

悬浮液进样 - 火焰原子吸收光谱法 测定海产品中铜、铁、锌

林建原, 徐亚平, 徐金炜, 沈炜熠

(浙江万里学院生物与环境科学系, 浙江 宁波 315100)

摘要: 将海产品样品烘干、粉碎、过筛并悬浮在 1.0 g/L 琼脂溶液中制成悬浮液, 以火焰原子吸收光谱法成功地测定了虾、花蛤、牡蛎中铜、铁、锌。对仪器工作条件、悬浮剂稳定性、检出限及加标回收率进行了考察, 测定结果的相对标准偏差小于 2.7%, 测定结果与灰化法一致, 相对误差小于 $\pm 1.5\%$, 其回收率为 96.5%~102.3%。此方法简便、快速、准确。

关键词: 悬浮液进样技术; 火焰原子吸收光谱法; 海产品; 铁; 锌; 铜

Determination of Copper, Iron and Zinc in Seafood by Flame Atomic Absorption Spectrometry
Using Suspension Sample Introduction Technique

LIN Jian-yuan, XU Ya-ping, XU Jin-wei, SHEN Wei-yi

(Department of Biomedical and Environmental Science, Zhejiang Wanli College, Ningbo 315100, China)

Abstract: The sample of seafood was bakeout, crushed, sifted and then suspended in 1.0 g/L agar solution, and so made into suspension. Copper, iron and zinc in shrimps, clam and oyster were successfully determined by flame atomic absorption spectrometry. The working condition of apparatus, the stability of suspension, the detection limit and the recovery rate were studied. The relative standard deviations were less than 2.7%. The determination results were consistent with those obtained by ashing method. The relative errors between them were less than $\pm 1.5\%$. The recovery rate lay between 96.5%~102.3%. In FAAS method, the displacement of ashing method by suspension technique for the sample pretreatment of seafood is possible. This method was convenient, speediness and accurate.

Key words suspension sample introduction technique; flame atomic absorption spectrometry; seafood; copper; zinc; iron

中图分类号: TS207.3

文献标识码 A

文章编号: 1002-6630(2008)03-0396-04

我国海域辽阔, 海产品丰富, 鱼虾类、贝壳类富含蛋白质和人体必需的微量元素。铁、锌、铜是维持人体生命的必需元素, 其中铁是人体活细胞的一种组分, 也是多种酶的活性部位, 缺铁将导致贫血; 锌能影响幼儿发育生长, 对癌症、精神病及遗传病的发生及防治有重要意义, 缺锌会引起味觉减退、生长停滞; 铜在体内以铜蓝蛋白的形式存在, 缺铜将导致贫血、心脏肥大、生长停滞等一系列病症, 并可能影响铁の利用^[1]。准确测定这些微量元素的含量, 在食品卫生检验中具有十分重要的意义^[2-3]。

近年来, 固体样品直接进样和悬浮液直接进样技术得到了迅速发展, 特别是悬浮液进样技术逐渐成为能对样品进行快速分析的检测分析方法^[4-5], 其有效克服

了常规原子吸收光谱法须进行繁琐的样品前处理的缺点, 在很短的时间内就可以完成称样、悬浮液及试液配制等样品处理全过程, 且灵敏度高, 准确性好, 能够快速、准确地对生物样品及环境样品中微量元素进行检测, 成为一种对微量元素进行快速分析的简便、可靠的方法, 在生物样品检测和环境监测领域获得了越来越广泛的应用。目前从国内外的研究情况看, 该方法主要应用于血、调味品、大豆、蔬菜、茶叶、奶粉、面粉、中草药等生物样品以及土壤等环境样品中的微量元素的测定, 在矿样、原油样品测定方面的应用也有报导, 但在海产品的微量元素测定中应用较少。本实验选择了浙江宁波市场较有代表性的海产品虾、花蛤、牡蛎进行分析, 将样品烘干后粉碎过筛, 以寻找合适

收稿日期: 2007-03-28

作者简介: 林建原(1965-), 女, 副教授, 主要从事仪器分析研究。E-mail: Linjianyuan@yahoo.com.cn

的悬浮剂来制备相应的悬浮液,同时针对海产品中不同元素的测定,选用合适的释放剂来有效地消除化学干扰,为悬浮液进样技术在海产品中的应用研究提供理论依据,从而扩大悬浮液进样-火焰原子吸收光谱法在海产品中的应用范围。

1 材料与方法

1.1 试剂

1g/L Fe^{3+} 标准溶液:称取0.8640g 硫酸铁铵 $[\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ 溶于水,加2.5ml 硫酸,移入1L 容量瓶中,稀释至刻度,摇匀。使用时稀释成 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 标准工作溶液。

1g/L Zn^{2+} 标准溶液:称取1.2447g 氧化锌(预先在 900°C 灼烧至恒重)于烧杯中,加入20ml 硫酸使其溶解完全后移入1L 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀。使用时稀释成 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 标准工作溶液。

1g/L Cu^{2+} 标准溶液:称取3.9281g 硫酸铜 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶于少量水中,滴入几滴硫酸(1+1),移入1L 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀。使用时稀释至 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 标准工作溶液。

0.1% 琼脂溶液:取2g 琼脂于2L 烧杯中,加水约2L,浸泡过夜,加热至沸,维持微沸直至溶液透明,冷却,量取体积,补加水至2L,再加热至沸,冷却后即可用。

实验所用试剂均为分析纯;实验用水均为去离子水。

1.2 仪器

3510原子吸收光度计 安捷伦科技上海分析仪器有限公司;WM-2H型无油气体压缩机 天津市医疗器械二厂;Cu 空心阴极灯 上海电光器件有限公司;Zn、Fe 空心阴极灯 衡水市宁强光源厂;烘箱;研钵。

1.3 仪器条件

各元素分析线为 $\text{Fe} 248.3\text{nm}$; $\text{Zn} 213.9\text{nm}$; $\text{Cu} 324.7\text{nm}$ 。固定单色器通带为 0.2nm 。燃烧器高度为 8.5mm 。经正交试验设计方法优化选择其他仪器工作条件,寻求最佳的操作条件,并以氘灯校正背景吸收。

1.4 方法

1.4.1 样品悬浮液的配制

将海产品样品去壳用自来水洗净,于 $80\sim 90^\circ\text{C}$ 下烘干,粉碎,过120目筛。准确称取 0.5000g 过筛后的样品于25ml 比色管中,先加少量琼脂溶液及邻苯二甲酸二丁酯45滴,振动,使样品浮起,再用琼脂溶液定容,振动2min,得均匀相样品悬浮液,此样品悬浮液可稳定4h。

1.4.2 标准曲线的绘制

取5个25ml 容量瓶,依次加入稀释后的各元素标准

溶液 $1.00\sim 5.00\text{ml}$,加入琼脂溶液5ml,定容,振动2min,同时做空白。在仪器最佳工作条件下测定系列标准溶液的吸光度,以吸光度对元素浓度作标准工作曲线,在选定工作范围内,各元素线性关系良好。

表1 线性回归方程和相关系数

Table 1 Linear regression equation and correlation coefficient

| 元素 | 标准溶液浓度C($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 回归方程 | 相关系数r |
|----|------------------------------------|--------------------|--------|
| 铁 | 0.20 0.40 0.60 0.80 1.00 | $Y=0.0695C+0.0001$ | 0.9996 |
| 铜 | 0.20 0.40 0.60 0.80 1.00 | $Y=0.0675C-0.0015$ | 0.9992 |
| 锌 | 0.20 0.40 0.60 0.80 1.00 | $Y=0.4855C+0.0155$ | 0.9993 |

1.4.3 样品分析

取上述配制样品悬浮液 5.00ml 于25ml 容量瓶中,加琼脂溶液 5.00ml ,加水定容,振动2min,同时做空白溶液。将配置的溶液倒入干烧杯中,放入电磁子,置电磁搅拌器上,以空白溶液为参比,在不断搅拌下喷入火焰,在仪器最佳条件下记录积分5s的吸光度。用计算机对测得的吸光度与浓度进行线性回归,求出各元素的含量。

2 结果与分析

2.1 仪器最佳条件的选择

2.1.1 因素水平试验设计

试验对吸光度影响最大的灯电流、乙炔流量、空气流量三因素进行优化试验,选择 $L_9(3^4)$ 正交表,绘制因素水平表(表2)。

表2 因素水平表 $L_9(3^4)$

Table 2 Table of factors and levels $L_9(3^4)$

| 水平 | 灯电流(mA) | 乙炔流量(L/min) | 空气流量(L/min) |
|----|---------|-------------|-------------|
| 1 | 2.0 | 1.3 | 6.0 |
| 2 | 4.0 | 1.5 | 7.0 |
| 3 | 6.0 | 1.7 | 8.0 |

2.1.2 试验数据分析

试验结果直观分析数据见表3,其中 k_1 、 k_2 、 k_3 分别为第一水平、第二水平、第三水平下的试验效果之和,K为平均效果,R为极差值。

从表3中的极差值可以看出,影响铁吸光度的主要因素顺序为空气流量、灯电流、燃气流量,影响锌和铜的主要因素顺序为灯电流、空气流量、燃气流量。三种元素中,灯电流和空气流量的极差值均很大,故灯电流和空气流量的影响最为重要。由实验结果得出灯电流和空气流量的影响最为重要,所以虽然两组较优组合的燃气流量不一致,但并不影响实验操作的最佳条件和实验结果的可靠性。

综上所述,选用正交试验结果的最优组合,各元素的最优操作条件为:铜的灯电流 4.0mA ,燃气流量

表3 正交试验结果 $L_9(3^4)$
Table 3 Results of orthogonal test $L_9(3^4)$

| 试验号 | A | B | C | 吸光度 | | |
|-----|--------|--------|--------|-------|-------|-------|
| | | | | Fe | Zn | Cu |
| 1 | 1(2.0) | 1(1.3) | 1(6.0) | 0.280 | 0.286 | 0.146 |
| 2 | 1(2.0) | 2(1.5) | 2(7.0) | 0.276 | 0.302 | 0.148 |
| 3 | 1(2.0) | 3(1.7) | 3(8.0) | 0.208 | 0.219 | 0.130 |
| 4 | 2(4.0) | 1(1.3) | 2(7.0) | 0.207 | 0.187 | 0.211 |
| 5 | 2(4.0) | 2(1.5) | 3(8.0) | 0.179 | 0.180 | 0.182 |
| 6 | 2(4.0) | 3(1.7) | 1(6.0) | 0.281 | 0.228 | 0.228 |
| 7 | 3(6.0) | 1(1.3) | 3(8.0) | 0.143 | 0.146 | 0.149 |
| 8 | 3(6.0) | 2(1.5) | 1(6.0) | 0.255 | 0.177 | 0.215 |
| 9 | 3(6.0) | 3(1.7) | 2(7.0) | 0.226 | 0.160 | 0.204 |

注: Fe 5 μ g/ml; Zn 5 μ g/ml; Cu 5 μ g/ml。

表4 试验结果分析
Table 4 Analysis of test results

| 因素 | Fe | | | Zn | | | Cu | | |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| k ₁ | 0.755 | 0.630 | 0.816 | 0.807 | 0.619 | 0.691 | 0.424 | 0.506 | 0.589 |
| k ₂ | 0.667 | 0.701 | 0.700 | 0.595 | 0.659 | 0.649 | 0.621 | 0.545 | 0.563 |
| k ₃ | 0.624 | 0.715 | 0.530 | 0.483 | 0.607 | 0.545 | 0.568 | 0.562 | 0.461 |
| K ₁ | 0.252 | 0.210 | 0.272 | 0.269 | 0.206 | 0.230 | 0.141 | 0.169 | 0.196 |
| K ₂ | 0.222 | 0.234 | 0.233 | 0.198 | 0.220 | 0.216 | 0.207 | 0.182 | 0.188 |
| K ₃ | 0.208 | 0.238 | 0.177 | 0.161 | 0.202 | 0.182 | 0.189 | 0.187 | 0.154 |
| R | 0.044 | 0.028 | 0.095 | 0.108 | 0.018 | 0.048 | 0.066 | 0.018 | 0.042 |
| 优水平 | A ₁ | B ₃ | C ₁ | A ₁ | B ₂ | C ₁ | A ₂ | B ₃ | C ₁ |

注: A 代表灯电流; B 代表乙炔流量; C 代表空气流量。

1. 7L/min, 空气流量 6.0L/min; 铁的灯电流 2.0mA, 燃气流量 1.7L/min, 空气流量 6.0L/min; 锌的灯电流 2.0mA, 燃气流量 1.5L/min, 空气流量 6.0L/min。

2.2 悬浮剂稳定性考查

对以 0P、十二烷基苯磺酸钠、阿拉伯树胶、聚乙二醇-400、吐温-280 为悬浮剂进行了试验。取 5 份 0.1g 过筛后样品于 5 只 25ml 定容试管中, 分别加入不同悬浮剂, 用水稀释至刻度, 振动 5min, 静置, 目视悬浮液稳定情况, 以管底刚出现沉积样品粉末或上层液面刚出现水层, 来选择合适的悬浮剂, 结果见表 5。

2.3 邻苯二甲酸二丁酯用量和琼脂用量的考察

称取 0.5g 过筛后样品 5 份于 25ml 比色管中, 分别加入邻苯二甲酸二丁酯 0、15、30、45、60 滴, 以 1.0g/L 琼脂定容, 振动 5min, 静置, 计时, 目测悬浮液的稳定时间。同样, 固定邻苯二甲酸二丁酯用量为 45 滴, 1.0g/L 琼脂用量分别为 5、10、12、15ml, 以水定容, 及直接用 1.0g/L 琼脂溶液定容, 目测其对应稳定时间, 观察液面是否有可见的清液层形成、管底是否有沉积粉状出现、悬浮液本体是否均匀, 以选择悬浮剂的合适用量。结果见表 5、6。

从实验结果可知, 选择 0.1% 琼脂作为样品的悬浮剂, 琼脂加热溶解于水后形成胶体, 具有动力学稳定性, 其对固体微粒颗粒样品的悬浮能力琼脂浓度的增大

表5 悬浮剂的选择

Table 5 Choice of suspension concentrate

| 悬浮剂 | 0.1% 琼脂 | 10% 0P | 5% 十二烷基苯磺酸钠 | 5% 阿拉伯树脂 |
|-----------|---------|--------|-------------|----------|
| 悬浮剂用量(ml) | 25 | 10 | 10 | 10 |
| 不稳定现象 | 上部有水层 | 管底有沉积 | 管底有沉积 | 管底有沉积 |

表6 邻苯二甲酸二丁酯用量的选择

Table 6 Choice of di-n-butyl phthalate amount

| 邻苯二甲酸二丁酯用量(滴) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 |
|---------------|----|-----|-----|-----|-----|
| 虾稳定时间(min) | 90 | 100 | 110 | 123 | 115 |
| 花蛤稳定时间(min) | 92 | 100 | 112 | 125 | 120 |
| 牡蛎稳定时间(min) | 95 | 105 | 116 | 130 | 123 |

表7 琼脂用量的选择

Table 7 Choice of agar amount

| 琼脂用量(ml) | 5 | 10 | 15 | 定容 |
|-------------|----|----|----|-----|
| 虾稳定时间(min) | 11 | 37 | 70 | 125 |
| 花蛤稳定时间(min) | 13 | 37 | 64 | 125 |
| 牡蛎稳定时间(min) | 15 | 40 | 75 | 125 |

而增强。从表 6 可见加入邻苯二甲酸二丁酯可以提高琼脂对样品的悬浮能力, 选择在悬浮液中加入 45 滴邻苯二甲酸二丁酯为宜。

2.4 介质影响

介质影响溶液的黏度、表面张力从而改变吸样速率, 介质还会影响火焰燃烧性质从而改变原子化效率, 实验选择的试液介质为琼脂溶液。取一定量的待测元素分别置于两个 25ml 容量瓶中, 其中一份加入琼脂溶液, 使琼脂的浓度与样品液中琼脂浓度一致, 另一份不加, 测定其吸光度。结果表明, 介质对被测元素有影响, 所以在配制标准溶液时, 要加入与配制样品溶液时同样的琼脂溶液, 以保持介质浓度的一致性。

2.5 检测限

检测方法中最低检出浓度的准确性, 直接影响着检测结果的可靠性和报告结果的合理性。根据样品分析时所取悬浮液的量, 按实验方法配制 20 个空白溶液, 喷入火焰, 按自动调零键, 在各元素各自的测定条件, 记录积分 5s 的吸光度, 求出其标准偏差 R, 由标准曲线的斜率 S, 求得检测限 $C=3R/S$ 。测定结果见表 8。

2.6 方法精确度检验

对样品用灰化法做比较, 实验按文献[7]进行。称取样品 0.5g 六份于瓷坩埚中, 置电炉上炭化, 再转入马孚炉灼烧至灰分。用水 5ml 及 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ (5:2) 混合酸溶解灰分, 转入 25ml 容量瓶中, 以水定容, 干过滤, 吸取适量滤液在仪器的最佳条件下进行各元素的测定, 分别计算各种样品中待测元素的含量和相对标准偏差及两方法的相对误差, 检验悬浮液进样法的精密度。测定结果由表 11 可知, 其相对标准偏差 $\text{RSD} \leq 2.3\%$ 。两种方法的相对误差 $\delta/u < \pm 1.5\%$ 。对测定结果进行 t 检验, 用下列公式计算 t 值。

表8 检测限测定结果

Table 8 Determination results of examination limits

| 元素 | 平均吸光度 | 标准偏差R | S(ml/μg) | C(μg/25ml) | C(μg/ml) |
|------------------|-------|------------------------|----------|------------|------------------------|
| Fe ³⁺ | 0.009 | 4.3 × 10 ⁻³ | 0.0695 | 0.185 | 7.4 × 10 ⁻³ |
| Zn ²⁺ | 0.016 | 2.7 × 10 ⁻² | 0.4855 | 0.167 | 6.7 × 10 ⁻³ |
| Cu ²⁺ | 0.013 | 3.2 × 10 ⁻³ | 0.0675 | 0.142 | 5.7 × 10 ⁻³ |

$$t = \frac{(\bar{X}_A - \bar{X}_B)}{\sqrt{\frac{(n_A + n_B)(n_A S_A^2 + n_B S_B^2)}{n_A n_B (n_A + n_B - 2)}}$$

式中, A、B 表示两种方法; n 为测定次数; x、S 分别为测定结果的平均值及标准偏差。

表9 两种方法 t 检验结果

Table 9 t-test results of two methods

| 元素 | t(虾) | t(花蛤) | t(牡蛎) |
|------------------|------|-------|-------|
| Fe ³⁺ | 0.65 | 0.91 | 1.28 |
| Zn ²⁺ | 0.39 | 0.56 | 0.27 |
| Cu ²⁺ | 0.85 | 1.05 | 1.01 |

表10 回收率实验

Table 10 Recovery of Experiment

| 样品 | 元素 | 样品本底值 (μg/ml) | 加标量 (μg/ml) | 加标测得值 (μg/ml) | 回收率 (%) |
|----|------------------|------------------|----------------|------------------|------------|
| 虾 | Fe ³⁺ | 0.238 | 0.200 | 0.434 | 98.0 |
| | Zn ²⁺ | 0.725 | 0.700 | 0.420 | 99.3 |
| | Cu ²⁺ | 0.28 | 0.300 | 0.585 | 101.3 |
| 花蛤 | Fe ³⁺ | 0.354 | 0.300 | 0.654 | 100 |
| | Zn ²⁺ | 0.197 | 0.200 | 0.390 | 99.0 |
| | Cu ²⁺ | 0.352 | 0.300 | 0.649 | 96.5 |
| 牡蛎 | Fe ³⁺ | 0.317 | 0.300 | 0.613 | 98.7 |
| | Zn ²⁺ | 0.292 | 0.300 | 0.599 | 102.3 |
| | Cu ²⁺ | 0.455 | 0.400 | 0.848 | 98.3 |

所计算的 t 值见表 9, 自由度为 9、10 及 95% 置信度时对应的 t_{9, 95%}=2.26 及 t_{10, 95%}=2.23, 均大于计算的 t

表11 样品测定结果比较(μg/g)

Table 11 Comparison of determination results of samples(μg/g)

| 样品 | 虾 | | | 花蛤 | | | 牡蛎 | | |
|-----|------|-------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | 铁 | 锌 | 铜 | 铁 | 锌 | 铜 | 铁 | 锌 | 铜 |
| 本法 | 90.0 | 147.9 | 72.5 | 58.5 | 85.2 | 50.1 | 79.1 | 83.7 | 113.0 |
| 灰化法 | 90.8 | 146.7 | 73.6 | 59.0 | 86.0 | 49.8 | 80.0 | 84.6 | 113.8 |

值, 说明两种方法之间无显著性差异, 可以用悬浮液进样法取代灰化法进行海产品中微量元素的测定。

2.7 样品回收率

回收率实验结果见表 10。

2.8 测定结果

样品的测定结果见表 11。

3 结论

本实验采用悬浮液进样-火焰原子吸收光谱法测定海产品中微量元素的结果与灰化法结果一致, 方法简便、快速、准确。

参考文献:

- 刘福纯, 赵永魁, 陈连山, 等. 大连湾、星海湾海域贻贝、海带、裙带菜体内25种元素含量的分析探讨[J]. 海洋环境科学, 1995, 14(4): 34-37.
- 李英, 王成云. 悬浮液直接进样原子吸收光谱法及其应用进展[J]. 常德师范学院学报: 自然科学版, 2001, 13(1): 61-63.
- 侯曼玲. 食品分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- 刘立行, 闫峰, 吴丽香. 悬浮液进样-火焰原子吸收光谱法测定中草药中的微量铜[J]. 分析试验室, 1999, 18(3): 65-67.
- 刘汉东, 刘国珍, 刘延湘. 悬浮液进样原子吸收光谱分析中样品的粒径效应[J]. 分析试验室, 2002, 21(3): 1-3.
- 张文利, 袁思平. 正交试验设计法在火焰原子吸收操作条件选择中的应用[J]. 甘肃环境研究与监测, 2003, 16(3): 220-221.
- 刘立行, 李萍. 悬浮液进样-火焰原子吸收光谱法测定大豆粉中的镁[J]. 分析试验室, 1998, 17(5): 87-89.