

微波消解—电感耦合等离子体质谱法检测 虾中镉含量的工艺优化

Determination of Cd in Shrimps by microwave digestion and inductively
coupled plasma mass spectrometry

李倩云 周国燕 曹 蕾

LI Qian-yun ZHOU Guo-yan CAO Lei

(上海理工大学, 上海 200093)

(University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

摘要:通过研究过氧化氢量、硝酸量、微波消解时间对虾中镉提取量的影响,优化虾中镉的提取条件。结果表明:在过氧化氢 1.5 mL、硝酸 6 mL、微波消解时间 17 min 的条件下,虾中镉的提取量可达到 0.043 mg/kg。方法检出限为 0.01 $\mu\text{g/kg}$, RSD($n=6$) 小于 5%。利用优化后条件对国家标准物质 GBW10050 (大虾)进行检测验证,结果与标准值基本一致。该方法能够简单、快速、灵敏和准确地检测虾中的重金属镉元素。

关键词:微波消解;电感耦合等离子体质谱法(ICP—MS); 虾;镉

Abstract: The orthogonal array design methods were applied to analyze the influence of H_2O_2 volume/ HNO_3 volume/microwave digestion time three factors and their interaction on the extraction of Cd, select an optimized progress to extract Cd from shrimps. The experimental results showed that when H_2O_2 volume was 1.0 mL, HNO_3 volume is 5.0 mL, microwave digestion time was 13 minutes and 46 seconds, under these conditions, the contents of Cd reached 0.497 mg/kg. Determination of GBW10050 (big shrimps) showed that contents of Cd have the same results with standards values. Method limits of detection were obtained within the range of 0.01 $\mu\text{g/kg}$, the precision for this method was better than 5%. It allowed simple, rapid, sensitive and accurate determination of Cd in shrimps.

Keywords: microwave digestion; inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP—MS); Cadmium; shrimps

虾营养价值丰富,是餐桌常见的海鲜之一。但是水生动物对重金属等微量元素具有较强的富集作用,而虾贝类对重

金属的富集能力明显高于鱼类。人在食用虾贝后,若其富集重金属则会转移并蓄积于人体的不同组织器官中,引起慢性损伤^[1-2]。目前中国很多地区鱼、贝类重金属镉、砷等含量超标^[3-4]。镉对人体产生的危害十分巨大,体内积聚过量的镉会损坏肾小管功能,造成体内蛋白质从尿中流失,易形成软骨症和自发性骨折^[5];镉可使温血动物和人的染色体发生畸变^[6];镉还能损害动物及人体的血液系统、神经系统和肾脏等,其中以对骨髓造血系统和神经系统的损害最为严重^[7]。因此需要对虾中镉含量进行有效地食品安全风险评估,优化虾中镉的提取条件,实现快速、准确测定虾中的镉含量。

水产品中重金属的检测方法最常用的为光谱法,其中原子吸收法是应用最为广泛的一种检测方法,该法灵敏度高、选择性好、适用范围广,但操作繁琐,不利于多元素的同时测定^[8]。ICP—MS 具有检测限低、动态范围宽、干扰少、分析精度高、分析速度快、可同时测定多种元素等优势^[9]。样品的前处理方法是虾中重金属含量准确测量的一个重要环节,它直接影响测定结果的准确性、平行性^[10]。前处理方法包括常压干法灰化法和湿法灰化法等,但容易造成元素损失,且步骤繁琐,需要时间较长^[11]。近年来,微波消解因其消解时间短^[12]、样品污染小^[13]、操作简便等特点^[14],与电感耦合等离子体质谱仪配套,广泛应用于食品中重金属等元素的检测^[15]。消解体系有 HNO_3 — HCl 体系^[16]、 HNO_3 — HF 体系^[17]、 HNO_3 — H_2O_2 体系等,其中国内外最常用是 HNO_3 — H_2O_2 体系^[18-21],该体系试剂用量少,不但可以减少环境污染,还能克服 ICP—MS 测定的干扰^[22]。目前关于微波消解—ICP—MS 法测定虾中镉含量条件优化的研究未见诸于报道,因此本研究拟采用正交试验设计对微波消解—电感耦合等离子体质谱法测定虾中镉含量的条件进行优化,确定最佳工艺参数,旨在为下一步风险评估工作提供理论依据,同

作者简介:李倩云,女,上海理工大学硕士研究生。
通讯作者:周国燕(1970—),女,上海理工大学副教授,博士。
E-mail:efly_sonw@163.com
收稿日期:2015-11-30

时为快速、准确分析虾中镉含量提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

南美白对虾:节肢动物门甲壳纲十足目对虾属,上海东方国际水产中心;

大虾标准物质:GBW10050,国家标准物质中心;

Cd 标准储备液(1 000 mg/L):国家标准物质中心;

超纯水(18.2 MΩ·cm,由Molecular 纯水仪制备);摩勒科学仪器有限公司;

HNO₃、H₂O₂:优级纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

四级杆电感耦合等离子体质谱仪:X series"型(配备同心雾化器和旋流雾室),美国 Thermo Fisher 公司;

微波消解仪:MARS-6 型,美国 CEM 公司。

1.3 方法

1.3.1 ICP—MS 检测条件 采用 CCT(碰撞反应池)模式,射频功率为 1 200 W,采样深度 150 mm,样品气流 0.86 L/min,辅助气流速 0.8 L/min,冷却气流速 13 L/min。

1.3.2 微波消解流程 将样品虾去头、去壳,剔除虾线,取可食部分匀浆,用分析天平准确称取 0.25 g 于消解罐中,加入 5 mL 硝酸,0.5 mL 过氧化氢,加热进行预消解,然后采用一步升温法用微波消解仪进行消解,升温时间为 20 min,保持 15 min,最大功率 1 000 W;消解完毕后冷却至室温,用超纯水定容至 25 mL,同时做样品空白对照。所有容器使用前均以 30% HNO₃ 浸泡过夜后以超纯水反复冲洗。

1.3.3 标准曲线的绘制 用 5% 的硝酸制备质量浓度分别为 0.0,1.0,5.0,10.0,20.0 μg/L 的镉系列标准溶液进行测定,结果在 0~20 μg/L 范围内工作曲线线性良好,回归方程为 $y=1\,184.56x+1.89$,相关系数 r 为 0.999 9,标准曲线见图 1。

1.3.4 单因素试验设计

(1) H₂O₂ 体积对虾中镉提取量的影响:称取 0.25 g 虾样品放于消解罐中,加入 5 mL HNO₃,微波消解温度为 180 ℃,微波消解时间为 15 min,H₂O₂ 体积分别为 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL,研究超声温度对虾中镉提取量的影响。

(2) HNO₃ 体积对虾中镉提取量的影响:称取 0.25 g 虾样品放于消解罐中,加入 0.5 mL H₂O₂,微波消解温度为 180 ℃,

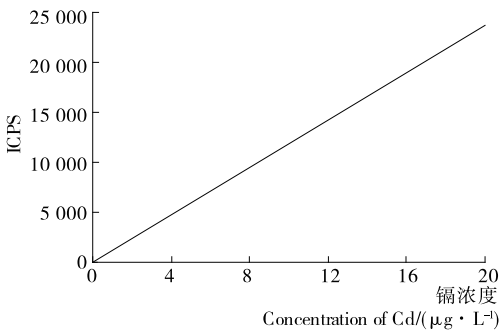


图1 不同浓度镉的标准曲线

Figure 1 Standard curves of different concentration of Cd

64

微波消解时间为 15 min,HNO₃ 体积分别为 4,5,6,7,8 mL,研究 HNO₃ 体积对虾中镉提取量的影响。

(3) 微波消解温度对虾中镉提取量的影响:称取 0.25 g 虾样品放于消解罐中,加入 0.5 mL H₂O₂,5 mL HNO₃,微波消解时间为 15 min,微波消解温度分别为 160,170,180,190,200 ℃,研究微波消解温度对虾中镉提取量的影响。

(4) 微波消解时间对虾中镉提取量的影响:称取 0.25 g 虾样品放于消解罐中,加入 0.5 mL H₂O₂,5 mL HNO₃,微波消解温度为 180 ℃,微波消解时间分别为 11,13,15,17,19 min,研究微波消解时间对虾中镉提取量的影响。

1.3.5 正交试验设计 在单因素试验结果的基础上,选用 L₉(3⁴) 进行正交试验设计,每个试验重复 3 次。

1.4 数据分析

利用 Spss 17.0 版软件进行单因素和正交试验方差分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 H₂O₂ 体积对虾中镉提取量的影响 由图 2 可知,H₂O₂ 体积对虾中镉的提取量有极显著影响 ($P<0.05$),H₂O₂ 体积在 0.5~1.5 mL 时,虾中镉的提取量随着 H₂O₂ 体积的增大而升高,因为 H₂O₂ 是一种弱酸性氧化剂,在较低温度下即可分解呈高能态活性氧,降解有机物,与浓硝酸共用,可以大大提高混合液的氧化能力,完全破坏有机物^[23];当逐渐增加 H₂O₂ 量时,镉提取量呈下降趋势,因为过量酸可能会影响镉的析出,较多量 H₂O₂ 在微波消解仪高温高压条件下会与有机物产生剧烈反应产生大量气体,容易导致炸罐,因此选择 H₂O₂ 量为 1.5 mL 左右最为合适。

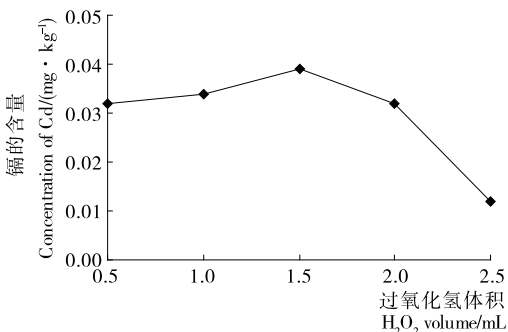


图2 过氧化氢体积对虾中镉提取量的影响

Figure 2 Effects of H₂O₂ volume on concentration of Cd in shrimp

2.1.2 HNO₃ 体积对虾中镉提取量的影响 由图 3 可知:HNO₃ 体积对虾中镉的提取量有极显著影响 ($P<0.05$),HNO₃ 量在 4~6 mL 时,虾中镉的提取量随着 HNO₃ 量的增大而升高,因为 HNO₃ 是一种强氧化剂,且所有金属的硝酸盐均为易溶盐,有利于有机物的消解;当 HNO₃ 量大于 6 mL 时,镉的提取量降低,这是由于消解完毕后酸剩余过多,可能影响或干扰镉含量的测定,因此选择 HNO₃ 量为 6 mL 左右最为合适。

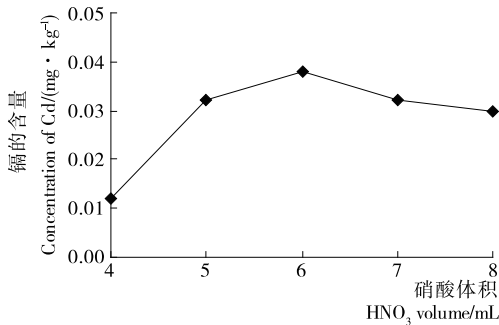


图 3 硝酸体积对虾中镉提取量的影响

Figure 3 Effects of HNO₃ volume on concentration of Cd in shrimp

2.1.3 微波消解温度对虾中镉提取量的影响 由图 4 可知,微波消解温度对虾中镉的提取量无显著影响($P>0.05$),微波消解温度在 160~180 ℃时,镉提取量随着微波消解温度的增加而升高,由于生物样品中不含难消解的物质,在 180 ℃时已基本消化完全;微波消解温度大于 180 ℃时,提取量下降,因为当微波消解温度过高时,可能会阻碍镉的溶出,同时产生泻压导致内罐损坏,使内罐杯口变形。因此选择微波消解温度为 180 ℃左右最合适。

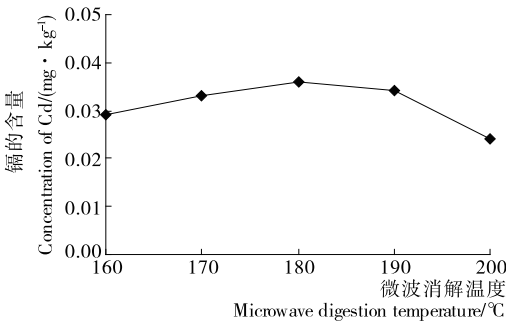


图 4 微波消解温度对虾中镉提取量的影响

Figure 4 Effects of microwave digestion temperature on concentration of Cd in shrimp

2.1.4 微波消解时间对虾中镉提取量的影响 由图 5 可知,微波消解时间对虾中镉的提取量有极显著影响($P<0.05$),微波消解时间在 11~15 min 时,随着微波消解时间增大,样品消化越来越完全,镉提取量越来越大,当微波消解时间达到

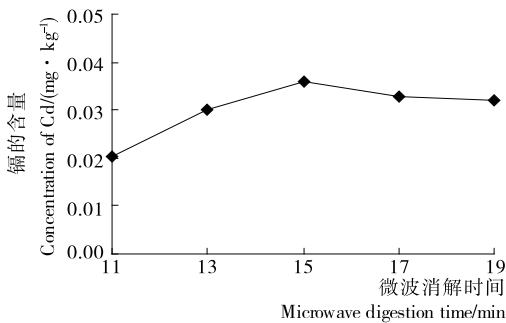


图 5 微波消解时间对虾中镉提取量的影响

Figure 5 Effects of microwave digestion time on concentration of Cd in shrimp

15 min 时镉含量最大;微波消解时间大于 15 min 时,镉提取量下降,因为时间过长会使罐内压力过大,造成安全装置自动放气、减压,导致微量元素随放气而损失。因此选择微波消解时间为 15 min 左右最为合适。

2.2 正交试验结果与分析

2.2.1 正交试验 根据单因素试验结果,选择对镉提取量有显著性影响的 H₂O₂ 体积、HNO₃ 体积、微波消解时间 3 个因素,采用 L₉(3⁴) 正交设计,因素水平见表 1。

2.2.2 正交试验结果及分析 由表 2 可知,3 个因素对镉提取量的影响顺序为 A>C>B,即 H₂O₂ 体积>微波消解时间>HNO₃ 体积,其中 H₂O₂ 体积对镉提取量的影响最强。所得的最佳测定条件为 A₂B₂C₃,与试验最佳测定条件(序号 5)吻合,即 H₂O₂ 体积 1.5 mL、HNO₃ 体积 6 mL、微波消解时间 17 min,镉含量为 0.043 mg/kg。由表 3 可知,在 0.05 显著

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Single factor selection table

水平	A H ₂ O ₂ 体积/mL	B HNO ₃ 体积/mL	C 微波消解 时间/min
1	1.0	5	13
2	1.5	6	15
3	2.0	7	17

表 2 正交试验结果

Table 2 The results of orthogonal test and range

序号	A	B	C	D(空列)	镉含量/(mg · kg ⁻¹)		
					1	2	3
1	1	1	1	1	0.019	0.010	0.025
2	1	2	2	2	0.033	0.045	0.024
3	1	3	3	3	0.012	0.010	0.011
4	2	1	2	3	0.020	0.018	0.023
5	2	2	3	1	0.042	0.044	0.043
6	2	3	1	2	0.035	0.023	0.029
7	3	1	3	2	0.038	0.034	0.036
8	3	2	1	3	0.019	0.011	0.015
9	3	3	2	1	0.030	0.028	0.029
k ₁	0.021	0.026	0.021	0.030			
k ₂	0.032	0.031	0.029	0.033			
k ₃	0.027	0.023	0.030	0.016			
R	0.011	0.008	0.009	0.017			

表 3 正交试验方差分析

Table 3 Analysis of variance of the orthogonal experiments

因素	偏差平方和	自由度	F 比	P 值
A	0.000 433 9	2	8.37	0.003
B	0.000 289 9	2	5.59	0.013
C	0.000 427 9	2	8.25	0.003
D	0.001 587 2	2		
误差	0.000 466 7	8		

性水平上 H₂O₂ 体积、HNO₃ 体积、微波消解时间对镉提取量的差异显著。

2.3 方法性能评价

2.3.1 精密度、检出限 针对同种虾样品平行测定 6 次, 获得测定结果精密度 RSD 为 1.72%。以 11 次流程空白值标准偏差的 3 倍定义为检出限, 获得本试验方法检出限为 0.01 μg/kg。

2.3.2 加标回收率 取虾样品作为本底, 平均测量值为 0.043 mg/kg, 加标量分别为 0.025、0.050、1.000 mg/kg, 测得回收率为 92%~99%。

2.3.3 标准物质验证 大虾标准物质中镉元素的标准值为 (0.039±0.002) mg/kg, 测量值为 (0.038±0.001) mg/kg, 在误差范围之内。

3 结论

为建立微波消解—电感耦合等离子体质谱法测定虾中镉含量的方法, 在单因素试验基础上, 通过正交试验优化得微波消解的最佳工艺为 H₂O₂ 1.5 mL、HNO₃ 6.0 mL、微波消解时间 17 min, 所获得的虾中镉的提取量最高, 达到 0.043 mg/kg, 高于文献[21]报道的含量。优化后方法检出限在 0.01 μg/kg。精密度 RSD 为 1.72%, 回收率为 92%~99%。测定大虾标准参考物质的结果与标准值基本一致。该法具有操作简便快速、污染损失少、灵敏度高、准确度高等优点, 可为相关检测提供参考, 为食品安全风险评估提供理论依据。本试验没有考虑各因素之间交互作用对提取量的影响, 今后的研究会结合各因素之间的交互作用, 设计响应面试验, 对提取条件进行进一步优化。

参考文献

[1] Agah H, Leermakers M, Elskens M, et al. Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2009, 157(1/4): 499-514.

[2] Turkmen M, Turkmen A, Tepe Y, et al. Determination of metals in fish species from Aegean and Mediterranean seas[J]. Food Chemistry, 2009, 113(1): 233-237.

[3] 毕士川, 于慧娟, 蔡友琼, 等. 重金属 Cd 在不同水产品中的含量及污染状况评价[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(4): 181-185.

[4] 唐以杰, 钟诚, 陈明旺, 等. 海陵岛沿岸经济贝类体内重金属含量及食用安全分析[J]. 中国现代医药科技, 2004, 4(3): 8-10.

[5] 刘伟成, 李明文. 镉毒性毒理学研究进展[J]. 广东微量元素科学, 2005, 12(2): 1-5.

[6] 王伟, 刘国庆. 水产品中重金属镉污染安全评估[J]. 现代农业科技, 2011, 11(5): 326-327.

[7] 刘彬, 杨丙雨, 冯玉怀, 等. ICP—MS 法在测定痕量贵金属中的应用[J]. 贵金属, 2009, 30(4): 63-72.

[8] 问思恩, 王益昌. 微波消解石墨炉原子吸收光谱法测定水产品中镉[J]. 光谱实验室, 2009, 1(2): 96-99.

[9] 程仕群, 朱文亮, 占文慧, 等. 电感耦合等离子体质谱法测定酱油中硼含量[J]. 食品与机械, 2013, 29(5): 99-100, 248.

[10] 李淳, 李双石, 章宇宇. 不同品种葡萄皮渣中常量元素和微量元素的测定[J]. 食品与机械, 2013, 29(6): 59-62.

[11] Sudeepta B, Krishna P, Jahir H, et al. Heavy metals concentration in edible fishes from coastal region of Kalpakkam, southeastern part of India[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2012, 184(8): 5 097-5 104.

[12] Jasmina D, Thorjorn L, Armin S, et al. Contents of cadmium, copper, mercury and lead in fish from the Neretva river (Bosnia and Herzegovina) determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP—MS)[J]. Food Chemistry, 2011, 131(2): 469-476.

[13] 叶嘉荣, 任露陆, 郭新东, 等. 微波消解—电感耦合等离子体质谱法测定水果中 19 种元素[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 76-79.

[14] 张静芬, 邹小兵, 季金苟, 等. 两种不同方法提取鲜橙皮中挥发油的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(5): 45-47.

[15] 黄薇, 符式锦, 王旭日, 等. 微波消解—ICP—MS 测定土壤及植物中硒的含量[J]. 广州化工, 2014, 42(23): 146-148.

[16] Morgana F, Daiane P C Q, Ivan N B C, et al. A novel extraction-based procedure for the determination of trace elements in estuarine sediment samples by ICP—MS[J]. Microchemical Journal, 2014, 117: 1-6.

[17] 张丹, 邹向宇, 徐健, 等. 微波消解—ICP—MS 法测定头发和指甲中 10 种元素的方法研究[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2008, 28(10): 1 347-1 349.

[18] 叶嘉荣, 任露陆, 郭新东, 等. 微波消解—电感耦合等离子体质谱法测定水果中 19 种元素[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 76-79.

[19] 陈福北, 何飞龙, 黄巧燕. 微波消解 ICP—AES/ICP—MS 法同时测定卷柏中的 24 种无机元素[J]. 食品与机械, 2012, 28(5): 102-103, 146.

[20] 汪慧, 江涛, 唐勇, 等. 稀酸浸提水产品中重金属铜、镉和镉[J]. 食品科学, 2014, 35(12): 88-92.

[21] 梁淑轩, 王欣, 吴虹, 等. 微波消解/ICP—MS 测定水系沉积物中的 9 种重金属元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(3): 809-812.

[22] 张霖琳, 魏复盛, 吴国平, 等. 微波消解 ICP—MS 法测定某肺癌高发区居民饮食中 28 种元素[J]. 质谱学报, 2011, 5(1): 301-306.

[23] 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.