

湿法消化与微波消解-ICP-AES 法测定坛紫菜中重金属

丁仲仲, 娄永江*, 赵一霖

(宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 以东海海域坛紫菜为原料, 通过响应曲面实验法优化了微波消解工艺, 并对比分析了湿法消化与微波消解 2 种消解法在电感耦合等离子原子发射光谱法(ICP-AES)技术测定原料中铬、镉、铅质量浓度的应用。研究表明: 坛紫菜的微波消解工艺为消解温度 164 °C、每克坛紫菜中硝酸添加量 25 mL、消解时间 15 min; 与湿法消化相比, 微波消解法具有处理时间较短、操作简单、试剂用量少, 且能更有效地对样品进行消解的特点。

关键词: 坛紫菜; 重金属; 微波消解; 湿法消化; ICP-AES

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2014) 03-0024-04

坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)是浙江、福建等沿海地区出口的主要特色农产品之一^[1], 是一种高蛋白、低脂肪、富含多种矿物质的天然海洋保健食品^[2-3]。但由于近年来工业污水等排放, 近海海域海洋环境污染严重, 坛紫菜中重金属超标成为紫菜产品质量安全的主要因素, 这严重影响坛紫菜国内外的销售^[4-6], 因此对坛紫菜中重金属高效、快速的检测越来越受到重视^[7-8]。电感耦合等离子原子发射光谱法(ICP-AES)是一种可同时分析测定多种元素的新技术手段^[9], 具有高灵敏度、检测限低等特点^[10]。笔者通过优化微波消解工艺, 对比分析了湿法消化和微波消解 2 种前处理法在 ICP-AES 测定坛紫菜重金属中的差异, 以期为坛紫菜中重金属检测提供方法和依据。

1 材料与方法

1.1 设备与试剂

1.1.1 实验设备

KP-I 型电子控温加热板(上海新仪微波化学科技有限公司); 高速超微粉碎机(上海力箭机械有限公司); 电子分析天平(上海帅宁仪器有限公司); 摩尔元素型超纯水机(上海摩勒科学仪器有限公司); CEMMARS5 密闭式微波消解仪(美国培安公司);

OPTIMA 2100 DV 电感耦合等离子体原子发射光谱仪(美国 Perkin Elemer 公司); 各玻璃器皿均用质量分数为 5%的硝酸浸泡 24 h, 然后用超纯水洗净, 烘干。

1.1.2 试剂

混合标准溶液(镉、锌、铝、铜、砷、铅、铬、铁、镁等 21 种) (美国 SPEX 公司); 硝酸(优级纯); 高氯酸(优级纯); 超纯水。

1.2 样品采集

坛紫菜样品均来自东海海域某紫菜养殖场。收集该养殖场头水的坛紫菜若干, 冷藏备用。

1.3 实验方法

1.3.1 样品前处理

将采集的样品用超纯水洗至无泥沙后进行干燥处理。干燥后的样品经高速粉碎机粉碎, 40 目过筛后放置干燥器皿中备用。

1.3.2 微波消解法

采用 2 步消解法处理坛紫菜样品, 以质量分数为 65%的硝酸作为消解液^[11], 称取 0.200 0 g 的坛紫菜样品至高压消解罐中, 加入消解液, 静置 1~2 h 后将消解罐放入微波消解仪中按表 1 程序消解。消解采用 2 步消解法, 最大功率和爬坡时间根据仪器特性设定。步骤 1 中消解温度参照消解液沸

收稿日期: 2013-10-31.

宁波大学学报(理工版) 网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 宁波市农业与社会发展攻关项目 (2012C10027) .

第一作者: 丁仲仲 (1988—), 女, 浙江宁波人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 食品加工与安全. E-mail: 442743698@qq.com

*通信作者: 娄永江 (1965—), 男, 浙江绍兴人, 副教授, 主要研究方向: 水产品加工. E-mail: louyongjiang@nbu.edu.cn

点, 消解时间根据消解罐壁固体残留量定为 3 min; 步骤 2 中消解温度和消解时间按表 1 设计. 样品消解后, 冷却 15 min 至 40 °C 以下, 转移至 25 mL 的容量瓶中, 用超纯水定容、摇匀、静置过夜待测, 重复测定 3 次. 以超纯水为空白试剂作对照实验.

表 1 微波消解仪工作程序及参数

步骤	最大功率/W	爬坡时间/min	消解温度/°C	消解时间/min
1	800	5	120	3
2	800	6	164	15

1.3.3 湿法消化法

称取 0.200 0 g 的坛紫菜样品于消化罐中, 放数粒玻璃珠, 加 10 mL 混合酸(9 mL 硝酸+1 mL 高氯酸), 加一小漏斗浸泡 24 h 后, 电炉上分步消化: (1) 在 100 °C 进行低温消化, 溶液变透明即可; (2) 升温至 200 °C (注意防止碳化), 若溶液开始变成红棕色, 拿下冷却再加硝酸, 同时向空白样等体积加入硝酸, 至冒白烟, 消化液呈无色透明或略带黄色, 放冷, 将试样消化液洗入 25 mL 容量瓶中, 用水少量多次洗涤消化罐于容量瓶中定容至刻度线, 混匀备用. 每份样品测平行 3 次, 同时以不加紫菜样品的样为空白对照组同样操作^[14].

1.3.4 仪器工作参数

实验中 ICP-AES 工作参数见表 2.

表 2 ICP-AES 仪器工作参数

工作参数	设定值	工作参数	设定值
射频功率/kW	1.3	仪器稳定时间/min	30
等离子氩气流量/(L·min ⁻¹)	15.0	进样延时/s	15
辅助气流量/(L·min ⁻¹)	1.0	清洗时间/s	10
冷却气流量/(L·min ⁻¹)	15.0	读数时间/s	5
泵速/(L·min ⁻¹)	15.0	扫描方式	跳峰
进样量/mL	1.0	采样模式	全定量

1.3.5 样品消解液的测定

将经过湿法消化和微波消解处理的样品组和空白对照组用 ICP-AES 法在选定的最佳工作条件(表 2)下进行重金属质量浓度的测定, 每个样品分别进行 3 次平行测定, 通过标准曲线进行定量.

1.4 响应曲面实验设计

采用 Design Expert 8.0.6 软件中 Box-Behnken 模式进行响应曲面试验设计. 以坛紫菜样品中铅、铬、镉为指标, 以消解温度、硝酸添加量、消解时

间为主要考察因子(自变量)分别以 *A*、*B*、*C* 表示, 综合前人研究结果^[7,9,11]及仪器设备条件, 将其取值范围确定为: 消解温度 150~170 °C、每克坛紫菜中硝酸添加量 20~30 mL、消解时间 12~16 min, 具体试验因子水平设计见表 3.

表 3 试验自变量因素编码及水平

水平	消解温度/°C	硝酸添加量/mL	消解时间/min
-1	150	20	12
0	160	25	14
1	170	30	16

1.5 数据处理

实验数据用 Excel 软件处理, 用 SAS 9.2 进行 ANOVA 分析, 不同平均值之间利用 LSD 法进行差异显著性检验. 用 Design Expert 8.0.6 建立响应曲面回归方程, 响应曲面实验结果利用最小二乘法进行二次多项式回归统计分析.

2 结果分析

2.1 标准曲线

以质量浓度为横坐标、信号强度为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程及相关系数见表 4. 从表 4 可看出, 回归方程的相关系数均大于 99.9%, 因此, 在所设定的波长范围内, 回归方程能很好地应用于计算样品中重金属质量浓度.

表 4 波长、回归方程、相关系数和检出限

元素	波长/nm	回归方程	相关系数	检出限/(μg·mL ⁻¹)
铅	220.353	$y=2\,968x-202.7$	0.999 777	0.039
铬	267.716	$y=27\,740x-541.3$	0.999 986	0.036
镉	228.802	$y=59\,350x+1\,244.1$	0.999 973	0.003

2.2 响应曲面实验结果

以坛紫菜样品中铅、铬、镉为指标的响应曲面实验结果见表 5, 模型系数显著性检验见表 6. 从表 5 可看出, 3 个消解因素的不同水平对重金属都有显著的影响, 且在不考虑消解因素交互作用的情况下, 3 种金属元素的检出量分别随 *A*、*B* 和 *C* 因素增加呈先上升后下降的趋势. 综合各因素对金属元素的影响可以得出, 该模型的结果是成立的, 可以应用于以 *A*、*B* 和 *C* 为因素的消解条件的优化.

表5 响应曲面实验结果

编号	A	B	C	Cr/(mg·kg ⁻¹)	Cd/(mg·kg ⁻¹)	Pb/(mg·kg ⁻¹)
1	0	0	0	1.123±0.005 ^b	2.627±0.005 ^b	1.727±0.005 ^a
2	-1	-1	0	0.922±0.002 ⁱ	2.285±0.009 ⁱ	1.385±0.004 ^k
3	-1	0	-1	0.822±0.009 ^k	2.198±0.007 ^l	1.298±0.006 ^m
4	0	-1	-1	0.964±0.004 ^g	2.187±0.003 ^l	1.287±0.006 ⁿ
5	1	0	1	1.122±0.004 ^b	2.626±0.005 ^b	1.626±0.005 ^e
6	0	1	1	1.062±0.006 ^d	2.523±0.008 ^e	1.623±0.004 ^e
7	-1	1	0	0.892±0.005 ^j	2.235±0.006 ^k	1.335±0.004 ^l
8	1	1	0	1.128±0.007 ^{ab}	2.636±0.004 ^b	1.536±0.008 ^g
9	-1	0	1	0.946±0.008 ^h	2.326±0.007 ^h	1.426±0.004 ^j
10	0	0	0	1.134±0.005 ^a	2.714±0.004 ^a	1.714±0.008 ^b
11	0	0	0	1.124±0.006 ^b	2.594±0.008 ^e	1.694±0.007 ^c
12	1	0	-1	0.987±0.004 ^f	2.395±0.007 ^g	1.495±0.009 ⁱ
13	0	1	-1	1.091±0.007 ^c	2.402±0.010 ^{fg}	1.502±0.007 ^{hi}
14	0	-1	1	1.121±0.008 ^b	2.553±0.006 ^d	1.653±0.008 ^d
15	1	-1	0	0.997±0.002 ^e	2.412±0.005 ^f	1.512±0.005 ^h
对照 湿法消化				1.098±0.005 ^c	2.256±0.009 ^j	1.612±0.008 ^f

注: 同列均值中无相同上标字母表示差异显著($P<0.05$, $n=3$), 下表明。

表6 模型系数显著性检验

元素	P 值					信噪比	R ²
	模型	适拟项	A	B	C		
Cr	<0.000 1	0.175 0	<0.000 1	0.017 3	0.000 2	19.712	0.984 6
Cd	0.000 1	0.880 9	0.000 1	0.031 4	0.000 4	13.392	0.971 0
Pb	0.000 3	0.072 5	0.000 8	0.258 6	0.000 7	12.722	0.963 8

2.3 微波消解工艺优化

以 3 种重金属的质量浓度检测量最大值为响应值, 3 种微波消解条件为自变量, 进行二次回归分析, 得出最适消解条件为: 温度 163.66 °C、硝酸用量 25.41 mL、时间 14.9 min, 并得到 3 种重金属的检测值为: 镉, 1.159 mg·kg⁻¹; 铬, 2.720 mg·kg⁻¹; 铅, 1.757 mg·kg⁻¹。综合考虑 3 种重金属检测值最大为响应值。为使操作方便, 分别取消解温度 164 °C、硝酸添加量 25 mL、消解时间 15 min 进行微波消解, 得 3 种重金属检测值为: 镉, (1.152±0.011) mg·kg⁻¹; 铬, (2.715±0.017) mg·kg⁻¹; 铅, (1.752±0.009) mg·kg⁻¹。

2.4 不同消解方法准确度比较

分别以优化微波消解工艺和湿法消化工艺为样品前处理法, 采用 ICP-AES 法在选定的最佳工作条件下进行重金属质量浓度测定, 平行测定 3 次。

2.4.1 样品检测结果

表 7 为不同消解法对坛紫菜中 3 种重金属质量

浓度的测定结果。从表 7 可看出, 2 种方法对 3 种金属的测定结果有显著差异($P<0.05$), 且结果的 RSD 分别在 0.5%~1.7%之间, 说明 2 种方法对样品的测定结果皆有较高的稳定性。但用微波消解法对样品的测定值要大于用湿法消化所测定的结果($P<0.05$), 这与马小宁等^[13]对圆白菜标准物质中重金属元素的测定相一致, 其原因可能是微波消解更能有效地对样品进行消解处理。

表7 不同消解方法测得重金属的测定值($n=3$)

方法	指标	Cr/(mg·kg ⁻¹)	Cd/(mg·kg ⁻¹)	Pb/(mg·kg ⁻¹)
湿法	测定量	1.098±0.018 ^b	2.256±0.021 ^b	1.612±0.016 ^b
消化	RSD/%	1.639	0.931	0.993
微波	测定量	1.152±0.011 ^a	2.715±0.017 ^a	1.752±0.009 ^a
消解	RSD/%	0.955	0.626	0.514

2.4.2 加标回收结果

不同消解方法对坛紫菜中 3 种重金属加标回收率的测定结果见表 8。从表 8 可看出, 2 种方法的加标回收结果在 95%~105%之间。

表8 不同消解方法的加标回收结果 %

方法	指标	Cr	Cd	Pb
湿法	回收率	97.2	101.5	95.9
消化	RSD	1.639	0.931	0.993
微波	回收率	100.7	101.3	101.7
消解	RSD	0.955	0.626	0.514

2.5 不同消解方法直观比较

实验中应用 2 种消解方法均能得到澄清的消解液, 无固体残留, 2 种消解方法均能应用于多种金属元素的测量^[14], 消解液应用电感耦合等离子体原子发射光谱法测得的结果稳定性较好。但是, 微波消解方法具有时间较短、操作简单、节约试剂用量等特点。比较测定量结果可看出, 微波消解法较湿法消化法能更彻底地完成对样品的消解。因此, 微波消解法更适用于坛紫菜重金属的电感耦合等离子体原子发射光谱法的测定。

3 结论

通过响应曲面实验优化得到坛紫菜的微波消解工艺为: 消解温度 164 °C、硝酸添加量 25 mL、消解时间 15 min。在对微波消解法和湿法消化法的比较中发现, 微波消解法具有时间较短、操作简

单、节约试剂用量等特点, 能更有效地对样品进行消解。因此微波消解更适用于坛紫菜重金属的电感耦合等离子体原子发射光谱法的测定。

参考文献:

- [1] 陈必链, 林跃鑫, 黄键. 坛紫菜的营养评价[J]. 中国海洋药物杂志, 2001, 80(2):51-53.
- [2] 张全斌, 赵婷婷, 慕慧敏, 等. 紫菜的营养价值研究概况[J]. 海洋科学, 2005, 29(2):69-72.
- [3] Kolb N, Vallorani L, Kozlek D, et al. Evaluation of marine algae wakame (*Undaria pinnatifida*) and Kombu (*Laminaria digitata japonica*) as a food supplements[J]. Food Technology and Biotechnology, 2004, 42(1):57-61.
- [4] 李钢琴, 陈亮, 张克青, 等. 紫菜的微量元素检测和食用安全性分类[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(9):1117-1118.
- [5] 杨贤庆, 李来好, 戚勃. 4 种海藻膳食纤维对不同离子的吸附作用[J]. 中国水产科学, 2007, 14(1):132-138.
- [6] Swami K, Judd C D, Orsini J, et al. Microwave assisted digestion of atmo-spheric aerosol samples followed by inductively coupled plasma mass spectrometry determination of trace elements[J]. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 2001, 369:63-70.
- [7] 韩超, 刘翠平, 詹秀明. 微波消解等离子体原子发射光谱法测定羊栖菜中的微量元素[J]. 分析科学学报, 2008, 24(1):91-93.
- [8] 陈伟珍, 陈永生, 赖惠琴. 微波消解 ICP-AES 法测定食品中重金属的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(6):98-100.
- [9] 胡进, 陆锡锋, 张成, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱测定海带中铅、镉、铬、铜和锌[J]. 食品科学, 2012, 33(20):286-288.
- [10] 郝林华, 翟毓秀, 李晓川. 采用微波消解及 ICP-AES 法测定水产品、饲料中的微量元素镉[J]. 海洋水产研究, 2000, 21(1):52-56.
- [11] Karima B, Natividad R M, Badredine S, et al. Characterization of trace metals in vegetables by graphite furnace atomic absorption spectrometry after closed vessel microwave digestion[J]. Food Chemistry, 2009, 116(2):590-594.
- [12] 杜理华, 江浩, 薛良义, 等. ICP-OES 法测定坛紫菜中重金属元素[J]. 浙江林学院学报, 2010, 27(5):790-793.
- [13] 马小宁, 熊伟. 湿法消化 ICP-MS 法与微波消解 ICP-MS 法测定圆白菜标准物质中铅、镉、砷的比较[J]. 现代科学仪器, 2012(5):126-128.
- [14] 徐维海, 江志刚, 朱校斌, 等. 对虾样品中 Pb、Cd 的微波消解与常规消解分析方法比较研究[J]. 海洋科学, 2005, 29(6):38-42.

Determination of Heavy Metals in Materials of *Porphyra haitanensis* by ICP-AES with Wet Digestion and Microwave Digestion

DING Zhong-zhong, LOU Yong-jiang*, ZHAO Yi-lin

(School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The process of microwave digestion of East China Sea *Porphyra haitanensis* is optimized using the experimental method of response surface. The digestion method of microwave digestion and wet digestion are used to measure the heavy metals by ICP-AES. According to the results, the three factors in the processing are optimally determined as: the temperature of digestion being 164 °C, the acid solvent to material ratio being 25:1, and the digestion time being 15 minutes. The shorter the digestion is, the simpler operation and the less of reagent dosage are. It is concluded that, compared to the method of wet digestion, the method of microwave digestion features in being time-saving in processing, convenient in operation, consumption-saving in dosage, and more effective in ICP-AES.

Key words: *Porphyra haitanensis*; heavy metals; microwave digestion; wet digestion; ICP-AES

(责任编辑 史小丽)