

微波消解 ICP - AES 快速分析 林蛙样品的应用

常平¹ 衣伟² 苏维娜²

(1. 吉林大学 地球探测科学与技术学院, 吉林 长春 130026; 2. 吉林大学 分析测试实验中心, 吉林 长春 130026)

摘要: 利用微波辅助消解林蛙肝脏、骨粉、内皮和外皮组织样品, 30 min 完成称样、消解到定容全部前处理过程, 电感耦合等离子体光谱法 1 min 检测 1 个样品中 22 种元素, 省时、省力、快速、准确, 准确度和精密度高于常规的湿法消化和低温干灰化法制备样品的方法, 实验时选择微波消解时间 15 min, 功率 360 W, 混合酸体系为 $\text{HNO}_3 - \text{HCl} - \text{H}_2\text{O}_2 - \text{H}_2\text{O}$, 混酸配比为 8:2:2:3。微波消解林蛙皮肤样品大大缩短分析流程, 采用标准溶液基体匹配法消除基体干扰, 利用电感耦合等离子体原子光谱分析技术, 同时检测林蛙组织中常量和微量元素。该方法经国家猪肝标准物质 GBW08551 验证, 测得方法相对误差在 0.17% ~ 6.67%, 相对标准偏差在 0.47% ~ 4.94%, 各项检测指标均能满足生物样品检测要求, 达到满意的测量结果。

关键词: 微波技术; 林蛙组织; ICP - AES; 快速分析

中图分类号: S718.62; O657.31 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2010)04-0802-06

Application of Quick Analysis of the Frog Sample Using the Microwave Digestion by ICP-AES

CHANG Ping¹, YI Wei², SU Wei-na²

(1. College of Earth Exploration Science and Technology, Jilin University, Changchun 130026, China; 2. Analysis Test Center, Jilin University, Changchun 130026, China)

Abstract: By using the microwave - assisted method to digest the sample of forest frog's liver, bone, endothelial and skin tissue, the research took 30 min to complete the whole pre - process including weighing, digesting and calibrating the volume of the sample. With the help of the Inductively coupled plasma spectrometry method, it took only 1 min to detect 22 elements in one sample. It is quick, convenient, accurate and preciser than the conventional wet digestion and dry ashing sample preparation method. This research used 15 min to digest the sample using microwave and the power was set to 360 W. The mixed acid system was $\text{HNO}_3 - \text{HCl} - \text{H}_2\text{O}_2 - \text{H}_2\text{O}$ whose ratio was 8:2:2:3. Using the microwave method to digest the sample of frog's skin greatly shortened the period of analysis procedure. Choosing the standard solution medium matching method could eliminate the interference of the medium. At the same time, using the inductively coupled plasma atomic spectroscopy method, the constant and trace elements in the sample of forest frog tissue could be easily detected. This method was verified according to the national liver standard GBW08551. The relative error value of the result was tested between 0.17% ~ 6.67% and the relative standard deviation value was between 0.47% ~ 4.94%. Every detection index met the testing requirements of biological samples and the result was satisfied.

收稿日期: 2010-03-31 修回日期: 2010-06-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39970234)

作者简介: 常平(1960-)女, 高级实验师, 主要从事等离子体光谱分析在地球化学方面的研究, E-mail: changping@jlu.edu.cn.

Key words: microwave technology; forest frog tissue; ICP-AES; quick analysis

中国林蛙是集食、药、补为一体的特种食药经济动物。吉林省长白山是中国林蛙主要产区,所产的林蛙以产油量高、蛙油价值佳而享誉国内外,以林蛙养殖、蛙油等产品开发、加工为主的林蛙产业成为发展地方经济的重要支柱产业之一。近年来,对于林蛙的研究出现了多方位的趋势^[1],已开发出“蝾精胶囊”、“林蛙油冲剂、胶囊”、“林蛙乐谱活性粉”、“林蛙皮面膜”、“蛙头精”等林蛙油、皮系列保健产品30余种,一些产品已打入国际市场。在深入研究哈蟆油的药理基础上^[2],林蛙的卵、皮肤、肝脏等部位及林蛙油的药化成分^[3-6]分析,不断揭示出林蛙更深层次和潜在的医疗保健作用及经济价值。关于林蛙油营养成分研究较多^[7-11],但是在林蛙组织微量元素测试方法的研究报道所见不多^[5,12-14],本文作者在针对动物组织生物有机体复杂组成,改进常规^[5,15-16]采用的湿法消化和低温干灰化的样品预处理方法,进行了微波消解研究实验^[17],利用微波辅助(microwave assistant)制备样品对有生物机质消解能力强的特点,可以大大缩短分析流程,通过测试数据进行样品前处理的方法比较,建立微波技术处理林蛙皮肤样品 ICP-AES 快速分析的方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器及工作条件

仪器:美国 Jarrell-Ash 公司 750 型 ICP-AES;自动扣背景光谱移位器 JA90-750 型 ICP-AES 实时测控操作系统,计算机控制分析程序和数据处理,分析结果自动存储打印。微波消解系统:MDS-2002A 型压力自控密闭微波消解系统。ICP 仪器及微波消解工作条件见表 1。

1.2 标准溶液

用标准储备液,配制混合标准溶液,在 STD1-STD4 标准中加入质量分数为 1% 的基体元素 Ca 和 P 进行基体匹配,为避免某些元素间化学干扰按其化学性质高浓度标准溶液分为 4 组。各种浓度值见表 2。

1.3 样品处理

分别准确称取 0.100 0 g 林蛙皮肤组织样品各两份,放入体积为 100 mL 密闭的聚四氟乙烯微波消化罐中,加入 8 mL HNO₃ 和 1 mL H₂O₂,加入 1 mL HCl 5 mL H₂O 放入微波炉内,消解 15 min,取出冷却后开盖,在 120 °C 恒温电热板浓缩试液体积约 1 mL 时,取下冷却后用二次蒸馏水定容于 10 mL 容量瓶中,待测。林蛙皮肤组织样品分析结果列于表 3 和表 5。

2 结果与讨论

2.1 样品制备试验

干法制备样品和湿法制备样品方法本文作者在参考文献^[5,15-16]中有详细的研究实验方法,本文在此基础上改进了林蛙组织样品的前处理方法,利用微波辅助制备样品,主要进行试剂种类、用量、微波功率及消解时间的研究试验。

表 1 微波消解及 ICP 仪器工作条件

Tab. 1 Conditions of microwave working and ICP-AES

ICP-AES 仪器工作条件 Work parameters of ICP-AES					微波消解工作条件 Work parameters of microwave		
仪器配置 Disposition	工作参数 Parameters	仪器配置 Disposition	工作参数 Parameters	步骤 Process	时间 <i>t</i> /min Time	温度 <i>T</i> /°C Temperature	功率 <i>P</i> /W Power
R. F 入射功率 Transfers power	1.15 kW	积分时间 Integral time	25 s	1	5	120	160
冷却气流量 Cooling gas flow	16 L/min	样品提升量 Sample life capacity	3 mL/min	2	10	200	360
辅助气流量 Assistant gas flow	1 L/min	载气流量 Carrier gas flow	0.5 L/min	3	15	室温	0

表2 标准溶液质量分数

Tab.2 The standard solution concentration

组数 Number	分析元素 Analytic elements						
STD1# standard	0.00						
质量分数 Concentration/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	10 g/L(Ca ,P)						
STD2# standard	Mg	Cd	Be	Cu	Mo	Pb	基体 Matrix
质量分数 Concentration/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	12.5	12	10	11	10	10	10 g/L(Ca ,P)
STD3# standard	Al	Fe	Co	In	Mn	Ni	基体 Matrix
质量分数 Concentration/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	10.6	13	10	10	12	13	10 g/L(Ca ,P)
STD4# standard	B	Ba	Cr	La	V	Y	基体 Matrix
质量分数 Concentration/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	10	11	10	10	12	10	10 g/L(Ca ,P)
STD5# standard						Ca	P
质量分数 Concentration/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)						50	50

2.2 微波消解条件实验

微波消解程度与试剂的种类、用量以及输出功率的大小有一定的关系^[13-14,17]，本实验根据无机酸的性质、ICP - AES 技术对酸液的要求和微波条件的特点 3 种情况的有机结合，选用硝酸、盐酸和过氧化氢为溶剂，根据实验结果(图1)选择 HNO₃ - HCl - H₂O₂ - H₂O(8:2:2:3) 酸溶体系消解过程所消耗时间最短，本实验选择微波消解方法针对其动物样品复杂的碳氢化合物、蛋白质、类脂组成进行消解。

2.3 林蛙皮肤组织样品制备方法比较^[13-14,17]

微波辅助消解(I)、酸消解湿法(II) 2 种方法处理标准物质 GBW08551 验证、林蛙肝脏、骨粉组织样品的测试平均值 A、相对误差(RE)、相对标准偏差(RSD) 的结果列于表 3。

表3 标准物质 GBW08551 湿法消解与微波消解检测结果

Tab.3 Test results standard substance GBW08551 by digestion wet and microwave

元素 Element	GBW08551 推荐值 Recommend	平均值 Average		相对误差 RE/% Relatively error	
		湿法 Wet	微波 Microwave	湿法 Wet	微波 Microwave
Fe	0.105	0.106	0.107	0.950	1.910
Ca	197.000	196.500	201.000	-0.250	2.030
Mg	747.000	743.000	732.300	-0.540	-1.970
Cd	0.067	0.350	0.064	>100.000	-4.480
Co	0.100	0.110	0.110	10.000	10.000
Cr	0.200		0.190		-5.000
Cu	17.200	17.410	17.200	1.220	0.000
Mn	8.320	8.490	8.410	2.040	1.080
Mo	3.800		3.660		-3.680
P	1.300	1.302 7	1.350	0.210	3.850
Pb	0.540		0.580		7.410
Zn	172.000	173.800	170.000	1.050	-1.160

$n = 20 \quad \omega(B) = 10^{-6}, 10^{-2}$ 。

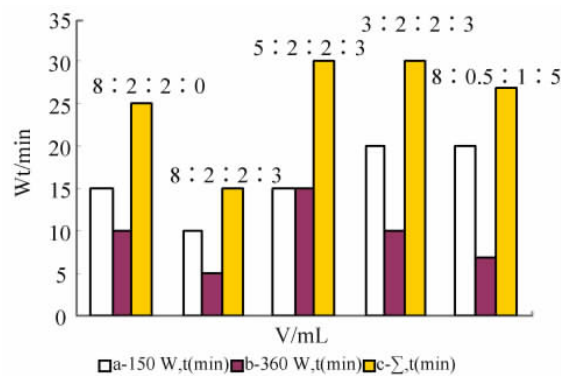


图1 微波消解条件实验

Fig.1 Condition of microwave digestion

表4 林蛙肝脏、骨粉湿法消解与微波消解检测结果

Tab.4 Test results of liver, bonepowder of frog by digestion wet and microwave

元素 Elements	肝脏(湿法) Liver(wet)		肝脏(微波) Liver(microwave)		骨粉(湿法) Bone powder(wet)		骨粉(微波) Bone powder(microwave)	
	平均值	AverageRSD 值/%	平均值	AverageRSD 值/%	平均值	AverageRSD 值/%	平均值	AverageRSD 值/%
Al	55.05	3.44	58.1	0.52	127.3	1.07	114.3	1.66
Fe	371.1	1.57	353.9	1.05	341.1	4.33	324.4	0.55
Ca	1 563	1.21	1 582	0.19	92 817	0.49	93 742	0.48
Mg	833.4	0.83	843.7	0.21	2 559	0.48	2 889	0.33
B	6.84	3.36	8.47	0.47	7.42	3.91	12.77	1.64
Ba	65.18	1.64	64.91	0.81	129.6	1.08	128.9	0.23
Be			0.84	5.39			0.73	6.21
Cd	1.92	2.84	1.78	3.66	0.53	9.96	0.55	3.64
Co			1.07	0.93			1.98	0.76
Cr			1.47	4.08			2.14	3.51
Cu	104.8	6.86	102.4	0.73	32.23	6.59	30.36	2.29
La			2.38	4.42				
Mn	14.76	1.81	17.17	1.08	72.71	0.43	70.48	0.45
Mo			0.65	6.15			0.6	6.67
Ni			0.46	5.49			0.56	6.31
P	14 080	0.89	15 375	0.58	88 398	1.45	88 909	1.08
Pb			6.63	5.06			0.32	7.94
Sr	2.72	3.2	2.55	2.55	103.7	1.09	104.3	0.91
Ti			3.64	3.3			3.09	4.38
V			0.26	5.88	10.5	6.69	10.27	5.8
Y			0.46	3.3			0.36	4.23
Zn	113	1.67	110.5	1.67	163.2	1.15	210	1.05

$n = 20$, $\omega(B) = 10^{-6}$, 10^{-2} 。

由表3和表4可知,通过湿法消解和微波消解2种样品前处理方法所测得结果比较,微波消解处理样品的方法准确度和测量精密性绝大部分元素都高于湿法消解方法,特别是低含量元素检出能力微波消解方法比湿法消解要强,如标准物质中低含量Cr、Mo、Pb用湿法消解处理样品没有检出,微波消解方法可以提高低含量元素的检出能力。因此本实验选择用微波消解方法制备样品,比较适合有机体复杂的生物组织样品的处理,特别是针对生物组织样品中低含量元素的检测。

2.4 方法准确度试验

称取国家标准物质GBW08551(猪肝标准物质)11份,按本文拟定的微波辅助消解方法制备样品,分别测得各元素相对误差为0.17%~6.67%,方法回收率为97.6%~100.6%实验数据列于表5。

2.5 林蛙组织实验样品测量

分别取林蛙肝脏、骨粉、内皮和外皮样品各20份,按本文所拟定的微波消解制样方法处理样品,分别测得试样溶液中各元素平均值列于表5。

表5 方法准确度和回收率
Tab.5 Result of accuracy and recovery

元素 Elements	Fe*	Ca	Mg	Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Mo	P*	Pb	Zn
测定平均值 Average	1 072	201	732	0.064	0.11	0.19	17.2	8.41	3.66	13 500	0.58	170
标准推荐值 Recommend	1 050	197	747	0.067	0.10	0.20	17.2	8.32	3.80	13 000	0.54	172
绝对误差 Error	22	4.00	-15	-0.003	0.016	-0.01	0.00	0.09	-0.14	500	0.04	-2.0
RE/% Accuracy	2.09	2.03	2.01	-4.48	10.0	-5.0	0.00	1.08	-3.68	3.85	7.41	-1.16
元素 Elements	Al	B	Ba	Be	In	La	Nb	Ni	Sr	Ti	V	Y
加标测定值 Test add standard	22.42	32.41	28.06	6.27	5.91	6.32	5.76	7.36	35.56	7.07	6.16	6.71
试样测定值 Test	12.61	22.35	18.20	1.26	0.98	1.38	0.87	2.48	25.61	2.16	1.22	1.68
加标量 Add standar quantity	10.00	10.00	10.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	10.00	5.00	5.00	5.00
回收率 recovery	98.1	100.6	98.6	100.2	98.6	98.8	97.8	97.6	99.5	98.2	98.8	100.6

* 标注林蛙组织测定单位 $\omega(B) = 10^{-2}$ 。

表6 林蛙组织样品检测结果
Tab.6 Test results of frog tissue

林蛙名称 Frog tissue	元素 Elements										
	Al	Fe	Ca	Mg	B	Ba	Be	Cd	Cu	Co	Cr
肝脏 Liver	58.1	353.9	1 582	843.7	8.47	64.91	0.84	1.78	102.4	1.07	1.47
骨粉 Bone powder	114.3	324.4	93 742	2 889	12.77	128.9	0.73	0.55	30.36	1.98	2.14
内皮 Endodermis	87.2	307.3	34 057	1 765	6.69	90.36			7.06		
外皮 Scarfskin	239.9	752.3	28 473	2 170	8.55	111.5		0.8	23.9		
林蛙名称 Frog tissue	元素 Elements										
	La	Mn	Mo	Ni	P	Pb	Sr	Ti	V	Y	Zn
肝脏 Liver	2.38	17.17	0.65	0.46	15 375	6.63	2.55	3.64	0.26	0.46	110.5
骨粉 Bone powder		70.48	0.6	0.56	88 909	0.32	104.3	3.09	10.27	0.36	210
内皮 Endodermis	18.7	38.8			41 095		39.3	8.76	6.72		132.9
外皮 Scarf skin	16.62	48.62			37 757	14.12	36.01	12.61	5.71		195.4

$n = 20 \omega(B) = 10^{-6}$ 。

3 结 论

分析表5测得实验数据,不难看出:林蛙肝脏、骨粉、内皮和外皮微量元素含量差异较大,骨粉中Ca、P、Mn、Sr、Zn元素含量较高,肝脏中Cd、Cu、Cr和Pb重金属含量高于其它组织部分,Al、Fe、Cu、Zn的含量外皮要比内皮高1.5~3.0倍,特别是受污染影响的重金属元素Cd、Pb内皮样品没有检出,另外元素Ca、La、P、Sr、V的含量林蛙内皮高于外皮,各种微量元素在增强生物肌体的免疫机能等方面具有重要的生理作用,而且与其生长环境密不可分,其规律性有待于进一步研究。本实验方法可以为野生动物组织样品微量元素的检测提供一种快速可行实用的分析手段。

参考文献:

[1]黄敏文. 林蛙油中成份分析结果及应用意义[J]. 工企医刊, 2006(3): 33.
 [2]李宜平, 张晋纲, 刘森, 等. 哈蟆油动物基原问题探讨[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(1): 15-16.

- [3]李政,杨锦竹,刘磊,等.中国林蛙卵油和卵渣中微量元素的测定[J].白求恩医科大学报,1999,25(5):604-605.
- [4]李媛媛,胡嵘,关树文,等.采用等离子体发射光谱法对不同产地哈蟆油无机元素的含量分析[J].长春中医学院学报,2002,18(4):45-46.
- [5]常平,王松君,王飞,等.ICP-AES法测定林蛙组织中多种微量元素方法研究[J].光谱学与光谱分析,2003,23(3):556-559.
- [6]张小勇,张敬东.ICP-MS法测定林蛙的油、卵、肌肉及躯干中的微量元素[J].延边大学农学学报,2008,30(2):80-84.
- [7]王秋雨,金莉莉,娄虹,等.哈士蟆油和青蛙油主要营养成分的测定[J].特产研究,2003,25(4):37-40.
- [8]胡鑫,刘成柏,陈晓平,等.林蛙油中主要营养保健成分含量的研究[J].吉林农业大学学报,2003(2):218-220.
- [9]温铁峰,卫功庆,蔡凤坤.圈养与野生东北林蛙皮肤营养成分比较研究[J].吉林农业大学学报,2005,27(6):663-666.
- [10]陈晓平,崔敬爱,胡耀辉.林蛙油主要营养成分的研究[J].食品科学,2005(8):361-363.
- [11]包玉晓.林蛙油化学成分的研究进展[J].畜牧兽医杂志,2009(3):37-38.
- [12]李成义,李静波,李广文,等.吉林产哈士蟆卵油中微量元素含量测定[J].中药材,1991,14(11):16-17.
- [13]王松君.改进的等离子体原子发射光谱分析技术在矿产勘查样品中的应用研究[D].中国博士学位论文全文数据库:基础科学辑,2008(5):A011-2.
- [14]侯天平,王松君,侯悦.ICP-AES测定林蛙皮肤中多种微量元素[J].光谱实验室,2009,26(6):1422-1426.
- [15]王松君,常平,王璞瑁,等.电感耦合等离子体发射光谱法同时测定野生葡萄籽中多元素的方法研究[J].光谱学与光谱分析,2007,27(1):151-153.
- [16]侯天平,王松君,常平,等.貉被毛中多种元素 ICP-AES 同时测定方法研究[J].江西农业大学学报,2008,11(2):87-94.
- [17]侯天平,王松君,曹林,等.微波消解 ICP-AES 法检测动物毛被中微量元素的方法研究[J].光谱学与光谱分析,2008,28(8):1933-1937.

(上接第 790 页)

- [6]欧阳勋志,廖为明.区域森林景观资源承载力评价方法的探讨——以江西省婺源县为例[J].中国生态农业学报,2007,15(6):148-151.
- [7]姬文元,邢韶华,郭宁,等.川西米亚罗林区云冷杉林健康状况评价[J].林业科学,2009,45(3):13-18.
- [8]陈高,代力民,姬兰柱,等.森林生态系统健康评估 I. 模式、计算方法和指标体系[J].应用生态学报,2004,15(10):1743-1749.
- [9]张志诚,欧阳华,肖凤劲.生态系统健康研究现状及其定量化研究初探[J].中国生态农业学报,2004,12(3):184-187.
- [10]OLaughlin J. Forest ecosystem health assessment issues: definition, measurement and management implications [J]. Ecosystem Health, 1996, 2(1): 19-39.
- [11]黄进,张金池,杨会.桐庐生态公益林主要森林类型水源涵养功能综合评价[J].中国水土保持科学,2010,8(1):46-50.
- [12]李富程,王青,张黎.防护林健康评价指标体系研究[J].西南科技大学学报,2009,24(2):59-64.
- [13]刘文军,铁牛,席青虎.大青山天然白桦林健康评价研究[J].现代农业科技,2009(10):9-10,13.
- [14]杨建洲.森林资源可持续性宏观调控研究[M].北京:气象出版社,2002,86-92.
- [15]马向前,王兵,郭浩,等.江西大岗山森林生态系统健康研究[J].江西农业大学学报,2008,2(1):59-63.
- [16]张志云,范凤妹,郭正福.生态公益林补偿标准的确定[C].中国林学会,第二届中国林业学术大会 S3 会场论文集,2009,11:386-390.
- [17]黄清麟.中亚热带天然阔叶林可持续经营技术研究[D].北京:北京林业大学,1998.
- [18]阳彬.南方集体林区森林健康评价指标体系研究[D].南昌:江西农业大学,2008.