

石墨炉原子吸收光谱法测定雨生红球藻中铅含量*

王朝军, 万庆家, 武金坤, 鸭 乔, 史晓晨

(云南绿 A 生物工程有限公司, 云南昆明 650106)

[摘 要] 对雨生红球藻中铅含量检测方法进行研究, 以可控恒温加热板对雨生红球藻进行炭化前处理, 磷酸二氢铵作为基体改进剂, 考察了样品前处理、基体改进剂用量、灰化温度、原子化温度对测定的影响。通过优化测定条件, 确定 Zeeman 石墨炉原子吸收光谱法测定雨生红球藻中铅含量的方法。并通过测定国家标准物质杨树叶和茶叶进行验证, 方法灵敏度高, 重现性好。该方法可用于雨生红球藻生产全过程铅含量控制检验, 对雨生红球藻食品安全具有重要意义。

[关键词] Zeeman 石墨炉原子吸收; 雨生红球藻; 基体改进剂; 铅

中图分类号: R284 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2010)04—0019—03

雨生红球藻 (*Haematococcus*) 是一种单细胞绿藻, 属于绿藻门 (*Chlorophyta*), 绿藻纲 (*Chlorophyceae*), 团藻目 (*Volvocales*), 红球藻科 (*Haematococcaceae*), 红球藻属 (*Haematococcus*)。雨生红球藻在适合生长的状态下, 以游动的绿色营养细胞存在。在不利生存的条件下, 细胞失去鞭毛, 原生质体变圆, 胶被逐步消失, 并形成厚厚的囊壳, 成为厚壁孢子, 其中积累大量的虾青素而呈红色、深红色, 被公认为自然界天然虾青素的主要来源。

雨生红球藻蛋白质达到 20% ~ 30%, 它还含有人体所需要的 18 种氨基酸和铁、铜、锌、锰、硒等人体必须微量元素, 其所含的天然虾青素是一种抗氧化能力很强的类胡萝卜素, 抗氧化活性比其他类胡萝卜素高 10 倍, 是维生素 E 的 100 ~ 550 倍, 可有效清除体内多余的自由基, 还可穿过细胞膜和血脑屏障, 直接与肌肉组织结合, 在人体中发挥重要的生理作用。研究表明^[1]: 天然虾青素具有眼睛和中枢神经系统的保护、防紫外线辐射、抑制肿瘤、抗炎抗感染、缓解运动疲劳、增强免疫力、预防心血管疾病七大功能。

随着对雨生红球藻认识的不断深入, 其安全性也越来越受到人们的关注。雨生红球藻在培植过程中由于环境水体的影响, 也会吸附对人体有害的重

金属铅元素, 因此检测雨生红球藻中的铅含量具有相当重要的意义。本文通过对石墨炉原子吸收光谱法测定雨生红球藻中铅的各项仪器参数及基体改进剂的研究, 建立更为准确的 Zeeman 石墨炉原子吸收法检测雨生红球藻中的微量铅含量。

1 试验研究

1.1 仪器和试剂

Varian AA - 240Z 石墨炉原子吸收光谱仪, GTA - 120Z 石墨炉程序控制器, 热解涂层石墨管。5mg · mL⁻¹ NH₄H₂PO₄ (AR), 超纯水用 Millipore (Academic) 制备。铅标准溶液: 1 000mg · L⁻¹ 储备液 (国家标准物质研究中心制备), 临用配成 20.0ng · mL⁻¹ 使用液, 硝酸 - 水 (2 - 98) 介质。雨生红球藻试验研究样品由云南绿 A 生物工程有限公司提供。杨树叶 (GBW07604)、茶叶 (GBW07605) (国家标准物质研究中心制备)。

1.2 仪器工作条件

波长 283.3nm, 灯电流 5mA, 光谱通带 0.5nm, Zeeman 背景校正, 峰高测试, 标准曲线法定量。

1.3 样品处理

* 基金项目: 科技创新强省计划 (省院省校科技合作专项) NO: 2007AD009

收稿日期: 2010—06—08 修回日期: 2007—07—14

作者简介: 王朝军 (1980 ~), 男, 云南屏边人, 工程师, 从事微藻开发与应用研究。

精确称取样品 0.2~0.3g 于瓷坩埚内，可控温电加热板上炭化至无烟，放入马弗炉内于 550℃ 灰化 6h，取出加入硝酸 2mL 溶解残渣，定容于 20mL 量瓶，同时作试剂空白。

2 结果

2.1 样品前处理

本方法选择了取样量 0.2~0.3g，采用与英国^[2]和美国^[3]检测食品中微量元素相似前处理方法，通过精确的恒温控制进行样品的炭化处理，试验发现炭化过程温度过高不利于样品后期的灰化。如样品前处理不完全则在后期加酸溶解过程不能被充分溶解，会影响样品中铅含量检测结果的准确性。前处理样品采用恒温加热板，可提高样品处理过程中的可控性，减少污染或损失。

2.2 基体改进剂

铅元素在高温下具有一定挥发性，灰化阶段的温度过高则容易出现待测元素损失的现象，且该损失量与灰化温度呈一定的线性关系。基体改进剂主要作用是待测元素结合后生成难溶性、高分解温度、高挥发温度的物质，使待测物质在灰化阶段能有有效的保留，直到原子化阶段才被分解后使待测元素被有效检测。由于检测样品基体的复杂程度不同，所以铅含量检测基体改进剂也有多种多样，目前运用较为广泛且机理较为明确的基体改进剂有：钡溶液、NH₄H₂PO₄ 溶液、MgNO₃ 溶液等。通过对比试验和浓度试验本文选择 NH₄H₂PO₄ 作为雨生红球藻中测定铅元素的基体改进剂，且 NH₄H₂PO₄ 浓度为 5.0mg·mL⁻¹ 时，雨生红球藻和标准溶液得到最大吸收值。

试验结果表明，未加基体改进剂铅的允许灰化温度仅为 500℃，合理基体改进剂的引入可有效地提高检测中允许的灰化温度。可将铅的灰化温度提高至 700℃，通过灰化温度的提高有利于减少雨生

红球藻粉的基体效应。试验结果见表 1。

表 1 雨生红球藻样品及标准溶液基体改进效应表/Abs

灰化温度 样品信息	350℃	400℃	500℃	550℃	600℃	700℃
未加基改样品	0.073	0.075	0.076	0.068	0.032	0.03
样品 + NH ₄ H ₂ PO ₄ 基改	0.076	0.078	0.08	0.083	0.08	0.078
样品背景吸收	0.099	0.092	0.081	0.073	0.068	0.065
纯铅标液 + NH ₄ H ₂ PO ₄ 基改	0.107	0.112	0.116	0.12	0.121	0.112

2.3 石墨炉程序设计

由于样品前处理的优化和基体改进剂的加入提高了仪器检测灵敏度，通过合理化石墨炉程序设置可进一步提高检测精度，同时可延长石墨炉仪器耗材的使用寿命。

试验结果表明，在以 5.0mg·mL⁻¹ NH₄H₂PO₄ 为基体改进剂情况下，在 600℃ 灰化后样品能有效将其他干扰杂质消除，有效降低背景吸收，使信号达到最佳值。结合仪器的优化条件、灰化温度控制参数，最终确定灰化过程分两个阶段升温每个小阶段 3s，可让背景降到理想状态。铅元素原子化阶段温度通常在 1 700~2 400℃ 之间，高温极容易使得石墨炉中石墨管的寿命大大缩短，以合理的原子化温度达到预期理想的吸光度值，可以有效的延长石墨炉原子吸收中石墨管与石墨锥的使用寿命，以及延长仪器中电器部分的使用寿命。通过考察藻粉样品、Pb 标液不同原子化温度与原子吸收信号的关系，实验数据如下表 2 所示。选择了最佳的原子化温度和时间是 2 100℃，0.9s，2s。通过实验最终优化仪器参数如表 3。

表 2 原子化温度与吸光度值对比情况表/Abs

原子化温度 样品信息	1 700℃	1 800℃	1 900℃	2 000℃	2 100℃	2 200℃	2 300℃
雨生红球藻样品 + NH ₄ H ₂ PO ₄ 基改	0.077	0.08	0.083	0.081	0.083	0.085	0.083
10ng/mL Pb 溶液 + NH ₄ H ₂ PO ₄ 基改	0.092	0.114	0.11	0.115	0.109	0.111	0.107

表 3 石墨炉升温程序表

步骤	温度/℃	时间/s
1	85	5.0
2	9	30.0
3	120	20.0
4	250	5.0
5	600	3.0
6	600	3.0
7	2 100	0.9
8	2 100	2.0
9	2 300	2.0

2.4 结果比较与验证

按试验方法测定了国家标准物质杨树叶 [GBW07604，标准值 (1.5 ± 0.3) mg · kg⁻¹] 与茶叶 [GBW07605，标准值 (4.4 ± 0.3) mg · kg⁻¹] 中的铅含量，其测定结果与标准物质标示量相符，检验方法准确性较高，结果令人满意 (检测结果见表 4)。试验同时还测试了雨生红球藻样品，从检测结果看样品中铅含量均低于 2mg · kg⁻¹，藻粉质量状况良好。

表 4 样品测定结果/mg · kg⁻¹

样品	结果						$\bar{x} + s$
杨树叶 (GBW07604)	1.51	1.45	1.60	1.53	1.57	1.55	1.535
							+0.052
茶叶 (GBW07605)	4.41	4.33	4.37	4.29	4.55	4.25	4.367
							+0.106
雨生红球藻 粉样品 1#	1.55	1.48	1.49	1.57	1.60	1.53	1.537
							+0.046
雨生红球藻 粉样品 2#	1.11	1.15	1.16	1.21	1.13	1.26	1.170
							+0.055
雨生红球藻 粉样品 3#	1.33	1.25	1.27	1.31	1.24	1.21	1.268
							+0.045

3 讨论

食品与人们的日常生活联系密切，食品安全性研究一直是各种研究的热点。国家针对食品安全颁布过相应的食品中污染物限量国家标准，但由于食品种类繁多、样品情况复杂，往往在实际检测过程中会遇到各类问题。例如样品重金属含量检测过程由于样品基体的复杂性带来的干扰、由于样品前处理方法不当带来的检测结果不准确等情况，均不能通过某一检测标准涵盖。若不对检测标准不足之处进行细化补充，仅根据检测标准直接操作，则很难保证检测样品结果的真实性和准确性。本文通过对雨生红球藻中重金属铅含量检测研究，根据雨生红球藻样品基体复杂性和样品自身特性，结合国内外重金属检验方法采取合理措施，通过加强样品前处理控制、调整基体改进剂、优化仪器设备参数等，解决了重金属检测中的问题，建立了准确检测雨生红球藻中铅含量的 Zeeman 石墨炉原子吸收光谱法。

本文对雨生红球藻中重金属铅含量检测研究方法具有一定的系统性，可推广运用于其他样品重金属检测方法的研究中。本文所建立的重金属检测方法可广泛用于雨生红球藻及其他藻类的生产控制，对于食品安全控制具有重要意义。

[参考文献]

[1] 付桂. 天然虾青素的生物保健功能及安全性概述 [J]. 国外医学卫生学分册, 2007, 34 (6): 382 – 386.

[2] BS EN 14082 : 2003 Foodstuffs – Determination of trace elements – Determination of lead, cadmium, zinc, copper, iron and chromium by atomic absorption spectrometry (AAS) after ash drying.

[3] AOAC Official Method 999. 11 Determination of Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods(atomic Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing)

(编辑：迟 越)

Determination of the Content of *Plumbum* in *Haematococcus Pluvialis* Powders with GFAAS

WANG Chao – jun , WAN Qing – jia , WU Jin – kun , YA Qiao , ShI Xiao – chen
(Yunnan Green A Biological Project Co. , Ltd , Kunming Yunnan 650106 , China)

[ABSTRACT] GFAAS was used for the direct determination of *plumbum* in *Haematococcus pluvialis* powders , the instrument parameters were discussed and optimized. The method of TPD was applied to deal with the samples , and NH₄H₂PO₄ was added as matrix modifier , and then the content of *plumbum* was measured by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS). This method is accurate and reliable. It can be used in measuring the content of *plumbum* in *Haematococcus pluvialis* powders , so it is important to food Safety.

[KEY WORDS] Zeeman – GFAAS ; *Haematococcus pluvialis* ; matrix modifier ; *Plumbum*