

DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.016781

引用格式:周美丽,杨子秋,杨伟,等.不同前处理方法在电感耦合等离子体质谱测定螺旋藻中铅、镉含量的比较[J].食品与发酵工业,2018,44(12):256-260. ZHOU Mei-li, YANG Zi-qiu, YANG Wei, et al. Comparison of the different preparation methods for determination of lead and cadmium in *Spirulina* by inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(12): 256-260.

### 3种前处理方法在电感耦合等离子体质谱测定螺旋藻中铅、镉含量的比较

周美丽\*, 杨子秋, 杨伟, 杨春花, 范晓旭, 刘泽弘

(大理州食品检验检测院, 云南 大理, 671000)

**摘要** 采用电感耦合等离子体质谱仪(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)对螺旋藻中的铅、镉元素含量进行测定。超声提取法和水浴振荡提取法作为一种可能替代传统的前处理方法与微波消解法进行对比。比较3种前处理方法的准确度、检出限、重复性、加标回收率、分析时间及试剂消耗量等。结果表明,3种方法的测定结果具有较好的一致性,具有良好的准确度和精密度,采用3种方法对国家标准物质(GBW10020, GBW10047)进行处理,铅、镉的测定结果均在参考值范围内。与微波消解法相比较,超声提取法和水浴振荡提取法具有更低的检出限、操作简单、分析处理时间短、用酸量少、节能和环保,适用于螺旋藻中铅、镉元素的快速测定。

**关键词** 超声提取法;水浴振荡提取法;微波消解法;电感耦合等离子质谱仪;螺旋藻;铅;镉

螺旋藻(*Spirulina*)是一类低等、原核生物,由多细胞组成的丝状体。医学研究发现,螺旋藻具有独特的营养成分,包括人体必需的氨基酸、蛋白质、不饱和脂肪酸、矿物质、维生素和抗氧化物质。具有减轻癌症放疗、化疗的毒副作用,提高免疫功能,降低血脂等功效,引起人们的广泛关注<sup>[1]</sup>。联合国世界粮食会议宣布,螺旋藻是未来最好的食物,世界卫生组织将螺旋藻描述为人类最好的健康产品,联合国教科文组织称,螺旋藻是最理想的未来食物<sup>[2]</sup>。

由于受养殖环境、农药、化肥和加工工艺的影响,螺旋藻产品极易受铅、镉等重金属的污染。因此,快速、准确地对螺旋藻中重金属进行定量分析显得十分重要。AL-HOMAIDAN等研究了湿法消解-原子吸收光谱法测定螺旋藻产品中的总砷、锰和铅等重金属元素的含量<sup>[3]</sup>,AL-DHABI等报道了微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定螺旋藻中的锰、镍和汞等重金属元素的含量<sup>[4]</sup>。电感耦合等离子质谱法因具有检出限低、线性范围宽、耐高基体和多元素同时测定等诸多优点,被广泛应用于食品和保健品分析<sup>[5-7]</sup>。

目前,传统的食品和保健品中重金属及有害元素测定的前处理方法主要有湿法消解法、干灰化法和微波消解法等。传统的前处理方法需要对样品进行繁琐的程序和操作以破坏有机基质,增加了样品污染和

分析物损失的风险,湿法消解和微波消解过程需要使用大量的酸,污染环境,损害实验操作人员,存在耗时长,成本高等问题。为建立简单、快速的前处理方法,超声提取法、快速酸浸提法和酶水解法等被陆续报道<sup>[8-17]</sup>。本工作采用电感耦合等离子体质谱仪进行螺旋藻产品中铅、镉元素的测定,通过比较超声提取法、水浴振荡提取法与传统的微波消解法对测定结果的影响,建立了快速、简单、可靠、节能和环保的螺旋藻中铅、镉元素含量的测定方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

多元素标准溶液:Pb、Cd, 10 mg/L(Agilent, Part # 8500-6940);标准调谐溶液:Li、Y、Ge、Tl、Co, 1 μg/L(Agilent, Part # 5188-6564);内标溶液:In、Lu, 10 mg/L(Agilent, Part # 5185-5959);柑橘叶标准物质 GBW10020、胡萝卜标准物质 GBW10047(地球物理地球化学勘查研究院);HNO<sub>3</sub>(GR,德国 Merck);H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(GR,苏州晶瑞);盐酸(GR,国药试剂);螺旋藻片(祥云岩松生物科技有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

7900型电感耦合等离子体质谱仪,美国 Agilent 公司;VB24 up 赶酸仪,莱伯泰科公司;微波消解仪,意大利 Mileston 公司;AS 系列超声波清洗机,天津奥特赛恩斯仪器公司;SHA-CA 水浴恒温振荡器,金云市科析仪器公司;TDL-40B 高速台式离心机,上海安

第一作者:硕士,工程师(本文通讯作者, E-mail: zbeauty1989@163.com)。

收稿日期:2018-01-11, 改回日期:2018-03-13

亨科学仪器厂;涡旋振荡器,美国 Thermo 公司;电子分析天平, METLER TOLEDO;XF-100 固体样品高速粉碎机,杰瑞尔公司;UPH-IV-20T 超纯水机,四川优普超纯科技公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

螺旋藻片在高速样品粉碎机中粉碎,过 80 目的筛,将筛好的螺旋藻粉末置于干燥器中备用。

1.3.1.1 超声提取法

称取螺旋藻样品 0.3 g(精确至 0.000 1 g),置于 50 mL 聚四氟乙烯材料的离心管中,用体积分数为 1% HNO<sub>3</sub>-1% HCl 混合酸溶液定容至 50 mL,置于涡旋混合器上混匀,室温超声 20 min,摇匀,离心(4 000 r/min)10 min,取上清液,用 0.22 μm 水系针头过滤器过滤后分析测定,同时做空白对照。整个处理过程约 1 h。

1.3.1.2 水浴振荡提取法

称取螺旋藻样品 0.3 g(精确至 0.000 1 g),置于 50 mL 聚四氟乙烯材料的离心管中,用体积分数为 1% HNO<sub>3</sub>-1% HCl 混合酸溶液定容至 50 mL,涡旋混匀,60 ℃ 水浴振荡 45 min 后摇匀,以 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液,用 0.22 μm 水系针头过滤器过滤,同时做空白对照。整个处理过程约 1.5 h。

1.3.1.3 微波消解法

称取螺旋藻样品 0.3 g(精确至 0.000 1 g),置于 80 mL 微波消解罐中,加入 5.0 mL HNO<sub>3</sub> 和 2.0 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,加盖放置 2 h,旋紧罐盖,按(见表 1)设定程序进行微波消解,冷却后用少量纯水洗涤罐盖合并至罐中,将消解罐置于赶酸仪内 140 ℃ 赶酸,罐内溶液剩余 0.5 mL 左右取下冷却至室温,转移至 50 mL 比色管中,用纯水少量多次洗涤罐壁,定容至刻度,同时做空白试验。整个消解过程约 8 h。

表 1 微波消解仪工作条件

Table 1 The working conditions for microwave digestion system				
步骤	升温 时间/min	保持 时间/min	控制 温度/℃	功率/ W
1	10	5	150	1 800
2	10	15	180	1 800

1.3.2 标准曲线的测定

精密量取标准储备液,用体积分数为 1% HNO<sub>3</sub> 逐级稀释,配制成 0.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μg/L 的铅、镉元素混合标准溶液系列。以质量浓度为 10

μg/L 的 <sup>115</sup>In、<sup>175</sup>Lu 分别作为 <sup>111</sup>Cd、<sup>208</sup>Pb 的在线内标元素进行校正。

1.3.3 ICP-MS 工作条件

经质量浓度为 1 μg/L (Li、Y、Ge、Tl、Co) 的调谐溶液对仪器条件进行自动优化,以灵敏度、检出限、氧化物、双电荷和背景噪音作为优化指标,使仪器达到最佳状态。等离子体模式为高灵敏模式,He 模式分析,经优化后仪器的最佳工作条件如表 2 所示。

表 2 优化后的 ICP-MS 工作条件  
Table 2 Optimized parameter of ICP-MS system

参数	设定值
射频功率/W	1 550
等离子气体/(L·min <sup>-1</sup> )	15.0
He 流量/(mL·min <sup>-1</sup> )	4.3
雾化室温度/℃	2
Omega 透镜/V	9.4
八级杆偏转电压/V	-18.0
模拟电压/V	2 164
脉冲电压/V	986

2 结果与讨论

2.1 前处理条件的选择

2.1.1 超声提取法条件

在其他条件不变的情况下,分别用体积分数为 1% HNO<sub>3</sub>、1% HCl、1% HNO<sub>3</sub>-1% HCl 混合酸溶液体系超声提取螺旋藻中的铅、镉,发现用 1% HNO<sub>3</sub>-1% HCl 混合酸溶液超声提取得到的回收率最佳,增加 HNO<sub>3</sub>-HCl 体积分数时,回收率并无差异,但样品空白值随 HNO<sub>3</sub>-HCl 体积分数的增加而增大,此外,超声提取时间超过 20 min 后回收率无明显差异,故选用 1% HNO<sub>3</sub>-1% HCl 混合酸溶液作为提取溶液,超声提取 20 min。

2.1.2 水浴振荡提取法条件

水浴振荡提取法酸溶液体系和酸溶液体积分数的选择测试结果和超声提取法一致,铅、镉的回收率随着提取时间和水浴振荡温度的增加而增大,但水浴温度超过 60 ℃、提取时间超过 45 min 后回收率无明显差异,故选用体积分数为 1% HNO<sub>3</sub>-1% HCl 混合酸溶液作为提取溶液,水浴振荡提取温度为 60 ℃,提取时间为 45 min。

2.1.3 微波消解法条件

螺旋藻中含有丰富的蛋白质,高达 60% ~ 70%,不容易消解,双氧水具有强氧化性,故采用硝酸-双氧水体系进行消解。

2.2 ICP-MS 干扰及校正

ICP-MS 的干扰可分为质谱干扰和非质谱干扰(基体效应),质谱干扰主要是由同量异位素、多原子离子、双电荷产生的,实验中通过同位素选择(<sup>111</sup>Cd、<sup>208</sup>Pb)、优化仪器条件(氧化物 156/140 ≤ 0.923%,双电荷 70/140 ≤ 1.060%)、八级杆氦气碰撞反应池滤除干扰离子和四级杆质量分析器滤除非质荷比分析离子等方法减少质谱干扰。非质谱干扰主要源于基体效应,超声提取法、水浴振荡提取法可快速提取螺旋藻中的铅、镉,但提取液中可能含有部分无机盐和有机物基体。实验中通过 HMI 气溶胶稀

释降低总溶解固体物,冷凝雾化减小基体效应,≤ 0.46 mm 的截取锥使耐基体度提高,Ωmega 二次 90°偏转彻底滤除中性降低背景噪音和在线内标元素进行校正等方法克服基体效应。

2.3 线性关系与检出限

线性回归方程及检出限如表 3 所示。对 3 种不同前处理方法的试剂空白溶液进行连续 11 次测定,以 3 倍标准偏差所对应的浓度计算检出限。超声提取法和水浴振荡提取法对酸的需求量少,样品溶液不容易被污染,试剂空白值低,由表 3 可以看出超声提取法和水浴振荡提取法具有更低的检出限。

表 3 线性回归方程及检出限  
Table 3 The linear regression equation and detection limit

元素	线性回归方程	相关系数	线性范围/(μg·L <sup>-1</sup> )	检出限/(μg·kg <sup>-1</sup> ; n = 11)		
				超声提取法	水浴振荡提取法	微波消解法
<sup>111</sup> Cd	Y = 0.076 7x + 0.010 4	1.000 0	0 ~ 10	1.17	1.09	3.38
<sup>208</sup> Pb	Y = 0.176 5x + 0.032 2	0.999 5	0 ~ 10	2.56	2.54	6.25

2.4 测定结果及重复性试验

按照 3 种不同的前处理方法,对螺旋藻样品各进行 6 份平行样试验,分别测定铅、镉元素,计算含量及相对标准偏差(RSD)。结果(表 4)表明,3 种方法的测

定结果具有较好的一致性,超声提取法、水浴振荡提取法的测试结果与微波消解法差异无统计学意义(*p* > 0.05)。计算得到的 RSD 值在 1.2% ~ 4.8%,3 种不同的前处理方法测得的结果均有较好的重复性。

表 4 三种不同前处理方法样品测定的结果及精密度(n = 6)

Table 4 The determination results of samples and precision by three different preparation methods(n = 6)

元素	超声提取法		水浴振荡提取法		微波消解法	
	平均值/(mg·kg <sup>-1</sup> )	RSD/%	平均值/(mg·kg <sup>-1</sup> )	RSD/%	平均值/(mg·kg <sup>-1</sup> )	RSD/%
<sup>111</sup> Cd	0.052	3.8	0.051	2.6	0.054	4.8
<sup>208</sup> Pb	0.49	1.2	0.51	1.9	0.53	2.0

2.5 加标回收试验

分别取上述螺旋藻样品,进行铅、镉元素加标回收试验,结果见表 5,超声提取法的加标回收率在 91.7% ~ 99.4%,水浴振荡提取法加标回收率在

97.2% ~ 98.4%,微波消解法加标回收率在 91.0% ~ 102.3%。采用 3 种不同的前处理方法测定螺旋藻中的铅、镉元素均有较好的回收率。

表 5 三种不同前处理方法样品的加标回收率(n = 4)

Table 5 Recovery rate of samples by three different preparation methods(n = 4)

元素	前处理方法	本底值/(μg·L <sup>-1</sup> )	加标量/(μg·L <sup>-1</sup> )	测定值/(μg·L <sup>-1</sup> )	平均回收率/%	RSD/%
<sup>111</sup> Cd	超声提取法	0.317	0.5	0.799 ~ 0.824	99.4	2.0
	水浴振荡提取法	0.306	0.5	0.776 ~ 0.799	97.2	1.8
	微波消解法	0.324	0.5	0.754 ~ 0.808	91.0	3.5
<sup>208</sup> Pb	超声提取法	2.956	3.0	5.655 ~ 5.817	91.7	2.2
	水浴振荡提取法	3.071	3.0	5.997 ~ 6.104	98.4	1.2
	微波消解法	3.177	3.0	6.117 ~ 6.321	102.3	1.4

2.6 标准物质验证

为进一步验证方法的准确性,对 GBW10020 柑橘叶、GBW10047 胡萝卜 2 种生物成分分析标准物质

进行测定,结果显示(表 6),3 种前处理方法测定生物成分分析标准物质中铅、镉的测定值均在参考值范围内。

表 6 标准物质分析结果( $n=4$ )  
Table 6 Analytical results for standard material( $n=4$ )

元素	前处理方法	GBW10020			GBW10047		
		标准值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	测定值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	RSD/%	标准值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	测定值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	RSD/%
$^{111}\text{Cd}$	超声提取法	$0.17 \pm 0.02$	0.18	1.2	$0.034 \pm 0.004$	0.030	3.7
	水浴振荡提取法	$0.17 \pm 0.02$	0.17	2.4	$0.034 \pm 0.004$	0.031	3.4
	微波消解法	$0.17 \pm 0.02$	0.17	3.4	$0.034 \pm 0.004$	0.033	3.5
$^{208}\text{Pb}$	超声提取法	$9.7 \pm 0.9$	9.2	1.2	$0.43 \pm 0.07$	0.41	2.2
	水浴振荡提取法	$9.7 \pm 0.9$	9.3	1.8	$0.43 \pm 0.07$	0.37	3.9
	微波消解法	$9.7 \pm 0.9$	10.0	1.6	$0.43 \pm 0.07$	0.44	4.4

### 3 结论

采用超声提取法、水浴振荡提取法和微波消解法 3 种前处理方法-电感耦合等离子体质谱测定螺旋藻中铅、镉元素含量,测定结果具有较好的一致性,具有良好的准确度和精密度。3 种方法对国家标准物质(GBW10020,GBW10047)进行处理,铅、镉的测定结果均在参考值范围内。与传统的微波消解法相比,超声提取法和水浴振荡提取法操作简单,用酸量少,分析处理时间短,具有节能、环保、可靠等优点,降低了样品污染和分析物损失的风险,具有更低的样品空白值和方法检出限。因此,超声/水浴振荡提取-电感耦合等离子体质谱法适用于螺旋藻中铅、镉元素的快速测定。

### 参 考 文 献

- [1] GUPTAR C. Nutraceuticals; Efficacy, Safety and Toxicity [M]. Sact Lake City: Academic Press, 2016: 569–583.
- [2] SONI R A, SUDHAKAR K, RANA R S. *Spirulina*-from growth to nutritional product: A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 69:157–171.
- [3] AL-HOMAIDAN A A. Heavy metal levels in Saudi Arabian *Spirulina* [J]. Pakistan J Biol Sci, 2006, 9(14): 2 693–2 695.
- [4] AL-DHABI N A. Heavy metal analysis in commercial *Spirulina* products for human consumption [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2013, 20(4): 383–388.
- [5] KHAN N, JEONG I S, HWANG I M, et al. Analysis of minor and trace elements in milk and yogurts by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) [J]. Food Chemistry, 2014, 147(4): 220–224.
- [6] NARDI E P, EVANGELISTA F S, TORMEN L, et al. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential ele-

- ments in different types of food samples [J]. Food Chemistry, 2009, 112(3): 727–732.
- [7] ŞAHAN Y, BASOGLU F, GÜÇER S. ICP-MS analysis of a series of metals (Namely: Mg, Cr, Co, Ni, Fe, Cu, Zn, Sn, Cd and Pb) in black and green olive samples from Bursa, Turkey [J]. Food Chemistry, 2007, 105(1): 395–399.
- [8] BENTLIN F R S, DOS SANTOS C M M, FLORES É M M, et al. Lanthanides determination in red wine using ultrasound assisted extraction, flow injection, aerosol desolvation and ICP-MS [J]. Analytica Chimica Acta, 2012, 710(2): 33–39.
- [9] KRISHNA M V B, ARUNACHALAM J. Ultrasound-assisted extraction procedure for the fast estimation of major, minor and trace elements in lichen and mussel samples by ICP-MS and ICP-AES [J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 522(2): 179–187.
- [10] BAKIRCIOGLU D, KURTULUS Y B, YURTSEVER S. Comparison of extraction induced by emulsion breaking, ultrasonic extraction and wet digestion procedures for determination of metals in edible oil samples in Turkey using ICP-OES [J]. Food Chemistry, 2013, 138(2): 770–775.
- [11] ALVAREZ J, MARCO L M, ARROYO J, et al. Determination of calcium, potassium, manganese, iron, copper and zinc levels in representative samples of two onion cultivars using total reflection X-ray fluorescence and ultrasound extraction procedure [J]. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2003, 58(12): 2 183–2 189.
- [12] BETTINELLI M, BEONE G M, SPEZIA S, et al. Determination of heavy metals in soils and sediments by microwave-assisted digestion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry analysis [J]. Analytica Chimica Acta, 2000, 424(2): 289–296.
- [13] TARANTINO T B, BARBOSA I S, LIMA D C, et al. Microwave-assisted digestion using diluted nitric acid for

- multi-element determination in rice by ICP OES and ICP-MS [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10 (4): 1 007 – 1 015.
- [14] MULLER E I, MULLER C C, SOUZA J P, et al. Green microwave-assisted wet digestion method of carbohydrate-rich foods with hydrogen peroxide using single reaction chamber and further elemental determination using ICP-OES and ICP-MS [J]. Microchemical Journal, 2017, 134: 257 – 261.
- [15] HABTE G, CHOI J Y, NHO E Y, et al. Determination of essential and toxic elements in tropical fruit by microwave-assisted digestion and inductively coupled plasma – mass spectrometry [J]. Analytical Letters, 2017, 50 (6): 1 025 – 1 039.
- [16] GUO Z, CHENG J, SUN H, et al. A qualitative and quantitative evaluation of the peptide characteristics of microwave- and ultrasound-assisted digestion in discovery and targeted proteomic analyses [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2017, 31 (16): 1 353 – 1 362.
- [17] AHMED M, KHALEEQ A, MUNIR R, et al. Determination of macronutrients, micronutrients, non-essential elements in milk based-infant formulas by atomic absorption and inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy after microwave and ultrasound assisted digestion [J]. Spectroscopy Letters, 2017, 50(2): 88 – 95.

## Comparison of the different preparation methods for determination of lead and cadmium in *Spirulina* by inductively coupled plasma mass spectrometry

ZHOU Mei-li, YANG Zi-qiu, YANG Wei, YANG Chun-hua, FAN Xiao-xu,  
LIU Ze-hong

(Food Inspection and Testing Institute of Dali, Dali 671000, China)

**ABSTRACT** The content of elements (lead, cadmium) in *Spirulina* was determined using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Ultrasonic extraction and water bath oscillation extraction were compared by microwave digestion as a possible alternative to conventional pretreatment methods. The three methods were evaluated by comparing the accuracy, detection limit, repeatability, recovery, processing time, the reagent consumption, et al. Analytical results of the three methods showed a good agreement, were found to have satisfactory accuracy and precision. The content of lead and cadmium in national standard material (GBW10020, GBW10047) were in the ranges of reference values by the three methods. Compared with traditional microwave digestion, ultrasonic extraction and water bath oscillation extraction were found to have lower detection limits, are characterized by convenient procedure, less processing time, less reagent consumption, energy-saving, and environmentally friendly. Ultrasonic extraction and water bath oscillation extraction are suitable for the rapid determination of lead and cadmium in *Spirulina*.

**Key words** ultrasonic extraction; water bath oscillation extraction; microwave digestion; inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS); *Spirulina*; lead; cadmium