

实验技术与方法

固相萃取柱脱盐-石墨炉原子吸收法测定酱油中铅

毛红¹, 巩俐彤², 沙博郁¹, 孙开奇¹, 张妮娜¹

(1. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013;

2. 北京市大兴区疾病预防控制中心, 北京 102600)

摘要:目的 建立固相萃取柱脱盐-石墨炉原子吸收法测定酱油中铅的方法。方法 酱油经微波消解后, 消解液用乙酸铵调节至 pH≈5.5, 过经用 5 ml 1 mol/L 乙酸铵活化后的 DigiSEP-Blue 柱, 将被测元素铅吸附与基体中高盐分离, 再分别用 8 ml 2 mol/L 硝酸、2 ml 纯水洗脱, 应用石墨炉原子吸收法测定洗脱液中铅含量。结果 用固相萃取柱可将酱油中 98% 以上的钠盐与被测元素铅分离, 消除了石墨炉原子吸收分光光度计测定铅时的基体干扰。低、高两个铅浓度(10 和 30 ng/ml)的加标平均回收率($n=7$)分别为 91.3%~95.1%, 97.9%~98.6%, 相对标准偏差为 2.1%~7.0%, 检出限为 1.33 ng/g。结论 方法准确、灵敏度高, 适于高盐样品酱油中铅含量的测定。

关键词:固相萃取; 石墨炉原子吸收法; 铅; 酱油; 食品安全

中图分类号: O614.433 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2011)05-0422-03

Desalting with solid phase extraction cartridge and using GF-AAS for the determination of lead in soy sauce

Mao Hong, Gong Litong, Sha Boyu, Sun Kaiqi, Zhang Nina

(Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective To establish a solid phase extraction (SPE) with atom absorption spectrometry (AAS) for the determination of lead in soy sauce samples. **Methods** The samples were pretreated by microwave digestion. After the digested solution being adjusted to pH 5.5 by ammonium acetate, the solution was then passed through a DigiSEP-Blue cartridge pretreated by 5 ml of 1 mol/L ammonium acetate for the removal of large amount of salt. The eluate from the DigiSEP-Blue cartridge washed by 8ml of 2 mol/L nitric acid and 2 ml of water was directly used for the analysis of lead on AAS. **Results** More than 98% of salt in soy sauce samples could be separated with lead by DigiSEP-Blue cartridge. The recoveries ($n=7$) of lead in two different samples spiked with 10 and 30 ng/ml of lead were 91.3% - 95.1% and 97.9% - 98.6%, respectively. The relative standard deviations (RSD) were lower than 7.0%. The limit of detection was 1.33 ng/g. **Conclusion** The method was accurate and sensitive, suitable for the accurate determination of lead in soy sauce with high levels of salt.

Key words: Solid phase extraction; atomic absorption spectrometer; lead; soy sauce; food safety

铅是一种具有蓄积性、多亲和性的有毒重金属, 主要损害神经系统、造血系统、消化系统和肾脏, 还损害人体的免疫系统, 铅对婴幼儿及学龄前儿童智力发育危害极大^[1]。

由于酱油属于高盐食品, 通常酱油中食盐的含量为 15%~20%, 而铅含量较低, 测定时基体干扰较大, 采用常规的检验方法很难准确定量^[2]。

目前测定食品中铅常用的方法有石墨炉原子吸收光谱法、氢化物原子荧光光谱法、火焰原子吸收光谱法、二硫脲比色法^[3]。二硫脲比色法灵敏度差且操作繁琐; 火焰原子吸收光谱法灵敏度低, 无

法满足酱油中铅的测定; 氢化物原子荧光光谱法灵敏度较高, 但测定时条件控制要求严格, 操作也较繁琐; 石墨炉原子吸收光谱法灵敏度高, 但由于盐类基体的干扰, 导致背景值高, 严重影响测定结果的准确性^[4]。有文献报道采用加入硝酸铵、钡等基体改进剂, 可以提高灰化温度去除干扰^[5]。笔者曾采用此方法, 结果, 在灰化温度达 800~900℃时被测物铅已有明显的损失, 而此时的基体仍然干扰测定。

本文采用固相萃取柱, 将酱油中 98% 以上的钠盐与被测元素铅分离, 去除基体干扰后, 用石墨炉原子吸收法能够准确地测定铅的含量。

1 材料与方法

1.1 仪器

AA800 型原子吸收分光光度计, 带塞曼背景校

收稿日期: 2011-03-03

作者简介: 毛红 女 主任技师 研究方向为理化检验及光谱仪器分析技术 E-mail: maohong010@yahoo.com.cn

正器,铅空心阴极灯;微波消解仪;固相萃取仪;DigiSEP-Blue 固相柱(3 ml, 100 mg, SCP SCIENCE 公司);电热板。实验所用玻璃器皿使用前均用 20% 硝酸浸泡 24 h,用纯水清洗后晾干。

1.2 试剂

所用试剂均为优级纯,试验用水由超纯水器提供:超纯水处理系统(Milli plus 2150 型,出水电阻率 18.2 M Ω ·cm,美国密利博公司);硝酸;5% 磷酸二氢铵(Sigma 公司);1 mol/L 乙酸铵;铅标准溶液[ρ (Pb) = 100 μ g/ml],购于国家标准物质中心。

1.3 方法

1.3.1 标准系列的配制

吸取一定量的铅标准溶液,用 3% 硝酸稀释成 1.00 μ g/ml 铅的标准使用液;标准曲线的配制:分别吸取铅标准使用液(1.00 μ g/ml)0、0.50、1.00、3.00、5.00 ml 于 100 ml 容量瓶中,用 3% HNO₃ 定容至刻度,配制标准曲线的浓度为 0、5.00、10.00、30.00、50.00 ng/ml。

1.3.2 样品处理

样品消解 称取酱油样品 1 g 左右,于干净的微波消解罐内衬杯中,加入 5 ml 硝酸,将内衬杯晃动几次,使酸尽量浸湿样品后放置 2 h 以上进行冷消化。冷消化后依次将内衬杯放入消解罐的套桶中,盖上盖、放上压力弹片、置入支架上用专用工具拧紧螺丝后放入微波炉转盘,按照微波消解程序消解样品(见表 1),待消解完成温度显示低于 50 $^{\circ}$ C 时取下,用 20 ml 左右水洗入三角烧瓶中,置电热板上赶酸至近干,再用 30 ml 1 mol/L 乙酸铵溶液移入 50ml 容量瓶中,最后用水定容至刻度,此时溶液 pH \approx 5.5。同时作空白试验。

样品固相萃取 活化柱子:分别用 5 ml 2 mol/L 硝酸、10 ml 纯水、5 ml 1 mol/L 乙酸铵活化。萃取:将消解定容后的样品以 1~2 ml/min 的流速通过柱子,再分别用 8 ml 2 mol/L 硝酸、2 ml 纯水洗脱,洗脱液收于固相萃取仪配备的玻璃瓶中,用水定容至 10 ml,待测。

1.3.3 微波消解程序

微波消解程序见表 1。

表 1 微波消解程序

Table 1 Program for microwave digestion system

最大功率 (W)	输出功率 (%)	爬坡时间 (min)	最大压力 (psi)	温度 ($^{\circ}$ C)	保持时间 (min)
1200	100	5	500	120	6
1200	100	6	500	180	6
1200	100	2	500	190	10

1.3.4 石墨炉原子吸收分光光度计工作参数

波长 283.3 nm,狭缝 0.7 nm,灯电流 15 mA,测

量模式峰面积,测量方式标准曲线法,进样体积:标准溶液、样品消化液 15 μ l,基体改进剂(5% 磷酸二氢铵)10 μ l。升温程序见表 2。

表 2 石墨炉原子吸收分光光度计程序

Table 2 Program for GF-AAS

步骤	温度 ($^{\circ}$ C)	爬坡时间 (s)	保持时间 (s)	流量 (L/min)
干燥	85	10	15	3.0
	120	15	20	3.0
灰化	700	15	20	3.0
	700	2	2	0
原子化	1700	0	4	0
除残	2200	2	2	3.0

2 结果

2.1 线性范围、检出限和定量限

铅在 0~50 ng/ml 范围内线性关系良好,相关系数 $r > 0.999$;方法的检出限($3 \cdot SD$)为 1.33 ng/g,定量限($10 \cdot SD$)为 4.43 ng/g。

2.2 加标回收率和精密度

在上述最佳实验条件下,往两个不同样品中分别加入低、高 2 个浓度的铅标准溶液,每一浓度平行测定 7 个样品进行加标回收实验,以验证方法的准确性,测定结果见表 3。两种浓度水平的平均回收率分别在 91.3%~95.1% 和 97.9%~98.6% 之间,相对标准偏差(RSD)低于 7.0%。结果表明本方法的准确度及精密度均符合要求。

表 3 回收率和精密度实验

Table 3 Recovery and precision test ($n = 7$)

样品	样品本底 (ng/ml)	添加量 (ng/ml)	测定量 (ng/ml)	回收率 (%)	RSD (%)
1	11.02	10.0	20.15	91.3	2.1
	11.02	30.0	40.61	98.6	5.6
2	8.91	10.0	18.42	95.1	7.0
	8.91	30.0	38.28	97.9	3.1

2.3 干扰组分钠的分离能力

分别对两种酱油样品 1(生抽)和样品 2(老抽)平行取 3 份经固相萃取分离后的洗脱液与消化原液进行钠元素的测定,其样品生抽中干扰组分钠与被测物的分离能力为 99.0%~99.9%,样品老抽的分离能力为 98.1%~99.5%。测定结果见表 4。结果表明,酱油样品中 98% 以上的钠盐与被测元素铅得到分离。

表 4 酱油中钠的分离能力

Table 4 The capability of separating sodium from soy sauce ($n = 3, \%$)

样品	消化液测定值	洗脱液测定值	分离能力
1	5.67	0.0057~0.056	99.0~99.9
2	6.72	0.034~0.13	98.1~99.5

2.4 样品测定

利用上述所建立的分析方法,对北京市售7种不同品牌的酱油中铅含量进行测定,测定结果分别为65.60、9.88、4.13、49.19、70.08、9.98、25.82 ng/g。

3 讨论

3.1 样品消解方法的确定

实验使用硝酸为消解液,比较了微波消解和电热板消解两种方法,两种消解方法均可将酱油消化完全。由于微波消解速度快、不易污染,所以本方法采用微波消解样品。

3.2 固相萃取条件的优化

3.2.1 样品溶液 pH 值的选择

本实验使用的 DigiSEP-Blue 柱填充的吸附剂含有两个羧基(—COOH),它与铅的螯合效率依赖于其 pH 值。在 pH 大于 5.0 时铅离子被螯合,而钠盐等则没有保留,达到待测元素铅与基体干扰物盐的分离^[4]。

样品经微波消解后,所加入的硝酸量基本没有损失,强酸条件下无法过柱分离。因此,消解液需加入 20 ml 左右水在电热板上赶酸,再用乙酸铵调节 pH 值。本实验采用的 pH 值为 5.5。由于酱油中盐的含量过高,赶酸时需注意不能完全烧干以防止盐的溅出导致被测样品的损失。

3.2.2 样品溶液体积的选择

用于过柱的样品溶液体积不宜过少,否则样品中待测元素铅随样液的流出损失较大,回收率低、重现性差。当样品溶液体积为 10 ml 时,铅 10、30 ng/ml 加标回收率分别为 51.1% ~ 100.6%、56.0% ~ 89.7%。本实验采用样品溶液体积为 50 ml 时获得较好的回收率及精密度。

3.2.3 柱子的活化、样品的添加以及分析物的洗脱

为了获得高的回收率和良好的重现性,固相萃取柱在使用之前必须用 5 ml 2 mol/L 硝酸、10 ml 纯水进行预处理,预处理除去填料中可能存在的杂质,另一个目的是使填料溶剂化。再用 5 ml 1 mol/L 乙酸铵活化柱子。柱子活化后,样品溶液以 1 ~ 2 ml/min 的流速通过柱子,在该步骤分析物铅被保留在吸附剂上。最后用 8 ml 2 mol/L 硝酸、2 ml 纯水将分析物铅洗脱,收集在固相萃取仪配备的玻璃瓶中备用。

3.3 固相萃取柱的柱容量选择

固相萃取柱的填料是 NH_4^+ 型的亚氨基二乙酰胺螯合树脂,柱的填料分为 100 mg/3 ml 和 250 mg/6 ml

两种规格。该树脂在酸中或在干燥条件下其体积会缩小,有比较严重的沟流现象存在,此现象会导致样品溶液过早穿透^[4]。在使用前需注意柱子填料是否有松散现象,如有需将其压紧。本次实验对两种规格的柱子进行比较,250 mg 规格的柱子在一定程度上可以克服过早穿透的不足,从而有利于在吸附和分离过程中获得较好的回收率和精密度。

3.4 固相萃取柱重复使用实验

对固相萃取柱进行了 3 次重复使用,柱子使用前用硝酸和水冲洗,以防止前一次实验中固相萃取柱上的残留物污染。实验结果表明,固相萃取柱 3 次重复使用没有明显的差别,测定结果均得到了较好的回收率。实验结果见表 5。

表 5 固相萃取柱重复使用后的回收率
Table 5 Recovery of re-use for solid phase extraction cartridge ($n = 3$)

标准加入量 (ng/ml)	1 次使用回收率 (%)	2 次使用回收率 (%)	3 次使用回收率 (%)
10	89.4 ~ 94.3	87.2 ~ 107.0	87.1 ~ 104.7
30	95.2 ~ 101.1	90.4 ~ 106.6	89.0 ~ 106.3

4 结论

利用 DigiSEP-Blue 固相萃取柱可对酱油中的铅与干扰成分盐进行分离,能有效去除基体中 98% 以上的钠盐,解决了石墨炉原子吸收法测定铅时使用基体改进剂和仪器背景校正器均无法扣除的背景干扰问题,有效消除了基体干扰,使石墨炉原子吸收法能准确测定酱油样品中铅的含量。

参考文献

- [1] 彭紫玉,杜二清,徐淑暖,等.电感耦合等离子体质谱法直接测定酱油中铅[J].中国卫生检验杂志,2008,11(18):2275-2276.
- [2] 殷忠,黄培林,李雪春.用硝酸铋共沉淀分离富集的火焰原子吸收法测定酱油中微量铅的方法研究[J].现代预防医学,2007,34(1):117-119.
- [3] 卫生部.GB 5009.12—2010 食品中铅的测定[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [4] 邓勃.应用原子吸收与原子荧光光谱分析[M].北京:化学工业出版社,2003:231-236.
- [5] 杨文英,王宝旺,籍术良,等.石墨炉原子吸收法直接测定酱油中的铅[J].中国卫生检验杂志,2007,17(6):1027-1028,1061.
- [6] Dionex. Technical note: an73-determination of trace transition metals in reagent grade acids, bases, and salts using ion chromatography/inductively coupled argon plasma spectroscopy (ic/icap)[S]. 2000.