超声波提取-原子吸收光谱法测定谷物中镉、铜、铅和锌的含量

顾佳丽，赵 刚，马占玲
(渤海大学化学化工与食品安全学院，辽宁 锦州 121013)

摘 要：优化超声波辅助提取-原子吸收光谱法测定大米等谷物中Cd、Cu、Pb和Zn含量的方法。结果表明：0.1g谷物(粒径＜50μm)中加入5mL HNO_3-H_2O_2溶液(2:1，*V*/*V*)，先预超声10min，再放入60℃超声水浴中超声提取10min后，Cd、Cu、Pb和Zn均可以被定量回收，加标回收率在96.0%～107.5%之间。*t*检验结果表明超声提取法与常规湿式消解法分析结果差异不显著。方法的相对标准偏差(RSD)为4.9%～7.0%，检出限为0.007～0.019mg/L。

关键词：超声提取法；金属元素；谷物

Determination of Cadmium, Copper, Lead and Zinc in Grains by Ultrasound-Assisted Extraction Followed by Atomic Absorption Spectrometry

GU Jia-li，ZHAO Gang，MA Zhan-ling
(College of Chemistry, Chemical Engineering and Food Safety, Bohai University, Jinzhou 121013, China)

Abstract：Determining of cadmium, copper, lead and zinc in grain using ultrasound-assisted extraction- atomic absorption spectrometry was optimized. The results indicated that 0.1 g of grain samples were treated with 5 mL of HNO_3-H_2O_2 (2:1, *V*/*V*) followed by 10-min presonication and then transferred to ultrasound water bath (60 ℃) for 10 min. Cd, Cu, Pb, and Zn can be quantitatively recovered and the spiked recoveries ranged within 96.0%–107.5%. The results of *t*-test indicated that difference in the results from ultrasound-assisted extraction and conventional wet acid digestion was not significant. The relative standard deviations (RSD) were 4.9%–7.0%, the limits of detection were 0.007–0.019 mg/L.

Key words：ultrasound-assisted extraction；metallic elements；grain
中图分类号：O611.5 文献标志码：A 文章编号：1002-6630(2013)08-0168-04

谷物，即人们俗称的粮食，是人类生存最基本的生活必需品，因此粮食污染等粮食安全问题越来越受到广泛的重视。近年来工业和生活污水的排放，农药和化肥的大量使用，致使农田土壤和水环境受到铅、镉、砷、铜[1]等重金属的污染，这些有毒元素易被农作物吸收和积蓄，通过食物链转移至人体，长期摄入即使很低浓度也会危害人类健康；铜和锌等元素虽然是人体进行正常生理活动的必需元素，但若浓度超过一定值，也会对人体造成危害。

重金属的测定方法如原子吸收光谱法(atomic absorption spectroscopy，AAS)、电感耦合等离子体原子发射光谱法(inductively coupled plasma-atomic emission spectrometer，ICP-AES)、电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma-mass spectrometer，ICP-MS)等通常要求将固体样品消解，常采用的消解方法有微波消解法、湿法消化、干法灰化等，但这些方法要求浓酸、高温、高压以消解固体样品中的元素，且此消解过程一般需要6～14h[2]，因此有必要建立一种更为简便快速的样品预处理方法。超声波辅助提取技术利用超声波辐射压强产生的强烈空化、机械搅动、乳化、扩散、击碎等多级效应，增大物质分子运动频率和速度，增强溶剂穿透力，加速目标成分进入溶剂，因此超声作为一种辅助能量可以缩短操作时间以及提高提取率[3]。超声波提取在中草药[4]、沉积物[5]、生物样品[6]、果蔬[7-8]、植物[9]等方面有着广泛的应用，但在食品中重金属提取方面的应用较少。本研究的目的是优化超声波提取谷物中重金属元素的条件，如超声时间、温度、提取剂、样品量和粒径等，建立一种分析速度快、回收率高且适用于谷物中重金属含量的测定方法。

收稿日期：2011-12-19
基金项目：国家自然科学基金面上项目(21076026)；辽宁省自然科学基金项目(20102005)；辽宁省教育厅重点实验室项目(LS2010002)
作者简介：顾佳丽(1980—)，女，讲师，硕士，研究方向为分析化学。E-mail：gujiali@yahoo.cn

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

谷物 市售；超纯水；硝酸、高氯酸、30%过氧化氢(优级纯)；镉、铜、铅、锌标准溶液(1000μg/mL) 中国计量科学研究院；标准品GBW10010大米；所用玻璃及聚乙烯仪器均用硝酸溶液(1+9)浸泡24h，二次去离子水冲洗，晾干后备用。

1.2 仪器与设备

AA320N 原子吸收分光光度计及GA 3202石墨炉系统 上海精密科学仪器有限公司；KQ100DB型超声波清洗器(温度30～80℃、频率40kHz、电功率100W、容积4L) 昆山市超声仪器有限公司；Milli-Q超纯水设备 美国Millipore公司；LNMN-120型玛瑙球磨机 郑州华鑫电子衡器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理方法

取市售谷物，包括大米、小米、玉米、高粱、小麦，先用流水冲洗干净，再用去离子水清洗，放烘箱60℃干燥72h，干燥的样品用玛瑙球磨机匀质，过300(50μm)、200目(74μm)和100目(150μm)筛，于聚乙烯瓶中室温下干燥器内保存备用。

1.3.2 超声辅助提取法[10]

称取样品0.1g于离心管中，加5mL HNO_3-H_2O_2(2:1，*V*/*V*)预超声10min，立即放入超声浴中(最大功率40kHz)，60℃超声10min，以3000r/min离心10min，取上层清液；残渣用2mL超纯水清洗，再超声2min，以3000r/min离心10min，同样取上层清液且与酸浸出液合并，最后用超纯水定容至10mL，于聚乙烯瓶中4℃保存备用，同时做空白试验。

1.3.3 湿式消解法

称取样品0.5g于聚四氟乙烯烧杯中，加10mL HNO_3-H_2O_2溶液(2:1，*V*/*V*)加盖浸泡过夜，于电热板上加热消解，直至消化液呈无色透明或略带黄色，将过量的酸蒸发近干，冷却，转移至50mL容量瓶中超纯水定容，于聚乙烯瓶中4℃保存备用，同时做空白试验。

1.3.4 原子吸收分光光度计工作条件

经超声提取法与湿式消解法处理标准品GBW10010大米和谷物样品，用火焰原子吸收光谱法测定Cu和Zn的含量，石墨炉原子吸收光谱法测定Cd和Pb的含量，工作条件[11]见表1、2。

表1 火焰原子吸收光谱法仪器工作条件

Table 1 The working conditions of the FAAS

元素	波长/nm	灯电流/mA	狭缝/nm	乙炔流量/(L/min)	空气流量/(L/min)
铜	324.8	10	0.4	0.6	8.0
锌	213.9	8	0.7	0.7	8.0

表2 石墨炉原子吸收光谱法仪器工作条件

Table 2 The working conditions of the GFAAS

元素	波长/nm	狭缝/nm	灯电流/mA	干燥		灰化		原子化		清洗	
				温度/℃	时间/s	温度/℃	时间/s	温度/℃	时间/s	温度/℃	时间/s
Cd	228.8	0.7	8.0	120	10/10	350	5/10	2300	2/3	2400	3/3
Pb	283.3	0.7	10.0	120	10/10	450	5/10	2500	3/3	6300	3/3

1.4 统计分析

用*t*检验法比较超声提取法和湿式消解法实验结果的差异性，在95%的置信度下，自由度$n-1=5$时，若$t_{实验值}$小于$t_{\alpha,f}=2.57$，则说明两种方法之间不存在显著性差异。

2 结果与分析

2.1 超声提取法条件和参数的优化

2.1.1 预超声时间的选择

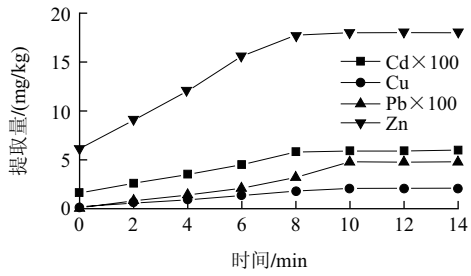


图1 预超声时间对提取量的影响

Fig.1 Effect of presonication time on detection of cadmium, copper, lead and zinc

准确称取0.1g的标准品加酸后，在室温下放置0～14min，再放入超声浴中提取，研究不同预超声时间对金属元素提取量的影响，结果如图1所示。曲线上每点表示6次平行测定结果的平均值，为了在一张图上清晰的反应每种元素的变化规律，Cd和Pb的测定结果乘100倍处理(如图标示)。所检测金属元素经预超声处理后，均比未处理前的提取量高；当预超声时间10min时，Cu、Pb和Zn的提取量最大，8min时，Cd的提取量最大；放置过长时间对重金属元素提取量没有影响。优选预超声时间为10mim。

2.1.2 超声时间的选择

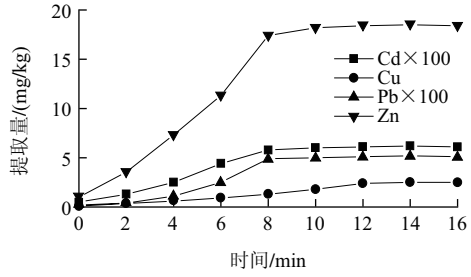


图2 超声时间对提取量的影响

Fig.2 Effect of sonication time on detection of cadmium, copper, lead and zinc

在选定的预超声时间下，其他条件不变，考察不同超声时间(0～14min)对重金属提取量的影响，结果如图2所示。当超声时间在2～8min内，所检测金属元素的提取量随着时间增加而增大，达到最大提取量时，各元素需要超声的时间为Pb 8min，Cd和Zn 10min，Cu 12min。

2.1.3 超声浴温度的选择

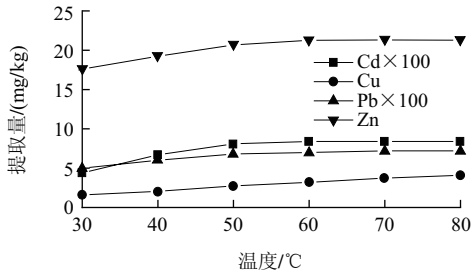


图3 温度对提取量的影响

Fig.3 Effect of temperature on detection of cadmium, copper, lead and zinc

控制其他变量在最佳条件下，考察不同超声浴温度(30～80℃)对金属元素提取量的影响，结果如图3所示。对于样品中所有检测的金属元素，高温可以提高金属元素提取量，达到最大提取量时，各元素需要超声温度为Cd、Pb和Zn 60℃，Cu 70℃。

2.1.4 提取剂的选择

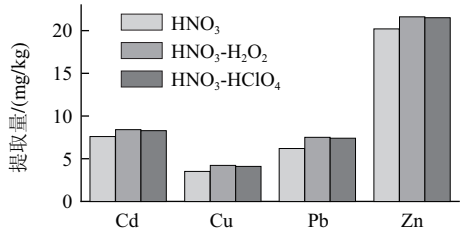


图4 提取剂对提取量的影响

Fig.4 Effect of solvent system on detection of cadmium, copper, lead and zinc

不同类型的提取剂，是影响超声提取效率的重要因素。分别用HNO_3和HNO_3-H_2O_2(2:1，*V*/*V*)、HNO_3-$HClO_4$(2:1，*V*/*V*)提取金属元素，其他变量在最佳条件下，结果如图4所示。样品经HNO_3处理后，金属元素提取量较低，说明样品中的有机物不能被HNO_3完全氧化，通常需要氧化剂如H_2O_2和$HClO_4$等。用HNO_3-H_2O_2和HNO_3-$HClO_4$提取金属元素，提取量基本一致，3种提取剂的实验结果不存在显著性差异(P=0.05)。由于$HClO_4$的危险性，本实验选择HNO_3-H_2O_2(2:1，*V*/*V*)作为提取剂。

2.1.5 样品量的选择

控制其他变量在最佳条件下，考察0.05～0.30g样品量对金属元素提取量的影响，结果如图5所示。当样品量Cd和Zn大于0.15g，Pb和Cu大于0.10g时各元素的提取量明显减少，本实验选择样品量/提取剂体积0.1g/5mL。

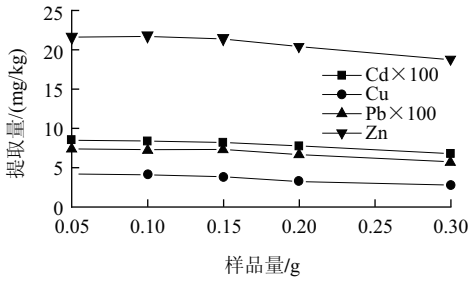


图5 样品量对提取量的影响

Fig.5 Effect of sample amount on detection of cadmium, copper, lead and zinc

2.1.6 粒径的选择

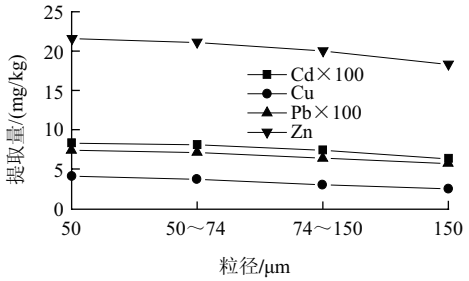


图6 粒径对提取量的影响

Fig.6 Effect of particle size on detection of cadmium, copper, lead and zinc

增加接触面积有利于重金属元素的超声提取[12]，控制其他变量在最佳条件下，考察不同粒径(＜50、50～74、74～150、＞150μm)对金属元素提取量的影响，结果如图6所示。当粒径＞74μm时，4种金属元素的提取量均降低；粒径在＜50μm和50～74μm时，所有检测金属元素提取量均无显著性差异(P＜0.05)，本实验选择粒径＜50μm。

2.2 超声提取法和湿式消解法的测定结果

表3 超声提取法的最佳实验条件

Table 3 Optimum leaching conditions

变量	范围	最佳条件
预超声时间/min	0～14	10
超声时间/min	0～14	Cd、Pb、Zn 10min；Cu 12min
温度/℃	30～80	Cd、Pb和Zn 60℃；Cu 70℃
提取剂	HNO_3、HNO_3-H_2O_2、HNO_3-$HClO_4$	HNO_3-H_2O_2(2:1，*V*/*V*)
样品量/g	0.05～0.30	0.10
粒径/μm	＜50、50～74、74～150、＞150	＜50

分别用超声提取法(最佳条件见表3)和湿式消解法处理标准品，原子吸收光谱法平行6次测定金属元素的含量，其相对标准偏差(RSD)在4.9%～7.0%之间，结果见表4。结果表明，经两种方法处理样品后，对于所有检测金属元素的测定值与标准值均符合较好，两种消解方法之间不存在显著性差异(P＜0.05)。表明超声辅助提取法适用于谷物样品中Cd、Cu、Pb和Zn的提取。

表 4 两种方法处理标准品GBW10010大米的结果

Table 4 Comparison of determination of cadmium, copper, lead and zinc in certified reference rice sample by two methods

元素	标准值/(mg/kg)	湿法消解		超声提取法		$t_{实验}$值
		测定值/(mg/kg)	RSD/%	测定值/(mg/kg)	RSD/%	
Cd	0.087±0.005	0.086±0.006	5.4	0.084±0.004	7.0	0.76
Cu	4.9±0.36	4.41±0.61	6.1	4.62±0.52	5.1	0.91
Pb	0.08±0.03	0.08±0.01	5.9	0.074±0.01	6.2	0.44
Zn	23±2	24.07±1.4	6.0	21.72±2.4	4.9	0.57

注：数据为“平均值 ± 标准偏差”(n=6)。

2.3 线性范围和检出限

在最佳超声提取条件下(表3)，原子吸收光谱法测定一系列不同质量浓度的金属元素标准溶液，考察方法的线性关系。平行测定11次空白溶液，用3倍的相对标准偏差计算各金属元素检出限，结果见表5。

表 5 线性范围、相关系数及检出限

Table 5 Linear correlation coefficients, linear ranges and limits of detection

元素	标准曲线	相关系数	线性范围/(mg/L)	检出限/(mg/L)
Cd	y=0.0692x−0.0129	0.9936	0～10	0.015
Cu	y=0.2065x−0.0114	0.9973	0～50	0.005
Pb	y=0.0429x+0.0071	0.9992	0～10	0.019
Zn	y=0.3057x+0.0131	0.9981	0～50	0.007

2.4 加标回收实验

在样品中加入一定量的标准溶液，分别用超声提取法(最佳条件见表3)和湿法处理样品，原子吸收光度法测定其含量，并计算得出加标回收率在96.0%～107.5%，结果见表6。

表 6 加标回收率及精密度

Table 6 Average recoveries and RSD

元素	湿法消解				超声提取法			
	本底值/(μg/mL)	加标量/(μg/mL)	测定值/(μg/mL)	回收率/%	本底值/(μg/mL)	加标量/(μg/mL)	测定值/(μg/mL)	回收率/%
Cd	0.11	0.2	0.314	102	0.12	0.2	0.331	105.5
Cu	2.47	2	4.56	104.5	2.27	2	4.2	96.5
Pb	0.207	0.2	0.41	101.5	0.209	0.2	0.424	107.5
Zn	18.9	20	37.8	94.5	18.3	20	36.7	92

2.5 样品的测定

在最佳超声提取条件下(表3)，原子吸收光谱法平行3次测定谷物中金属元素含量，结果见表7。

表 7 谷物中金属元素的含量

Table 7 Results for determination of heavy metal contents in grains by the described method

mg/kg

元素	方法	大米	小米	玉米	高粱	小麦	国家限量[13-14]
Cd	超声	0.117±0.04	0.029±0.005	0.073±0.01	0.026±0.07	0.014±0.03	0.1[b]
	湿法	0.112±0.05	0.031±0.07	0.081±0.09	0.024±0.04	0.015±0.05	
Cu	超声	2.31±0.86	4.92±1.26	2.70±1.68	1.95±0.45	5.54±3.12	10
	湿法	2.39±1.04	5.04±0.89	2.64±0.94	2.02±1.17	5.63±2.43	
Pb	超声	0.205±0.11[a]	0.094±0.15	0.072±0.04	0.140±0.18	0.031±0.02	0.2
	湿法	0.216±0.08[a]	0.097±0.06	0.075±0.09	0.13±0.20	0.033±0.16	
Zn	超声	17.6±5.26	22.0±8.47	25.3±6.10	30.2±11.95	19.8±10.30	50
	湿法	18.1±7.04	22.1±9.63	26.2±4.35	31.5±9.41	20.1±15.42	

注：数据为“平均值 ± 标准偏差”(n=6)。a.超标；b.大米 0.2mg/kg。

在检测的5种谷物中，铜和锌的平均含量低于国家粮食限量标准，大米中的铅是限量值的1.02倍，铅是毒性最强的重金属，摄入过量的会对神经、造血和消化等多个系统造成危害，尤其是对婴儿的智力和身体发育影响更为严重，粮食中重金属超标现象应引起有关部门的重视。

3 结 论

超声辅助提取法是一种简便快速、回收率较高、污染小、试剂消耗少、残渣少的方法[15]。实验表明，在优化超声提取条件下，所检测金属元素均可以被定量回收，与常规消解法相比较，两种方法的测定结果基本一致，但超声消解法缩短了湿式消解法中消解、加热、干燥、冷却和分离等步骤的时间，降低了浓酸的消耗和污染，避免了高温高压的过程，提高了提取率以及简化了提取操作，因此超声提取-原子吸收光谱法适用于谷物样品中Cd、Cu、Pb和Zn等金属元素含量的测定。

参考文献：

[1] KHAN S, CAO Q, ZHENG M, et al. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China Original Research Article[J]. Environmental Pollution, 2008, 152(3): 686-692.

[2] KAZI T G, JAMALI M K, ARAIN M B, et al. Evaluation of an ultrasonic acid digestion procedure for total heavy metals determination in environmental and biological samples[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 161(2/3): 1391-1398.

[3] 郭孝武, 冯岳松. 超声提取分离[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 11-13.

[4] 李辉, 卜晓英, 陈功锡, 等. 超声辅助提取白背三七总黄酮[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 144-146.

[5] GÜNGOR H, ELIK A. Comparison of ultrasound-assisted leaching with conventional and acid bomb digestion for determination of metals in sediment samples[J]. Microchemical Journal, 2007, 86(1): 65-70.

[6] AFRIDI H I, KAZI T G., ARAIN M B. Determination of cadmium and lead in biological samples by three ultrasonic-based samples treatment procedures followed by electrothermal atomic absorption spectrometry[J]. Journal of AOAC International, 2007, 90(2): 470-478.

[7] 刘长江, 王菲, 栾云峰, 等. 软枣猕猴桃黄酮超声辅助提取条件优化[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 100-102.

[8] 杨敏, 杨树科, 王炯, 等. 离子色谱法测定白菜中的硝酸盐、亚硝酸盐、磷酸盐及总磷、总氮[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 216-219.

[9] FILGUEIRAS A V, CAPELO J L, LAVILLA I, et al. Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry[J]. Talanta, 2000, 53(2): 433-441.

[10] TASNEEM G K, HASSAN I A, MOHAMMAD K J, et al. Effect of ultrasound agitation on the release of heavy elements in certified reference material of human hair (CRM BCR 397)[J]. Journal of AOAC International, 2006, 89(5): 1410-1416.

[11] 蔡艳荣, 刘媛, 李玲玲. 原子吸收光谱法测定水果中10 种元素含量及分布[J]. 卫生研究, 2011, 40(3): 361-364.

[12] CAPELO J L, MADURO C, VILHENA C. Discussion of parameters associated with the ultrasonic solid-liquid extraction for elemental analysis (total content) by electrothermal atomic absorption spectrometry[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2005, 12(3): 225-232.

[13] GB2762—2005 食品中污染物限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.

[14] NY861—2004 粮食中八种元素限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

[15] JÚNIORA D S, KRUGA F J, PEREIRA M G. Currents on ultrasound-assisted extraction for sample preparation and spectroscopic analytes determination[J]. Applied Spectroscopy Reviews, 2006, 41(3): 305-321.