全自动石墨消解-电感耦合等离子体质谱测定鱼、虾等生物样品中铜、镉、锌、铬4种重金属元素

郑红艳*, 郭雪勤, 朱志勋, 翟婉盈

(长江流域水环境监测中心, 武汉 430010)

摘要: **目的** 建立一种简便、快速的鱼、虾等生物样品中重金属元素的分析方法。**方法** 以 10.0 $\mu\text{g/L}$ 的 Rh 作为内标, 采用硝酸-过氧化氢-高氯酸体系, 用全自动石墨消解仪消解鱼、虾等生物样品, 建立石墨消解-电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)同时测定样品中铜、镉、锌、铬 4 种金属元素的方法。**结果** 各元素的检出限在 0.001~0.200 $\mu\text{g/L}$ 之间, 相对标准偏差在 0~2.30%之间, 加标回收率为在 91.4%~113.4%之间。对大虾标准品(GSB-28)进行分析的测定值与标准值吻合良好。**结论** 本研究所建立的方法简单、快速, 灵敏度高, 重现性好, 是同时分析大批生物样品中多种金属元素的可靠、高效方法。**关键词:**全自动石墨消解; 电感耦合等离子体质谱; 鱼; 虾; 重金属

Determination of Cu, Cd, Cr and Zn in fish and shrimp by automated graphite digestion combined with inductively coupled plasma mass spectrometry

ZHENG Hong-Yan*, GUO Xue-Qin, ZHU Zhi-Xun, ZHAI Wan-Ying

(Water Environment Monitoring Center of Yangtze River Basin, Wuhan 430010, China)

ABSTRACT: Objective To develop an easy, fast, and accurate method for the simultaneous determination of Cu, Cd, Cr and Zn in biological samples like fish and shrimp. **Methods** Using 10.0 $\mu\text{g/L}$ Rh as internal standard element, nitric acid, hydrogen dioxide and perchloric acid as digestion acids, fish, shrimp and other biological samples were digested by automatic graphite digestion instrument, and the method for the simultaneous determination of 4 metal elements of copper, cadmium, zinc and chromium by graphite digestion combined with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was established. **Results** The detection limits for each element were in range of 0.001~0.200 $\mu\text{g/L}$, the relative standard deviations (RSDs) ranged from 0 to 2.3%, and the recoveries were 91.4%~113.4%. The determined values of prawn (GSB-28) were in good agreement with the certified values. **Conclusion** The developed method is simple, rapid, sensitive and has good reproducibility, which is a reliable and efficient method for simultaneous determination of Cu, Cd, Cr and Zn in large quantities of biological samples.

KEY WORDS: automated graphite digestion; inductively coupled plasma mass spectrometry; fish; prawn; heavy metals

*通讯作者: 郑红艳, 工程师, 主要研究方向为水环境监测。E-mail: zhenghy8@126.com

*Corresponding author: ZHENG Hong-Yan, Engineer, Water Environment Monitoring Center of Yangtze River Basin, Wuhan 430010, China. E-mail: zhenghy8@126.com

1 引言

鱼、贝、虾肉类富含蛋白质与矿物质,是人类的优质营养食品,随着生活水平的提高,人们都青睐于绿色食品、无公害食品,广大消费者对鱼、贝、虾的消费量每年都在大幅度增长^[1,2]。但研究表明,鱼、贝、虾类对金属具有富集作用,尤其是某些重金属,如铜、镉、铬、锌等可通过水、土壤环境污染,被水生生物富集。目前,我国已对水产品质量提出了“有毒有害物质限量”的无公害要求^[3],因此,建立和发展简单、快速、经济、实用的鱼、贝、虾等食品中重金属元素的分析方法对于食品安全和维护人体健康具有重要意义。

目前,用于鱼肉等生物样品消解的方法主要有微波消解和电热板消解,微波消解技术是近年来应用最广泛的一项样品前处理技术,虽然其消解效率高,但赶酸时间长,酸蒸气对实验人员的身体会造成一定程度的危害。全自动石墨消解法基于湿法消解的原理并采用石墨加热体,加热速度均一,重现性好,将复杂的实验步骤程序化,能够实现加酸、混匀、高低温消解、赶酸和定容等消解过程的全自动化。乔晴等^[4]建立了全自动石墨消解-等离子发射光谱(inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, ICP-AES)法同时测定葡萄酒中铅、铜、铁、锰的方法,该方法简单、准确、快速。

电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS),具有灵敏度高、检出限低、线性范围宽、干扰少,可多元素同时测定的特点,能适应复杂基体体系的痕量和超痕量元素分析,已在食品、土壤、药品、陶瓷、尿样及生物和环境样品中得到了广泛的应用^[5]。但全自动石墨消解鱼肉中的痕量重金属元素的 ICP-MS 分析未见报道。本研究的目的是建立用全自动石墨消解-ICP-MS 分析鱼肉等生物样品中铜、锌、铬和镉的方法。

2 材料与方法

2.1 试剂与标准溶液

浓硝酸(MERK 优级纯)、双氧水(GR)和高氯酸(GR)购于国药集团化学试剂有限公司;铜、镉、铬、锌4种重金属元素标准溶液(100 mg/L),大虾生物成分分析标准物质编号 GBW10050 (GSB-28),标准物质购买于国家标准物质中心;高纯 Ar(武汉钢铁集团气体厂,纯度 99.999%);实验用水为超纯水(18.2MΩ·cm)。

2.2 仪器

仪器: X Series-II 电感耦合等离子质谱仪(美国热电仪器有限公司); ST-60 全自动石墨消解仪(北京普立泰科仪器有限公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 科技有限公司); AL104 型电子分析天平(北京 Lab Tech 科技有限公司)。

2.3 样品分析

2.3.1 样品采集

样品采集时间为 2016 年 1 月,采集地点为长江中下游湖北、江西段,样品采集后立即装入冷藏箱保鲜,及时送回实验室,先做种类、性别鉴定后,再用不锈钢刀解剖,去除内脏、鱼鳞等,并将其肌肉捣碎均匀后,放入冰箱保存,待测^[6]。实验所用鱼类为江鲢、紫薄鳅、蛇鮈、草鱼、乌鳢、武昌鱼、翘嘴鲌和大鳍鱮等十几种鱼类。鱼类的具体名称、数量和采样地点等基本信息如表 1 所示。

表 1 鱼类样品信息一览表
Table 1 The information of fish samples

采样地点	样品名称	样品数量 (条)	采样地点	样品名称	样品数量 (条)
彭泽	草鱼	2	彭泽	翘嘴鲌	5
彭泽	乌鳢	3	彭泽	大鳍鱮	1
小墨山	蛇鮈	2	彭泽	螃蟹	3
彭泽	武昌鱼	2	小墨山	虾	2
彭泽	江鲢	4	彭泽	鳊鱼	2
小墨山	紫薄鳅	1	彭泽	翘嘴鲌	5

2.3.2 样品预处理

称取 0.5 g 湿样(标准物质 0.2 g, 80 °C 烘 4 h)于干净透明的聚四氟乙烯消解管中,将消解管搁在消解架上,放置在全自动消解仪上。将电脑和消解仪连接起来,调出已存储的消解方法,程序如下:

加入 5 mL 硝酸,振荡 20 s,将温度升至 150 °C 消解 30 min,冷却 5 min,加入 2 mL 双氧水,振荡 20 s,150 °C 消解 20 min,再加入 2 mL 浓硝酸,1 mL 高氯酸,振荡 20 s,温度升至 180 °C,消解 25 min,冷却 5 min,定容至 10 mL。摇匀备用,同时用超纯水按同样的步骤作试剂空白。

3 结果与讨论

3.1 电感耦合等离子发射质谱测定条件优化

在使用 ICP-MS 进行测定之前,需用 10 ng/mL 的调谐液(Tune A)对仪器工作参数进行优化,如炬管的位置、采样深度、载气流量、检测器电压及偏转电压等。具体的优化方法如下:仪器点火正常运行后,将样品管放入 10 ng/mL 的调谐液中,查看仪器对 10 ng/mL 调谐液产生的信号强度是否符合以下标准: ⁹Li 70000, ⁵⁹Co 200000, ¹¹⁵In 400000, ²³⁸U 800000,氧化物和双电荷均小于 3%。如果符合,就可以进行当天的实验,如果不符合,对各参数进行微调。调节各工作参数的顺序为炬管位置、采样深度、偏转电压、透镜系统、载气等,以采样深度调节为例,说明参数调谐的方法。采样深度的调节值在 0~600 mm 之间,在

仪器初始设定值下,对采样深度分别向数字增大和减小的方向进行调节,使仪器的信号强度变大。其他仪器参数的调节参照采样深度的调谐。仪器调谐完成后,用 20 ng/mL 的 Tune F 进行脉冲和模拟信号的交叉校正。CCT 模式的调节参照普通模式的调节方法,10 ng/mL 调谐液产生的信号强度需要满足以下条件: ^{59}Co 200000, ^{80}Se 200。优化好的 ICP-MS 工作条件如表 2 所示。

表 2 ICP-MS 仪器工作条件
Table 2 Operation conditions of ICP-MS

参数	普通模式	CCT 模式
功率(W)	1400	1400
冷却气流量(L/min)	14.0	14.0
辅助气流量(L/min)	0.80	0.80
雾化气流量(L/min)	0.89	0.92
采样深度(mm)	75.0	90
检测器电压(V)	模拟: 1550; 脉冲: 3030	模拟: 1550; 脉冲: 3030
蠕动泵泵速(r/min)	30.0	30.0
测定同位素	^{65}Cu , ^{114}Cd , ^{66}Zn	^{52}Cr
内标元素	^{103}Rh	^{103}Rh
CCT 气体	无	8% (V:V) 氩-氦混合气
CCT 气体流量(mL/min)	0	7.15

3.2 内标元素的选择

在分析中,加入内标元素可以对基体、仪器漂移进行补偿,并根据待测样品和标准溶液中内标元素计数的差异计算出校正系数,对待测样品的各元素浓度进行校正。本研究选择 Y、Rh、In 3 个元素作为内标元素。由于 Y 和 In 为稀土元素,在鱼肉中有一定含量,其背景值对目标元素的定量有干扰;Rh 为贵金属,在鱼肉样品中的背景值可以忽略,故本研究选择 Rh 作为内标元素。在测定过程中,空白、标准溶液和样品均在线加入 10 $\mu\text{g/L}$ 的 Rh 内标溶液,有效克服了基体效应以及仪器波动等带来的影响。

3.3 线性关系和方法检出限

采用 1% 的硝酸介质将铜、铬、镉和锌混合标准储备液稀释成 0、0.2、0.5、1.0、5.0、20.0、50.0、200.0、500、1000 ppb 的混合标准系列,用 1% 的硝酸为空白,在仪器最佳操作条件下,对空白和标准溶液系列进行测定,仪器自动绘制标准曲线。

采用 1% 的硝酸为空白液连续测定 11 次,其结果的 3 倍标准偏差所对应的分析物浓度或绝对量($3\sigma/S$)即为检出限。各元素的线性方程、线性相关系数及方法检出限如表

3 所示。

表 3 方法的线性方程、相关系数和检出限
Table 3 Linear equations, correlation coefficients and detection limits of the method

元素	标准曲线拟合方程	相关系数(r)	方法检出限($\mu\text{g/L}$)
Cu	$Y=0.0163X+0.0601$	0.9994	0.020
Cd	$Y=0.0562X-0.0175$	1.0000	0.001
Cr	$Y=0.0433X-0.0344$	1.0000	0.005
Zn	$Y=0.0157X+0.0664$	0.9996	0.200

3.4 消解方法的选择

当前,生物样品的前处理以微波消解居多^[7-11],微波消解有一定的优势,但微波消解不能加高氯酸,鱼油没法去除,并且消解完后,赶酸时间较长(3~4 h),且赶酸时需要人员监视,产生的酸性气体危害实验人员的健康。本研究在文献调研的基础上,采用全自动石墨消解仪来处理鱼肉样品和大虾标准品,整个消解过程中的加酸、赶酸、加热、定容等均为自动化,将分析人员从复杂、重复、污染的工作环境中解放出来。

3.5 消解条件的选择

消解条件选择主要从试剂种类、试剂用量和消解时间、温度考虑,均参考湿法消解条件^[12-15]及步骤。本消解方法中所用硝酸总量低于 7 mL 时,极个别样品,由于脂肪含量较高,消解不完全,消解液呈浑浊状,在 150 $^{\circ}\text{C}$ 时再加入 2 mL 硝酸,所有样品的消解液变成淡黄或无色的溶液。加入高氯酸并且温度上升到 180 $^{\circ}\text{C}$ 时,鱼肉中的脂肪才会碳化,没有鱼油,测定结果更准确。

3.6 样品分析

3.6.1 方法的精密度和准确度

为了验证方法的可靠性,对大虾标准品(GSB-28)进行分析(每个标准品称 3 份),并进行加标回收实验,实验结果如表 4 和表 5 所示。实验结果表明,4 种目标元素的测定值与标准物质推荐值吻合良好,RSD(relative standard deviation, 相对标准偏差) $<5\%$,加标回收率在 91.4%~113.4% 之间,说明本方法精密度和准确度较好,能够用于实际鱼肉等生物样品的分析。

3.6.2 鱼、虾等生物样品的分析

以 10.0 $\mu\text{g/L}$ 的 Rh 作为内标液,在优化的 ICP-MS 条件下,按照 2.3.2 对草鱼、乌鳢、武昌鱼等鱼肉进行消解处理后,取其上层清液上机测定。样品重复测定 3 次,仪器根据标准曲线自动给出各元素的含量,结果如表 6 所示。可以看出,各类鱼肉中人体所需的微量活性元素铜和锌的含量分别为 0.16~0.98 mg/kg 和 2.27~6.72 mg/kg,甲壳类(蚌

蟹和虾)样品中的铜含量在 8.83~26.5 mg/kg 之间, 锌的含量在 8.72~66.7 mg/kg 之间, 铜具有造血、软化血管、促进细胞生长、壮骨骼、加速新陈代谢、增强防御机能的作用。锌能促进生长发育, 能增强机体免疫力和性功能, 还能增强创作组织再生能力, 使受伤和手术部位愈合加快。这些营养元素是人体内不可缺少的, 它们不像某些维生素在体内能自行合成, 它们主要来自外来食物的摄入。而作为食品中的污染物, 镉、铬在以上 11 种鱼类样本中的含量为 $Cr \leq 2.0$ mg/kg, 大部分鱼类中 $Cd \leq 0.1$ mg/kg, 含量都在食品中污染物限量范围内, 只有螃蟹 Cd 超标, 这可能是由于重金属在生物体内的富集量跟鱼本身的生存环境、生理功能和代谢水平有关。

4 结 论

本研究建立了全自动石墨消解对生物样品进行前处理、ICP-MS 法测定鱼、虾肉中的铜、镉等痕量重金属元素的分析方法。结果表明, 7 mL HNO_3 +2 mL H_2O_2 +1 mL $HClO_4$ 的消解体系可以快速、有效地完成鱼、虾肉样品的消解; 全自动石墨消解突破了原有的无机消解理念, 实现了加酸、加热、赶酸、定容等过程的自动化, 重现性好, 维护了操作人员的健康; ICP-MS 灵敏度高、检出限低, 能够对鱼、虾肉样品中的痕量和超痕量元素进行准确分析。本研究所建立的方法简单、快速, 灵敏度高、准确性好, 为分析大批量生物样品中的重金属元素提供了一种快捷、实用、高效的方法。

表 4 大虾标准品(GSB-28)的分析结果(mg/kg)
Table 4 Analytical results of certified reference material of prawn (GSB-28) (mg/kg)

元素	测定值	测定均值	标准值	RSD(%)
	10.7			
Cu	10.8	10.8	10.3±0.7	0.54
	10.8			
	74.8			
Zn	75.2	75.2	76.0±4.0	0.47
	75.5			
	0.038			
Cd	0.038	0.038	0.039±0.002	0
	0.038			
	0.25			
Cr	0.25	0.25	0.35±0.11	2.30
	0.24			

表 5 大虾样品的加标回收实验(n=3)
Table 5 Spiking analytical results of certified reference material of prawn (GSB-28) (n=3)

元素	原样品测定值 (mg/kg)	加标量 (μg)	加标样品测定值 (mg/kg)	回收率 (%)
Cu	214.88	200.0	397.71	91.4
Zn	1519.50	2500.0	4046.30	101.1
Cd	0.87	0.5	1.47	113.4
Cr	4.82	10.0	15.26	104.3

表 6 鱼、虾样品中铜、锌、镉、铬含量的测定结果(mg/kg) (n=3)
Table 6 Determination results of Cu, Zn, Cd and Cr in fish and shrimp samples (mg/kg) (n=3)

样品名称	Cu 含量 均值	Cd 含量 均值	Cr 含量 均值	Zn 含量 均值
草鱼	0.30	0.011	<0.2	2.61
乌鳢	0.16	0.005	<0.2	3.29
蛇鮈	0.97	0.008	<0.2	6.73
武昌鱼	0.22	0.020	<0.2	3.01
江鲶	0.26	0.059	<0.2	3.76
紫薄鳅	0.54	0.022	<0.2	2.69
翘嘴鲌	0.25	0.020	<0.2	3.47
大鳍鱮	0.24	0.005	<0.2	3.07
螃蟹	26.50	1.300	<0.2	66.70
虾	8.83	0.010	<0.2	8.72
鳊鱼	0.18	0.018	<0.2	3.48

参考文献

- 马挺军, 林炳荣. 再生水养殖鱼体内重金属残留及食用风险分析[J]. 中国农学通报, 2010, 26(5): 332-336.
Ma TJ, Lin BR. Reclaimed water farming fish heavy metal residues and edible risk assessment [J]. Chin Agric Sci Bull, 2010, 26(5): 332-336.
- 孙维萍, 刘小涯. 浙江沿海经济鱼类体内重金属的残留水平[J]. 浙江大学学报, 2012, 39(3): 338-334.
Sun WP, Liu XY. Level of heavy metals in commercial fish species from the near-shore of Zhenjiang province [J]. J Zhejiang Univ, 2012, 39(3): 338-334.
- GB 2762-2012 食品安全国家标准食品中污染物限量[S].
GB 2762-2012 National standard for food safety Limits of contaminants in foods [S].
- 乔晴, 李辰. 全自动石墨消解-ICP-AES 法同时测定葡萄酒中铅、铜、铁、锰的研究[J]. 酿酒科技, 2016, (8): 119-120.
Qiao Q, Li C. Simultaneous determination of Pb, Cu, Fe and Mn in grape wine by automatic graphite digestion-ICP-AES [J]. Liquor-making Sci Technol, 2016, (8): 119-120.

- [5] SN/T 2208-2008 水产品中钠、镁、铝、钙、铬、铁、镍、铜、锌、砷、锑、钼、镉、铅、汞、硒的测定微波消解电感耦合等离子体质谱法[S]. SN/T 2208-2008 Determination of Na, Mg, Al, Ca, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Sr, Mo, Cd, Pb, Hg and Se in aquatic products by microwave digestion ICP-MS [S].
- [6] DB 45/T573-2009 动物性食品中重金属元素含量的测定 ICP-MS 等离子体质谱法[S]. DB 45/T573-2009 Determination of heavy metal elements in animal food ICP-MS [S].
- [7] 李敏, 梁春穗. 微波消解-ICP-MS 测定鱼肉中的铊[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(4): 336-338.
Li M, Liang CS. Determination of thallium in fish by microwave-digestion-ICP-MS[J]. Chin J Food Hyg, 2012 24(4): 336-338.
- [8] 周晓平, 陈伟珍. 微波消解 ICP-AES 法测定海洋鱼类中痕量金属元素的含量[J]. 微量元素与健康研究, 2010, 27(2): 31-32.
Zhou XP, Chen WZ. Determination of trace elements in the fish by ICP-AES [J]. Study Trace Element Health, 2010, 27(2): 31-32.
- [9] 华丽, 吴懿平. 微波辅助电感耦合等离子体光谱法进行 RoHS 限定的重金属检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(11): 2665-2670.
Hua L, Wu YP. Determination of heavy metals for RoHS compliance by ICP-OES spectrometry coupled with microwave extration system [J]. Spectrosc Spect Anal, 2008, 28(11): 2665-2670.
- [10] 任兰, 叶瑾. 微波消解-石墨炉原子吸收光谱法测定鱼肉和河蚌中的重金属[J]. 化学分析计量, 2016, 25(3): 65-66.
Ren L, Ye J. Determination of heavy metals in fish and mussels by microwave digestion-graphite furnace absorption spectrometry [J]. Chem Anal Meter, 2016, 25(3): 65-66.
- [11] 陈剑杰. 消解罐消解-火焰原子吸收法测定鱼肉中的铊[J]. 畜牧与饲料科学, 2012, 3(10): 6.
Chen JJ. Determination of Zn by digestion tank digestion and flame atomic absorption spectrometry [J]. Anim Husb Feed Sci, 2012, 33(10): 6.
- [12] 刘丹赤, 邵长明. 鱼体内重金属含量测定及分布状况的研究[J]. 中国测试技术, 2007, 33(4): 121-122.
Liu DC, Shao CM. The determination and distribution of heavy metals in fish [J]. China Measure Test Technol, 2007, 33(4): 121-122.
- [13] 梁立娜, 李中阳, 等. ICP-MS 技术测定生物样品中重金属的前处理方法研究[J]. 环境化学, 2003, 22(1): 99-100.
Liang LN, Li ZY. The research of pretreatment methods of determination of heavy metals in biological samples with ICP-MS [J]. Environ Chem, 2003, 22(1): 99-100.
- [14] 陈振比. 原子吸收测定鱼肉中的铜、铅、镉-干灰化法和湿消解法前处理样品比较[J]. 广东化工, 2009, 36(4): 180-181.
Chen ZB. Determination of Cu, Pb and Cd in fish meat by atomic absorption-comparison between sample preparation methods of dry ashing and digestion [J]. Guangdong Chem, 2009, 36(4): 180-181.
- [15] 毛志瑛. 石墨炉原子吸收光谱法测定水生动物中的铬[J]. 中国无机分析化学, 2011, 1(2): 47-49.
Mao ZY. Determination of Cr in animals by graphite furnace atomic absorption spectrometry [J]. Chin J Inorga Anal Chem, 2011, 1(2): 47-49.

(责任编辑: 刘 丹)

作者简介

郑红艳, 工程师, 主要研究方向为环境监测。

E-mail:zhenghy8@126.com