元素的检测方面得到了广泛的应用^[5-10]。

微波密闭消解技术是近年来出现的一种新型消解技术, 与传统消解技术相比, 具有加热快、升温高、溶样时间短、消解能力强、空白值低等优点, 同时减少易挥发元素损失和样品污染, 提高了分析的准确度和精密度, 使样品前处理效率得到极大提高^[11-14]。

本研究将样品微波消解与 ICP-AES 结合, 对 8 种海洋生物样品中的硒、铁、锰、锌、钙、镁、锶、砷、镉、铬、铜、铅和镍等 13 种元素的含量进行测定。实验研究了 HNO_3 和 H_2O_2 用量、第二步程序升温温度和消解时间等对于微波消解后测定结果的影响, 获得了相对优化的消解条件, 并对方法的

加标回收率、精密度、检出限等进行了实验确定, 这将为海洋生物样品中重金属水平及食用安全的科学评价提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料与试剂

本实验所有实验样品于荣成市石岛菜市场随机购买, 包括焦氏舌鳎 (*Cynoglossus joyneri*)、高眼鲈 (*Cleisthenes herzensteini*) 和叫姑鱼 (*Johnius belengerii*) 三种鱼类, 栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 和牡蛎 (*Concha ostreae*) 两种贝类, 以及口虾蛄 (*Oratosquilla oratoria*)、鹰爪虾 (*Trachypenaeus curvirostris*) 和三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 三种甲壳类。生物样品去壳, 先后分别用自来水和去离子水洗净, 室温下吸水纸吸干后, 取其可食肌肉部位, 捣碎备用消解测定。

HNO_3 、 H_2O_2 (GR, 国药集团化学试剂有限公司), N9300233 多元素混合标准溶液 (10 mg/L, 美国 PerkinElmer 公司), 用于配制标准溶液与样品溶液的超纯水 (电阻率 18.2(M Ω ·cm))。

收稿日期: 2013-08-18; 修回日期: 2014-01-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41306070)

作者简介: 孙玲玲(1982-), 女, 山东平度人, 博士, 主要从事海洋环境分析研究, E-mail: sunllqd@163.com; 宋金明, 通信作者, 研究员, 博士生导师, E-mail: jmsong@qdio.ac.cn

1.2 仪器与设备

Optima 7300 DV 电感耦合等离子体原子发射光谱仪(美国 PerkinElmer 公司); SpeedWave MWS-4 微波消解仪 (德国 Berghof 公司); Milli-Q Direct8 超纯水系统 (美国 Millipore 公司); BS110 电子天平 (德国 Sartorius 公司)。

1.3 测定方法

准确称取 0.500 g (湿质量) 左右生物样品于消解罐中, 加入 6.0 mL 浓 HNO₃ 和 1.0 mL H₂O₂, 加盖预消解过夜。次日, 将盛有样品的消解罐置于微波消解仪中, 按设置好的消解程序消解。消解完全后, 待消解罐内温度低于 40℃ 时, 取出, 转移消解液至 25.0 mL 容量瓶中, 用去离子水洗涤消解罐 3~4 次, 合并洗涤液, 并以去离子水定容、摇匀, 备用。同时做试剂空白实验。

按照所选定的仪器工作参数 (表 1), 分析元素的波长, 用 ICP-AES 依次对校准空白溶液和标准溶液进行测定, 制作各元素的标准曲线 (表 2), 根

表 1 ICP-AES 测定的工作参数

Tab.1 Operating parameters of the ICP-AES

| RF 功率 (kW) | 雾化器压力 (MPa) | 等离子体气流量 (L/min) | 辅助气流量 (L/min) | 载气 (L/min) | 溶液提升量 (mL/min) | 积分时间 (s) | 观测 方向 |
|---------------|----------------|--------------------|------------------|---------------|-------------------|-------------|----------|
| 1.3 | 95.0 | 15.0 | 0.2 | 0.8 | 1.5 | 20 | 轴向 |

表 2 元素测定标准曲线的回归方程及相关系数

Tab.2 Linear regression equation of different elements and their correlation coefficients

| 元素 | 回归方程 | 相关系数 <i>R</i> |
|----|--------------------|---------------|
| Se | $A=2426C-24.7$ | 0.999 781 |
| Fe | $A=229900C-3153.7$ | 0.999 503 |
| Mn | $A=596700C-1932.4$ | 0.999 971 |
| Zn | $A=123200C-411.8$ | 0.999 712 |
| Ca | $A=207400C-2660.9$ | 0.999 818 |
| Mg | $A=22410C-428.5$ | 0.999 626 |
| Sr | $A=182700C+1405.2$ | 0.999 993 |
| As | $A=1908C-11.4$ | 0.999 931 |
| Cd | $A=94170C+383.7$ | 0.999 885 |
| Cr | $A=86430C+417.1$ | 0.999 945 |
| Cu | $A=258900C-567.6$ | 0.999 974 |
| Pb | $A=12210C-51.9$ | 0.999 967 |
| Ni | $A=61090C+288.2$ | 0.999 860 |

两步程序升温的微波消解, 可使样品消解更充分, 并能减少加热过快和高压所带来的危险^[17]。该实验的微波消解条件如表 4 所示。本文以焦氏舌鳎为

据标准曲线测出各样品中元素含量, 每个试样重复测定 3 次。

2 结果与讨论

2.1 分析测定波长的选择

ICP-AES 法对每个元素的测定都有多条特征谱线供选择。实验中选择仪器推荐的 2~3 条谱线分别进行测定, 综合分析光谱强度、干扰情况及稳定性, 选择灵敏度高、干扰少、背景等效浓度低的谱线作为分析谱线, 其结果见表 3。

2.2 样品微波消解条件的优化

HNO₃、HCl、HF、H₂SO₄、H₃PO₄ 和 H₂O₂ 的两种或多种组合均可作为可用的样品消解液, 均具有较好的微波吸收特性, 相对而言, 浓 HNO₃ 作为分解有机物的试剂更为有效^[15], 加入 H₂O₂ 可以很好的赶走消解过程中多余的 NO₂ 并加强了有机物的氧化, 使消解液更加澄清透明, 易于测定^[16], 故实验选择了 HNO₃-H₂O₂ 混合液进行海洋生物体的消解。

例, 选择对测定结果影响较大的 HNO₃ 的用量、H₂O₂ 的用量、第二步程序升温温度和消解时间这四方面进行优化。运用正交试验法, 选取 L₁₆(3⁴) 正交表, 按四因素三水平安排实验 (表 5)。以各元素含量作为衡量微波消解效果的客观指标, 优选最佳条件。每一条件下均做 3 次重复, 计算平均值。正交试验结果见表 6。

应用 SPSS 软件分析^[18]所得的单因素统计分析结果见表 7。从表 7 中 *R* 可知, 对于 Se、Mn、Zn、Ca、Mg、Cr 和 As 七种元素, 四因素对实验指标的影响依次为 HNO₃ 用量 > H₂O₂ 用量 > 消解温度 > 消解时间, 即 $A > B > C > D$; 对于 Cu 元素, 四因素对实验指标的影响依次为 H₂O₂ 用量 > HNO₃ 用量 > 消解时间 > 消解温度, 即 $B > A > D > C$; 对于 Fe 和 Sr 两种元素, 四因素对实验指标的影响依次为 HNO₃ 用量 > H₂O₂ 用量 > 消解时间 > 消解温度, 即 $A > B > D > C$ 。综合四因素对实验指标各元素的整体影响, 微波消解的最佳条件为 A₃B₃C₂D₃, 即 HNO₃ 的用量 6.0 mL、H₂O₂ 的用量 1.0 mL、第二步程序升温温度 170℃、消解时间 20 min。

表 3 13 种元素测定波长

Tab.3 Analytical wavelength of 13 elements

| | | | | | | | |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 元素 | Se | Fe | Mn | Zn | Ca | Mg | Sr |
| 波长(nm) | 196.026 | 259.939 | 257.610 | 213.857 | 317.933 | 279.077 | 407.771 |
| 元素 | As | Cd | Cr | Cu | Pb | Ni | |
| 波长(nm) | 188.979 | 226.502 | 267.716 | 324.752 | 220.353 | 231.604 | |

表 4 微波消解程序

Tab.4 Process of microwave digestion for samples

| | | | | | |
|------|--------|---------|-----------|-----------|-------|
| 升温程序 | 温度(°C) | 压力(MPa) | 升温时间(min) | 保持时间(min) | 功率(%) |
| 第一步 | 140 | 5.0 | 5 | 5 | 90 |
| 第二步 | 优化确定 | 5.0 | 5 | 优化确定 | 90 |
| 第三步 | 50 | 0 | 1 | 10 | 0 |

表 5 微波消解正交试验因素与水平

Tab.5 Factors and levels used in orthogonal array design

| | | | | |
|----|---------------------------|--------------------------------------|------------|-------------|
| 水平 | 因素 | | | |
| | A HNO ₃ 体积(mL) | B H ₂ O ₂ (mL) | C 消解温度(°C) | D 消解时间(min) |
| 1 | 4.0 | 0.6 | 160 | 10 |
| 2 | 5.0 | 0.8 | 170 | 15 |
| 3 | 6.0 | 1.0 | 180 | 20 |

表 6 微波消解正交试验方案和实验结果(*n* = 3)

Tab.6 The orthogonal array design and experimental results (*n* = 3)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|----|---|---|---|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|-------|-------|----|----|
| 实验号 | 因素 | | | | 元素含量(μg/g) | | | | | | | | | | | | |
| | A | B | C | D | Se | Fe | Mn | Zn | Ca | Mg | Sr | As | Cd | Cr | Cu | Pb | Ni |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0.613 | 8.259 | 0.102 | 4.256 | 166.8 | 94.59 | 1.007 | 0.360 | ND | 0.011 | 1.145 | ND | ND |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 0.965 | 9.300 | 0.120 | 7.219 | 205.8 | 102.1 | 1.087 | 0.405 | ND | 0.048 | 1.957 | ND | ND |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 0.950 | 9.331 | 0.132 | 6.941 | 188.1 | 105.8 | 1.181 | 0.532 | ND | 0.098 | 1.638 | ND | ND |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 0.743 | 7.629 | 0.223 | 4.913 | 173.0 | 97.56 | 1.061 | 0.506 | ND | 0.032 | 1.400 | ND | ND |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 0.824 | 8.072 | 0.203 | 5.481 | 185.0 | 101.6 | 1.208 | 0.585 | ND | 0.058 | 1.848 | ND | ND |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0.898 | 8.470 | 0.294 | 4.775 | 185.5 | 104.2 | 1.279 | 0.684 | ND | 0.087 | 1.520 | ND | ND |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1.074 | 9.402 | 0.211 | 6.252 | 189.3 | 107.2 | 1.225 | 0.600 | ND | 0.131 | 1.866 | ND | ND |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 1.169 | 9.614 | 0.301 | 7.362 | 205.7 | 111.6 | 1.353 | 0.686 | ND | 0.105 | 2.514 | ND | ND |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1.350 | 9.820 | 0.337 | 8.360 | 230.6 | 123.1 | 1.599 | 0.721 | ND | 0.163 | 2.012 | ND | ND |

ND: 未检出

对 Mn 离子的实验结果进一步进行正交试验方差分析, 结果见表 8。

根据以上方法, 对其他 9 种元素也进行方差分析, 计算 *P* 值, 结果见表 9。

从表 9 可以看出, *A* (HNO₃ 用量) 对 Mn 和 As 的影响极显著 (*P* < 0.01), *A* (HNO₃ 用量) 和 *B* (H₂O₂ 用量) 对其他所有元素的影响显著 (*P* < 0.05), 而 *C* (消解温度) 和 *D* (消解时间) 除 Mn 元素以外, 对实验结果影响不大, 各因素的主次顺序为 *A* > *B* > *C* > *D*, 即 HNO₃ 用量、H₂O₂ 用量、第二步程序

升温温度和消解时间, 这与前面极差分析的结果一致。

根据以上优化获得的微波消解条件, 对本文生物样品中的 13 种元素进行了测定, 结果见表 10。

由表 10 可以看出, 三类海洋生物中不仅含有大量对人体有益的 Mg 和 Ca 元素, 还含有 Se、Zn、Fe、Mn、Sr 和 Cu 等人体必需的微量元素, 这些微量元素参与人体内许多重要的合成, 保证机体的正常运行^[19]。值得注意的是, 八种生物样品还含有一定量的 As、Cd、Cr 和 Pb 这四种重金属元素中的一种或多种。

表 7 正交试验结果极差分析结果 (µg/g)
Tab.7 The results of orthogonal array design (µg/g)

| | Se | | | | Fe | | | | Mn | | | | Zn | | | | Ca | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D |
| | K_1 | 2.528 | 2.430 | 2.680 | 2.787 | 26.89 | 25.29 | 26.34 | 26.15 | 0.354 | 0.536 | 0.697 | 0.642 | 18.42 | 15.42 | 16.39 | 18.10 | 560.7 | 529.1 | 558.0 |
| K_2 | 2.465 | 2.958 | 3.058 | 2.937 | 24.17 | 26.99 | 26.75 | 27.17 | 0.720 | 0.624 | 0.680 | 0.625 | 15.17 | 20.06 | 20.49 | 18.25 | 543.5 | 596.5 | 609.4 | 580.6 |
| K_3 | 3.593 | 3.198 | 2.848 | 2.862 | 28.84 | 27.62 | 26.81 | 26.57 | 0.849 | 0.763 | 0.546 | 0.656 | 21.97 | 20.08 | 18.67 | 19.22 | 625.6 | 604.2 | 562.4 | 566.8 |
| k_1 | 0.843 | 0.810 | 0.893 | 0.929 | 8.963 | 8.430 | 8.781 | 8.717 | 0.118 | 0.179 | 0.232 | 0.214 | 6.139 | 5.140 | 5.464 | 6.032 | 186.9 | 176.4 | 186.0 | 194.1 |
| k_2 | 0.822 | 0.986 | 1.019 | 0.979 | 8.057 | 8.995 | 8.916 | 9.057 | 0.240 | 0.208 | 0.227 | 0.208 | 5.056 | 6.687 | 6.831 | 6.082 | 181.2 | 198.8 | 203.1 | 193.5 |
| k_3 | 1.198 | 1.066 | 0.949 | 0.954 | 9.612 | 9.207 | 8.935 | 8.858 | 0.283 | 0.254 | 0.182 | 0.219 | 7.325 | 6.692 | 6.225 | 6.405 | 208.5 | 201.4 | 187.5 | 188.9 |
| R | 0.376 | 0.256 | 0.126 | 0.050 | 1.555 | 0.777 | 0.154 | 0.340 | 0.165 | 0.075 | 0.050 | 0.011 | 2.269 | 1.552 | 1.367 | 0.373 | 27.30 | 25.00 | 17.10 | 5.200 |
| | Mg | | | | Sr | | | | As | | | | Cr | | | | Cu | | | |
| | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D |
| | K_1 | 302.5 | 299.4 | 310.4 | 319.3 | 3.275 | 3.293 | 3.639 | 3.814 | 1.297 | 1.466 | 1.730 | 1.666 | 0.157 | 0.174 | 0.203 | 0.232 | 4.740 | 4.411 | 5.179 |
| K_2 | 303.4 | 315.3 | 322.8 | 313.5 | 3.548 | 3.648 | 3.747 | 3.591 | 1.775 | 1.676 | 1.632 | 1.689 | 0.177 | 0.211 | 0.243 | 0.266 | 4.768 | 6.319 | 5.369 | 5.343 |
| K_3 | 341.9 | 333.1 | 314.6 | 315.0 | 4.177 | 4.059 | 3.614 | 3.595 | 2.007 | 1.937 | 1.717 | 1.724 | 0.399 | 0.348 | 0.287 | 0.235 | 6.392 | 5.170 | 5.352 | 5.552 |
| k_1 | 100.8 | 99.78 | 103.5 | 106.4 | 1.092 | 1.098 | 1.213 | 1.271 | 0.432 | 0.489 | 0.577 | 0.555 | 0.052 | 0.058 | 0.068 | 0.077 | 1.580 | 1.470 | 1.726 | 1.668 |
| k_2 | 101.1 | 105.1 | 107.6 | 104.5 | 1.183 | 1.216 | 1.249 | 1.197 | 0.592 | 0.559 | 0.544 | 0.563 | 0.059 | 0.070 | 0.081 | 0.089 | 1.589 | 2.106 | 1.790 | 1.781 |
| k_3 | 114.0 | 111.0 | 104.9 | 105.0 | 1.392 | 1.353 | 1.205 | 1.198 | 0.669 | 0.646 | 0.572 | 0.575 | 0.133 | 0.116 | 0.096 | 0.078 | 2.131 | 1.723 | 1.784 | 1.851 |
| R | 13.20 | 11.22 | 4.10 | 1.900 | 0.300 | 0.255 | 0.044 | 0.074 | 0.237 | 0.157 | 0.033 | 0.020 | 0.081 | 0.058 | 0.028 | 0.012 | 0.551 | 0.636 | 0.064 | 0.183 |

表 8 Mn 正交试验结果方差分析表

Tab.8 Results of variance analysis for Mn experimental results of orthogonal array design

| 因素 | 离均差平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | P 值 |
|-------|--------------------|-----|----------|----------|---------|
| 校正模型 | 0.057 ^a | 6 | 0.010 | 118.779 | 0.008 |
| 截距 | 0.411 | 1 | 0.411 | 5114.701 | 0.000** |
| A | 0.044 | 2 | 0.022 | 273.598 | 0.004** |
| B | 0.009 | 2 | 0.004 | 54.353 | 0.018* |
| C | 0.005 | 2 | 0.002 | 28.386 | 0.034* |
| D(误差) | 0.000 | 2 | 8.033E-5 | | |
| 总误差 | 0.468 | 9 | | | |
| 校正总值 | 0.057 | 8 | | | |

注: ^a $R^2 = 0.997$ (调整后的 $R^2 = 0.989$); * $P < 0.05$, 差异显著; ** $P < 0.01$, 差异极显著

表 9 10 种元素正交试验结果方差分析表

Tab.9 P values of 10 elements in variance analysis

| P 值 | Se | Fe | Mn | Zn | Ca | Mg | Sr | As | Cr | Cu |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0.014 | 0.011 | 0.004 | 0.031 | 0.037 | 0.018 | 0.023 | 0.006 | 0.019 | 0.012 |
| B | 0.035 | 0.042 | 0.018 | 0.049 | 0.041 | 0.031 | 0.033 | 0.015 | 0.040 | 0.012 |
| C | 0.136 | - | 0.034 | 0.080 | 0.082 | 0.186 | - | 0.231 | 0.167 | - |
| D | - | 0.195 | - | - | - | - | 0.235 | - | - | 0.127 |

注: “-” 对应元素方差分析中的误差

表 10 海洋生物样品中 13 种元素含量 (鲜质量, $\mu\text{g/g}$) ($n = 3$)

Tab.10 Concentrations of 13 elements in different organism samples (fresh, $\mu\text{g/g}$) ($n = 3$)

| 生物样品 | 元素 | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Se | Fe | Mn | Zn | Ca | Mg | Sr | As | Cd | Cr | Cu | Pb | Ni | |
| 鱼 类 | 焦氏舌鲷 | 1.734 | 14.69 | 0.509 | 9.385 | 280.6 | 175.7 | 4.777 | 0.783 | ND | 0.205 | 2.862 | ND | ND |
| | 高眼鲷 | 1.612 | 3.944 | 2.886 | 4.573 | 2755 | 107.9 | 12.02 | 0.450 | ND | 0.088 | 1.120 | 0.805 | ND |
| | 叫姑鱼 | 1.616 | 4.010 | 0.359 | 1.593 | 741.2 | 197.5 | 2.824 | ND | ND | 0.088 | 2.010 | 0.405 | ND |
| 贝 类 | 栉孔扇贝 | 1.498 | 2.006 | 0.607 | 21.82 | 189.9 | 410.8 | 2.773 | 0.150 | 0.432 | 0.063 | 1.766 | ND | 0.118 |
| | 牡蛎 | 1.294 | 11.45 | 4.592 | 130.2 | 272.6 | 379.8 | 2.902 | ND | 0.953 | 0.135 | 12.29 | 0.684 | 0.062 |
| 甲 壳 类 | 口虾蛄 | 1.205 | 3.273 | 3.105 | 11.14 | 5757 | 3330 | 2.800 | ND | 0.480 | 0.278 | 14.43 | ND | 0.088 |
| | 鹰爪虾 | 1.266 | 4.953 | 1.437 | 9.611 | 1690 | 530.0 | 37.54 | ND | 0.082 | 0.040 | 5.981 | ND | 0.050 |
| | 三疣梭子蟹 | 1.676 | 8.644 | 5.496 | 7.387 | 4985 | 1667 | 50.04 | ND | 0.801 | 0.132 | 6.597 | 0.530 | 0.115 |

注: ND 表示未检出

按照食品安全国家标准 GB 2762-2012《食品中污染物限量》^[20], 对 8 种海洋生物体内的重金属含量表 10 的结果进行评价。可见, 焦氏舌鲷和高眼鲷体内的 As 含量, 三疣梭子蟹中的 Cd 含量, 以及高眼鲷和三疣梭子蟹中的 Pb 含量都超出国家标准范围 (表 11)。过量 As 摄入体内后, 可经血液迅速分布至全身, 皮肤、神经、心、肺等均可受影响, 可引发多器官的组织学和功能上的异常改变, 长期暴露可引发皮肤、肺脏等的肿瘤^[21]。Cd 是人体不需要的有毒重金属元素, 它能够蓄积在人体的肾、心、肺等处, 排泄缓慢, 对肝、肾、骨骼和脑均可产生毒性, 可

引起骨痛病, 并可致癌^[22]。Pb 是一种具有蓄积性的有害重金属元素, 经常摄入微量铅, 会对神经系统、消化系统、造血系统和肾脏等造成危害^[23]。这些重金属含量超标的海产品经食用后将严重影响人们的

表 11 海洋食品中污染物限量

Tab.11 Maximum limits for contaminants in sea foods

| 种类 | 限量 (mg/kg) | | | |
|-----|------------|-----|-----|-----|
| | Cd | Cr | Pb | As |
| 鱼类 | 0.1 | 2.0 | 0.5 | 0.1 |
| 贝类 | 2.0 | 2.0 | 1.0 | 0.5 |
| 甲壳类 | 0.5 | 2.0 | 0.5 | 0.5 |

身体健康, 所以, 控制海洋污染, 加强监督和管理, 保证海产品的食用安全性迫在眉睫。

2.3 方法的准确度

2.3.1 方法检出限

将空白溶液重复测试 12 次, 计算标准偏差, 3 倍标准偏差即为方法检出限, 结果见表 13。本方法各元素的检出限为 0.0010~0.0468 $\mu\text{g/g}$ 。

表 12 各元素相对标准偏差

Tab.12 Relative standard deviations of the elements

| 元素 | Se | Fe | Mn | Zn | Ca | Mg | Sr | As | Cd | Cr | Cu | Pb | Ni |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| RSD (%) | 0.79 | 0.85 | 0.30 | 1.00 | 0.89 | 0.32 | 0.94 | 1.19 | 1.59 | 1.48 | 0.34 | 2.55 | 1.02 |

表 13 各元素检出限、回收率及相对标准偏差

Tab.3 Detection limits, recoveries and RSD of the method

| 元素 | 加标量 ($\mu\text{g/g}$) | | | 平均回收值 ($\mu\text{g/g}$) | | | 平均回收率 (%) | | | 检出限 ($\mu\text{g/g}$) |
|----|-------------------------|-----|-----|---------------------------|------|------|-----------|-------|-------|-------------------------|
| Se | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 1.03 | 1.88 | 3.93 | 103.0 | 94.0 | 98.3 | 0.0457 |
| Fe | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 1.01 | 1.99 | 4.19 | 101.0 | 99.5 | 104.8 | 0.0036 |
| Mn | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 0.98 | 1.92 | 3.87 | 98.0 | 96.0 | 96.8 | 0.0018 |
| Zn | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 0.95 | 1.87 | 3.91 | 95.0 | 93.5 | 97.8 | 0.0012 |
| Ca | 20 | 40 | 60 | 18.6 | 41.1 | 57.9 | 93.0 | 102.8 | 96.5 | 0.0011 |
| Mg | 20 | 40 | 60 | 20.7 | 38.3 | 58.7 | 103.5 | 95.8 | 97.8 | 0.0010 |
| Sr | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 0.94 | 2.07 | 3.80 | 94.0 | 103.5 | 95.0 | 0.0026 |
| As | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 0.92 | 1.89 | 3.81 | 92.0 | 94.5 | 95.3 | 0.0410 |
| Cd | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 0.94 | 1.91 | 3.76 | 94.0 | 95.5 | 94.0 | 0.0044 |
| Cr | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 0.93 | 2.03 | 4.11 | 93.0 | 101.5 | 102.8 | 0.0101 |
| Cu | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 0.95 | 1.93 | 3.85 | 95.0 | 96.5 | 96.3 | 0.0020 |
| Pb | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 0.94 | 1.96 | 3.85 | 94.0 | 98.0 | 96.3 | 0.0468 |
| Ni | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 0.92 | 1.88 | 3.90 | 92.0 | 94.0 | 97.5 | 0.0013 |

2.3.3 加标回收实验

对栉孔扇贝样品进行加标回收试验, 分别加入各元素的标准溶液, 进行 3 次平行测定, 每个平行测定 3 次, 计算平均回收率, 回收率在 92.0%~104.8%, 结果见表 13。

3 结语

在对微波消解前处理海洋生物样品条件进行优化的基础上, 用 ICP-AES 测定了 8 种海洋生物样品中硒、铁、锰、锌、钙、镁、锶、砷、镉、铬、铜、铅和镍等 13 种元素的含量, 评价了其测定方法的准确性。微波消解正交实验和方差分析结果显示, 微波消解的适宜条件为 HNO_3 的用量 6.0 mL、 H_2O_2 的用量 1.0 mL、第二步程序升温温度 170 $^\circ\text{C}$ 、消解时间 20 min。对 13 种元素测定标准曲线相关系数均大于 0.999, 相对标准偏差为 0.30%~2.55%, 加

2.3.2 精密度实验

为评价方法的精密度和准确度, 从八种生物样品中随机抽取一种样品 (栉孔扇贝) 进行平行实验。对样品进行处理、平行测定 6 次, 计算 RSD 值, 结果如表 12 所示。实验结果表明, 各元素的 RSD 相对标准偏差在 0.30%~2.55%, 说明该方法的重现性良好。

标回收率为 92.0%~104.8%, 方法检出限为 0.0010~0.0468 $\mu\text{g/L}$ 。

8 种海产品中不仅富含人体必需的 Ca 和 Mg 等常量元素, 而且还含有 Se、Zn、Fe、Mn、Sr 和 Cu 等人体必需的微量元素, 部分海产品体内也富集了 As、Cd、Cr 和 Pb 等重金属有毒物质, 部分含量高于国家规定标准, 将威胁这些海产品的食用安全性, 应引起重视。

本文优化的微波消解-ICP-AES 测定海洋生物样品中 13 种元素的测定方法, 具有消解安全快速、操作简单、测定准确度高、多元素同时测定等优点, 适于海洋生物样品中金属元素的检测和海产品食品安全评价需要。

参考文献:

[1] 于振花, 荆淼, 陈登云, 等. 微波消解 ICP-MS 同时

- 测定海产品中的 15 种元素含量[J]. 海洋科学, 2009, 33(1): 8-11.
- [2] 林建原, 徐亚平, 徐金炜, 等. 悬浮液进样-火焰原子吸收光谱法测定海产品中铜、铁、锌[J]. 食品科学, 2008, 29(3): 396-399.
- [3] 汤静琦, 魏玉西. 石墨炉原子吸收法测定青岛地区部分海产品中硒的含[J]. 海洋科学, 1996, (1): 14-15.
- [4] 辛仁轩. 等离子体发射光谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 11-46.
- [5] 王莹, 康万利, 辛士刚, 等. 鲍鱼、海参中微量元素的分析研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(2): 511-514.
- [6] 余焘. 微波消解 ICP-OES 法测定牡蛎中 16 种无机元素含量[J]. 广西农业科学, 2010, 41(9): 991-993.
- [7] 胡晓锋. 虾中重金属含量的分析检测[J]. 咸宁学院学报, 2011, 31(6): 74-75.
- [8] 赵艳芳, 宁劲松, 尚德荣, 等. 牡蛎、缢蛏和菲律宾蛤仔中微量元素的分析研究[J]. 广东微量元素科学, 2009, 16(9): 50-54.
- [9] Sheppard B S, Heitkemper D T, Gaston C M. Microwave digestion for the determination of arsenic, cadmium and lead in seafood products by inductively coupled plasma atomic emission and mass spectrometry [J]. Analyst, 1994, 119(8): 1683-1686.
- [10] Sun D H, Waters J K, Mawhinney T P. Microwave digestion with $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2\text{-HF}$ for the determination of total aluminum in seafood and meat by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(6): 2115-2119.
- [11] Kuss H M. Applications of microwave digestion technique for elemental analyses [J]. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 1992, 343(9-10): 788-793.
- [12] 张磊, 王晓艳, 李波. 微波消解技术在金属分析中的应用[J]. 光谱实验室, 2010, 27(3): 953-957.
- [13] 周勇义, 谷学新, 范国强, 等. 微波消解技术及其在分析化学中的应用[J]. 冶金分析, 2004, 24(2): 30-36.
- [14] Dolan S P, Capar S G. Multi-element analysis of food by microwave digestion and inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2002, 15(5): 593-615.
- [15] 高勇, 马东升, 白月, 等. 微波消解测定食品中 Pb、As 等金属元素方法的研究[J]. 检验检疫科学, 2005, (5): 13-14.
- [16] 李培, 谢晓烽. 微波消解 ICP-AES 法测定合成树脂乳液内墙涂料中 Pb、Cr、Cd、Hg [J]. 化学工程师, 2006, (1): 47-49.
- [17] 刘桂英, 王少斌. 微波消解-氢化物发生-原子荧光光谱法测定中药材中痕量砷[J]. 理化检验(化学分册), 2012, 48(1): 53-55.
- [18] 胡志洁. SPSS 11.5 软件在正交试验设计中的应用[J]. 医学信息, 2007, 20(5): 737-740.
- [19] 黄作明, 黄珣. 微量元素与人体健康[J]. 微量元素与健康研究, 2010, 27(6): 58-62.
- [20] 中华人民共和国卫生部. GB 2762-2012. 食品中污染物限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012: 1-15.
- [21] 王秀红, 边建朝. 微量元素砷与人体健康[J]. 国外医学医学地理分册, 2005, 26(3): 101-105.
- [22] 刘茂生. 有害元素镉与人体健康[J]. 微量元素与健康研究, 2005, 22(4): 66-67.
- [23] 姚智卿. 铅对人体健康的危害[J]. 微量元素与健康研究, 2011, 28(5): 67-68.

Optimization of microwave digestion conditions for 13 elements in marine organisms by ICP-AES

SUN Ling-ling, SONG Jin-ming, LIN Qiang, SUN Xuan, YU Ying

(Analytical and Measurement Research Center of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Aug., 18, 2013

Key words: Condition optimization; Microwave digestion; ICP-AES; Determination

Abstract: Herein, thirteen elements including Se, Fe, Mn, Zn, Ca, Mg, Sr, As, Cd, Cr, Cu, Pb and Ni in eight kinds of marine organisms were determined by using microwave digestion technique, and applying Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy (ICP-AES). The conditions of microwave digestion were optimized through orthogonal experiment design. The optimum conditions were as follows: the volume ratio of HNO₃-H₂O₂ : 6 : 1, digestion temperature: 170 °C, and digestion time: 20 min. The correlation coefficients of linear regression equation for all elements were above 0.999. The recovery rate of the method was in the range of 92.0%~104.8%, and the relative standard deviations were between 0.30% and 2.55%. The detection limit of the method ranged from 0.0010 µg/g to 0.0468 µg/g. The results indicated that the optimized method was convenient, sensitive, accurate and precise, and also can be used for simultaneous multi-element detection. It was suitable for determination of these elements in marine organisms, and also provided scientific foundation for evaluation of safety of seafood.

(本文编辑: 康亦兼)