

比较湿法消解 - 干法灰化测定松花粉中总砷

彭珍华, 张雪媛, 牛之瑞, 王吉祥, 胡赠彬, 杨凡, 谭建林*

云南省产品质量监督检验研究院/国家热带农副产品质量监督检验中心, 云南 昆明
Email: *ynzjtg@126.com

收稿日期: 2021年3月23日; 录用日期: 2021年5月10日; 发布日期: 2021年5月17日

摘要

比较不同前处理方法的处理效果, 选择适合松花粉中总砷测定的前处理方法。分别采用湿法消解、干法灰化对松花粉样品进行前处理, 利用氢化物原子荧光法测定总砷含量。两种前处理方式的检测结果均满足方法学要求, 湿法消解和干法灰化的回收率分别为91.3%~102.8%, 80.2%~88.9%, 精密度分别为2.06%~2.86%和8.82%~8.92%; 检出限分别为0.0068、0.0046 mg/kg。湿法消解法操作简便、准确性好, 适合松花粉批量产品检测。

关键词

湿法消解, 干法灰化, 总砷, 松花粉

Comparison of Wet Digestion and Dry Ash-Hydrogenation Methods for Determination of Total Arsenic in Pine Pollen Products

Zhenhua Peng, Xueyuan Zhang, Zhirui Niu, Jixiang Wang, Zengbin Hu, Fan Yang, Jianlin Tan*

Yunnan Institute of Product Quality Supervision & Inspection, National Agricultural and Sideline Products Quality Supervision and Inspection Center, Kunming Yunnan
Email: *ynzjtg@126.com

Received: Mar. 23rd, 2021; accepted: May 10th, 2021; published: May 17th, 2021

Abstract

To select a suitable pretreatment method for the determination of total arsenic in Pine Pollen

*通讯作者。

文章引用: 彭珍华, 张雪媛, 牛之瑞, 王吉祥, 胡赠彬, 杨凡, 谭建林. 比较湿法消解 - 干法灰化测定松花粉中总砷[J]. 食品与营养科学, 2021, 10(2): 80-86. DOI: 10.12677/hjfn.2021.102011

products by comparing the effects of different pretreatment, the samples Pine Pollen products were pretreated by wet digestion and dry ashing respectively, and the total arsenic content was determined by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. The results of 2 pretreatment methods all met the requirements of methodology. The recoveries of wet digestion and dry ashing were 91.3%~102.8%, 80.2%~88.9%; and the precision were 2.06%~2.86% and 8.82%~8.92% respectively. The detection limits were 0.0068 and 0.0046 mg/kg. The wet digestion method is simple, accurate, and suitable for batch product testing of Pine Pollen.

Keywords

Wet Digestion, Dry Ashing, Total Arsenic, Pine Pollen

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

松花粉在医学中又名松花, 松属植物的单性花, 是我国传统食药兼用的花粉品种, 并于 2014 年列入国家中药材标准[1]。研究发现松花粉营养成分和生物活性成分丰富, 含多种蛋白质、氨基酸、酶、维生素、矿物质、核酸、黄酮类化合物、糖类化合物、胆碱、植物甾醇等 200 余种物质[2] [3], 且搭配合理, 营养均衡、全面, 易于人体吸收。

松花粉中不仅含有大量的矿物质元素, 可以有效补充人体的钙、铁、锌等, 并且还对重金属离子具有一定的吸附性能[4] [5]。松花粉中富含黄酮类、多酚类、维生素类物质, 具有清除自由基、抗氧化和抑制肿瘤的功效[6]。松花粉中膳食纤维含量很高, 尤其是木质素, 肠道内微生物无法消化大分子纤维类物质, 有利于通便润肠[6]。松花粉可通过调节机体的血糖和血脂的代谢。提高其糖耐量, 缓解糖尿病症状[7]。松花粉中的多糖和甾醇等物质可以调节血脂代谢[8]。松花粉含有松树植株所具有的一切营养成分和生命活性物质, 其成分稳定、易被机体吸收利用, 具有延缓衰老的作用[9]。

砷是一种对人体有害的类金属污染物。砷通过呼吸道、消化道和皮肤接触进入人体, 如摄入量超过排泄量, 砷就会在人体多数器官中蓄积, 从而引起砷中毒。砷还有致癌作用, 能引起皮肤癌。其化合物如氧化物和砷酸盐毒性较大, 能够通过呼吸、饮水、食物等途径进入机体产生不同程度的毒性作用[10] [11]。

总砷是松花粉一项重要的重金属污染物指标。对于松花粉总砷的限量要求, GB 2762-2017《食品安全国家标准食品中污染物的限量》[12]中明确规定了总砷含量最高为 0.5 mg/kg, 且标准中要求的检测标准为 GB 5009.11-2014《食品安全国家标准食品中总砷及无机砷的测定》[13], 前处理方法有湿法消解和干法灰化。

目前虽然有不同前处理方法在食品中的相关研究报道, 但其研究基质主要是大米、海产品、油炸食品等, 对松花粉中总砷的测定研究报道还没有。

本研究拟采用湿法消解和干法灰化两种方法分别对松花粉进行前处理, 使用氢化物原子荧光法测定待测样品中总砷含量, 分析比较两种不同前处理样品所测结果的精密度、准确度和检出限, 从而得出适合松花粉中总砷检测的前处理方法。

2. 材料与方法

2.1. 材料与仪器

松花粉本地采购; 砷: 1000 mg/L, 编号 GSB04-1714-2004, 国家有色金属及电子材料分析测试中心;

实验用水 Milli-Q 去离子水, 美国 Millipore 公司; 所有前处理所用有机试剂均为国产分析纯。

SA710 原子荧光光谱仪, 北京普析通用仪器有限责任公司; 0.1 mg 分析天平, 瑞士梅特勒公司; Research® plus 20~200 μL 和 10~1000 μL 移液枪, 德国 Eppendorf 公司; BGG-X8 可调式电热炉, 长沙实验电炉厂; 马弗炉, 美国 CEM 公司。

2.2. 实验方法

2.2.1. 试剂及标准系列溶液配制

还原剂: 称取硼氢化钾 10.0 g, 氢氧化钠 2.5 g, 用超纯水溶解, 定容至 500 mL。

载流: 5% 盐酸溶液。

硫脲 + 抗坏血酸溶液: 称取 10.0 g 硫脲, 10.0 g 抗坏血酸, 用超纯水溶解, 定容至 100 mL。

标准溶液配制: 通过逐级稀释砷标准储备溶液, 配制成 1 mg/L 的砷标准中间液。取 50 mL 容量瓶, 加入一定量 1 mg/L 的砷标准中间液, 最后加入 2.5 mL 盐酸及 4 mL 硫脲+抗坏血酸溶液, 纯水定容, 混匀, 配制成浓度为 0、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、20.0 $\mu\text{g/L}$ 的标准系列工作溶液。

2.2.2. 样品前处理

1) 湿法消解

三个松花粉分别编号为 1、2、3 号, 称取 0.5 g 样品(精确至 0.0001 g)于 100 mL 高脚烧杯中, 加入硝酸 + 高氯酸(4 + 1) 5 mL 及 1 mL 硫酸, 加盖玻璃表面皿放置过夜。次日, 置电热板上消化完全, 冷却至室温, 加 20 mL 水赶酸至近 0.5 mL, 冷却后转入 25 mL 比色管中, 加入硫脲+抗坏血酸溶液 2 mL, 用 5% 盐酸定容至刻度, 摇匀, 同时做试剂空白。

2) 干灰化法

称取 0.5 g 样品(精确至 0.0001 g)于 50 mL 坩埚中, 加入 150 g/L 的硝酸镁溶液 2 mL 及 1 g 氧化镁静置过夜, 于电热板上加热炭化, 炭化完全后置 500 $^{\circ}\text{C}$ 马伏炉中灰化 5 h, 冷却至室温, 加少许 5% 盐酸润湿灰分, 加 4 mL 盐酸中和氧化镁, 直至样品全部溶解, 转入 25 mL 比色管中, 加入硫脲+抗坏血酸溶液 2 mL, 用 5% 盐酸定容至刻度, 摇匀, 同时做试剂空白。

2.2.3. 仪器工作条件

砷空心阴极灯主电流 30 mA, 辅电流 15 mA; 负高压 265 V; 原子化器温度 200 $^{\circ}\text{C}$; 载气流量 300 mL/min; 屏蔽气流量 600 mL/min; 样品进样量 1.0 mL; 测量方法: 标准曲线法; 读数方式: 峰面积; 延迟时间 1 s; 读数时间 15 s。

3. 结果与分析

3.1. 湿法消解温度的选择

湿法消解采用硝酸、高氯酸、硫酸 3 种混合强酸进行消解, 能提高消解温度和消解效率, 本实验在 180 $^{\circ}\text{C}$ 、200 $^{\circ}\text{C}$ 、250 $^{\circ}\text{C}$ 、300 $^{\circ}\text{C}$ 、350 $^{\circ}\text{C}$ 的温度下对松花粉进行消化, 发现 300 $^{\circ}\text{C}$ 能将有机砷彻底分解成无机砷, 由该消解方法得到的松花粉, 加标回收率在 91.8%~97.3%。

3.2. 湿法消解预还原剂的确定

无机砷的形态以砷(V)和砷(III)存在, 而砷(V)不易形成挥发的砷化氢, 直接用硼氢化钾还原不完全, 造成测定结果偏低, 需要加入足量的预还原剂才能确保 As(V)完全转化为 As(III)。且将高价态砷还原为三价砷需要一定的反应时间, 预还原剂用量或预还原时间不足, 也会导致测定结果偏低。本实验采用硫

脲-抗坏血酸作为预还原剂，既提高了体系的还原能力，也延长了预还原剂的保存时间。实验表明，室温下加入 100 g/L 硫脲 - 抗坏血酸，放置 30 min 以上荧光强度趋于稳定。

3.3. 干灰化法覆盖层氧化镁用量的选择

氧化镁可以减少坩埚对样品的吸留，在碳化过程会快速燃烧造成砷吸收剂轻质氧化镁覆盖层的破坏，导致样品飞溅、砷化物挥发。本实验分别加入 0.5、1.0、2.0、3.0 g 的氧化镁，结果表明：当氧化镁浓度在 1.0 g 时，样品平行性较好，故本实验选择加入氧化镁的质量为 1.0 g。

3.4. 载液与其浓度的确定

气态物发生需要一定的酸性环境，酸的浓度增大，荧光强度会明显增高，但酸浓度太大时荧光强度呈现下降趋势；酸浓度过低也会使砷的气态物无法形成。由于湿法消解的时候加入大量的硝酸，造成硝酸本底较高，故采用硝酸作为载液。本实验分别选取 1%、5%、10% 的硝酸作为载液。结果表明：硝酸浓度从 1% 升至 5%，砷的荧光强度明显增高，当硝酸浓度继续升高至 10% 时，砷的荧光强度有所减弱。因此本实验选择 5% HNO_3 作为载液，在此条件下，既能得到较高的灵敏度，还减少了酸的用量，并获得满意的测定结果。

3.5. 硼氢化钾浓度的确定

在氢化物发生过程中，硼氢化钾作为还原剂对方法的灵敏度、准确度和稳定性有很大影响。硼氢化钾浓度过高，会产生大量的氢气，具有稀释作用，使荧光强度降低，方法灵敏度降低；浓度过低，还原能力差，气态物难以形成，灵敏度降低。本实验分别选取了 5、10、20、30、40 g/L 的硼氢化钾进行实验，结果表明：当硼氢化钾浓度在 20 g/L 时，荧光强度趋于稳定，故本实验选择硼氢化钾溶液浓度为 20 g/L。

3.6. 线性方程

按照 2.2.3 设定仪器条件，仪器达到稳定后对 0、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、20.0 $\mu\text{g/L}$ 的砷标准溶液进行测定，以质量浓度作为横坐标、荧光强度作为纵坐标，绘制标准曲线，结果表明，砷在 0~20 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围内线性关系良好，线性回归方程为： $I_f = 119.0676 * C - 9.8838$ ，相关系数为 $r = 0.99986$ 。式中 I_f 为荧光强度， C 为质量浓度： $\mu\text{g/L}$ 。

3.7. 方法检出限

分别对采用湿法消解、干灰化法处理的试剂空白溶液进行 11 次连续测定，根据 3 倍标准偏差与对应的砷工作曲线斜率分别求出湿法消解、干法灰化的仪器检出限为 0.0068、0.0046 mg/kg，满足国家标准 GB 5009.11-2014 总砷检出限(0.010 mg/kg)的要求。

3.8. 精密度

分别对 3 个松花粉样品采用湿法消解、干灰化法的 6 个平行进行测定，结果见表 1。由表 1 可见，两种消解方法相比干法消解结果的分散性较大，相对标准偏差比较大(8.85%~9.04%)，湿法消解的重复性比较好，相对标准偏差范围为 2.06%~2.86%，精密度高。

3.9. 回收率

3 份松花粉样品中取 6 个平行分别加入与样品测定值接近的砷标准溶液，与样品一同湿法消解、干灰化法，上机测定。结果见表 2。由表 2 可见，两种消解方法相比干法消解回收率低，范围为 82.3%~86.0%，

湿法消解的回收率较高, 回收率为 91.8%~97.3%, 结果显示湿法消解相比较于干法消解更适应于松花粉中总砷含量测定的前处理。

Table 1. Method precision experiment

表 1. 方法精密度实验

| 样品 | 消解方式 | 测定结果(mg/kg) | | | | | | 平均值(mg/kg) | RSD(%) |
|-------|------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| 松花粉-1 | | 0.133 | 0.125 | 0.136 | 0.130 | 0.129 | 0.131 | 0.131 | 2.86 |
| 松花粉-2 | 湿法消解 | 0.178 | 0.188 | 0.179 | 0.184 | 0.183 | 0.185 | 0.183 | 2.06 |
| 松花粉-3 | | 0.201 | 0.198 | 0.194 | 0.190 | 0.197 | 0.189 | 0.195 | 2.42 |
| 松花粉-1 | | 0.117 | 0.129 | 0.110 | 0.130 | 0.127 | 0.105 | 0.120 | 8.85 |
| 松花粉-2 | 干灰化法 | 0.150 | 0.156 | 0.160 | 0.189 | 0.180 | 0.163 | 0.166 | 9.04 |
| 松花粉-3 | | 0.162 | 0.166 | 0.199 | 0.175 | 0.160 | 0.188 | 0.175 | 8.92 |

Table 2. Standard recovery experiment

表 2. 加标回收率实验

| 样品号 | 消解方式 | 本底值(mg/kg) | 加标量(mg/kg) | 测定值(mg/kg) | 回收率(%) | 平均回收率(%) |
|-------|------|------------|------------|------------|--------|----------|
| 松花粉-1 | | 0.131 | 0.15 | 0.289 | 105.3 | 97.3 |
| | | | | 0.269 | 92.0 | |
| | | | | 0.273 | 94.7 | |
| 松花粉-2 | 湿法消解 | 0.183 | 0.20 | 0.365 | 91.0 | 91.8 |
| | | | | 0.364 | 90.5 | |
| | | | | 0.371 | 94.0 | |
| 松花粉-3 | | 0.195 | 0.20 | 0.395 | 100.0 | 94.0 |
| | | | | 0.378 | 91.5 | |
| | | | | 0.376 | 90.5 | |
| 松花粉-1 | | 0.120 | 0.15 | 0.253 | 88.7 | 86.0 |
| | | | | 0.245 | 83.3 | |
| | | | | 0.249 | 86.0 | |
| 松花粉-2 | 干灰化法 | 0.166 | 0.20 | 0.333 | 83.5 | 82.3 |
| | | | | 0.340 | 87.0 | |
| | | | | 0.319 | 76.5 | |
| 松花粉-3 | | 0.175 | 0.20 | 0.341 | 83.0 | 83.8 |
| | | | | 0.323 | 74.0 | |
| | | | | 0.364 | 94.5 | |

3.10. 松花粉总砷含量测定

市面上随机采集 20 份样品, 采用(1)湿法消解进行前处理, 氢化物原子荧光法测定总砷含量。结果 20 份松花粉样品总砷最高值为 0.195 mg/kg, 最低值 0.092mg/kg, 均未超过 GB 2762-2017《食品安全国家标准食品中污染物的限量》中总砷限量值(0.5 mg/kg), 说明松花粉中砷的含量满足要求。

4. 结论

湿法消解要注意的是湿法消解的混合酸体中硝酸的沸点为 86℃, 高氯酸的沸点 200℃左右, 硫酸沸点为 338℃左右, 消解要等高氯酸的白烟散尽, 硫酸的白烟开始冒出, 才能够冷却, 加水赶酸, 加水赶酸, 否则消解液的酸度过高, 影响测定结果[14]。

经典的湿法消解, 快速安全。优点在于, 可凭经验控制温度和反应速度, 样品处理速度快, 方法设备普及。缺点是产生大量的有毒气体, 试剂消耗量较大, 空白值偏高。

干法灰化, 试剂用量少, 批处理样品量大, 空白值低。缺点是干法消解结果低于湿法消解, 原因可能是松花粉产品质轻, 易燃, 在碳化过程会快速燃烧造成砷吸收剂轻质氧化镁覆盖层的破坏, 导致样品飞溅、砷化物挥发, 另外坩埚对被测组分也有一定的吸收作用, 容易导致测定结果和回收率偏低。同时由于灰化助剂本底较高, 平行试验不理想, 不适宜消解松花粉植物性水产品。

干法消化在结果误差大, 相对标准偏差(RSD)值大, 精密度差, 回收率低。湿法消解法进行前处理的样品平行样结果误差小, 精密度好, 回收率高, 准确度好; 而且湿法消解在处理大批量样品时操作省时省力, 更适合松花粉总砷检测前处理。

食品中砷含量的检测结果准确与否, 不仅仅与样品的前处理密切相关, 还取决于实验过程每一个环节, 涉及实验室检测环境条件, 同步的空白实验, 化学试剂纯度是否符合实验要求, 标准溶液是否做了期间核查及对比实验, 仪器设备、玻璃量器是否经过检定及校正, 仪器条件是否为最佳的测试条件, 样品分析及数据处理等等。只有我们切实做好每一个环节的质量控制, 才能保证食品中总砷测定结果的准确性。

参考文献

- [1] 丁灵英. 松花粉药典[J]. 知识经济, 2006, 7(7): 44-46.
- [2] Choi, E.M. (2007) Antinociceptive and Antiinflammatory Activities of Pine (*Pinus densiflora*) Pollen Extract. *Phytotherapy Research*, **21**, 471-475. <https://doi.org/10.1002/ptr.2103>
- [3] Yang, S.F., Wei, K., Jia, F.J., Zhao, X., Cui, G., Guo, F., et al. (2015) Characterization and Biological Activity of Tai-shan *Pinus massoniana* Pollen Polysaccharide in Vitro. *PLoS ONE*, **10**, e0115638. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115638>
- [4] Wang, F.H., Tan, L.C., Liu, Q., Li, R., Li, Z., Zhang, H., et al. (2015) Biosorption Characteristics of Uranium (VI) from Aqueous Solution by Pollen Pini. *Journal of Environmental Radioactivity*, **150**, 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2015.07.002>
- [5] 王蕾, 谢月群, 张和. 松花粉对急性汞中毒大鼠肝肾的保护作用及机制研究[J]. 实用药物与临床, 2018, 21(1): 10-13.
- [6] 徐佳, 张丽梅, 王立成, 隋天卓, 王琪菲, 王丽萍. 松花粉的抗氧化作用[J]. 吉林大学学报(理学版), 2017, 55(6): 1626-1630.
- [7] 李楠, 冯振中, 赵艳, 谷从友, 朱博, 欧玉荣. 松花粉对糖尿病肾病小鼠肾脏损伤的保护作用[J]. 科技导报, 2014, 32(4):95-99.
- [8] Vasilenko, Y.K., Dukhanina, I.V. and Lazaryan, G.D. (2008) Experimental Studies of the Hypolipidemic Properties of Pollen. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, **42**, 348-350. <https://doi.org/10.1007/s11094-008-0122-x>
- [9] Mao, G.X., Zheng, L.D., Cao, Y.B., Chen, Z.-M., Lv, Y.-D., Wang, Y.-Z., et al. (2012) Antiaging effect of pine pollen in human diploid fibroblasts and in a mouse model induced by D-Galactose. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2012**, Article ID: 750963. <https://doi.org/10.1155/2012/750963>
- [10] 康家琦. 砷对健康危害的研究进展[J]. 卫生研究, 2004, 33(3): 372-376.
- [11] 郭春华, 吕元琦, 袁倬斌. 微波消解原子荧光光谱法测定生物样品中砷汞[J]. 理化检验: 化学分册, 2006, 42(1): 41-42, 45.
- [12] GB2762-2017 食品安全国家标准 食品中污染物限量[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局, 2017.
- [13] GB5009.11-2014 食品安全国家标准食品中总砷及无机砷的测定[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育

委员会, 2015.

- [14] 段旭, 韩张雄, 白新悦, 董亚妮, 刘隆. 赶酸对微波消解-氢化物发生-原子荧光光谱法测定谷物中砷元素的影响[J]. 中国无机分析化学, 2018, 8(6): 5-8.