

悬浮液进样GFAAS法测定食用明胶中的铬

吴晨曦, 汪亦茗, 陈潍玲

(嵊州市食品药品检验检测中心, 浙江 嵊州 312400)

摘要:为建立悬浮液直接进样-石墨炉原子吸收光谱法(graphite furnace atomic absorption spectrophotometry, GFAAS)测定食用明胶中铬的方法,研究配置悬浮液过程中,明胶颗粒大小,表面活性剂的用量以及取样量与定容体积比对检测结果的影响。讨论基体改进剂的选择,优化石墨炉原子吸收光谱仪的升温程序。研究表明,不必加入表面活性剂,当定容体积为10 mL时,称取0.30 g-0.35 g粒径小于0.15 mm的明胶颗粒所配置的悬浮液最适于检测。选择硝酸镁作为基体改进剂,仪器最佳检测条件为灰化温度1 500 °C,原子化温度2 200 °C。在此条件下,方法检出限为0.001 mg/kg,试验的相对标准偏差在5%以下,加标回收率在95%到115%之间。该方法能够简单、有效并快速地进行食用明胶中铬的检测。

关键词:明胶;悬浮液进样;石墨管原子吸收光谱法;铬;基体改进剂

Determination of Chromium in Edible Gelatin by GFAAS with Suspension Sample

WU Chen-xi, WANG Yi-ming, CHEN Wei-ling

(The Food and Drug Inspection Test Center of Shengzhou, Shengzhou 312400, Zhejiang, China)

Abstract: The graphite furnace atomic absorption spectrophotometry (GFAAS) coupled with the suspension injection method was established to determine the chromium in the edible gelatin. During suspension preparing, the effects of gelatin particle size, the amount of surfactant, and the ratio of sample weight to constant volume on the detection results were studied. The choice of matrix modifier was discussed, the heating program of GFAAS was optimized. The studies showed that addition of a surfactant was not necessary, when the constant volume was 10 mL, the suspension prepared by weighing 0.30 g-0.35 g gelatin with particle size less than 0.15 mm was most suitable for detection. Magnesium nitrate was selected as the matrix modifier, the optimal detection condition of GFAAS with the ashing temperature of 1 500 °C and atomization temperature of 2 200 °C. Under the optimal conditions, the method detection limit was 0.001 mg/kg, the relative standard deviation of the test was less than 5 %, the recoveries were between 95 % and 115 %. The method was simple, effective and rapid for the determination of chromium in edible gelatin.

Key words: edible gelatin; suspension; graphite furnace atomic absorption spectrophotometry; chromium; matrix modifier

引文格式:

吴晨曦,汪亦茗,陈潍玲. 悬浮液进样GFAAS法测定食用明胶中的铬[J].食品研究与开发,2019,40(16):124-128

WU Chenxi, WANG Yiming, CHEN Weiling. Determination of Chromium in Edible Gelatin by GFAAS with Suspension Sample[J]. Food Research and Development, 2019, 40(16): 124-128

食用明胶作为食品添加剂以及空心胶囊的主要原料被广泛应用于食品和药品中。我国食品卫生标准^[1]

和药典^[2]对食用明胶中铬元素均有限量要求。检测明胶中铬所采取的前处理方法通常有干法消解,湿法消解和微波消解^[3]。但是,这些方法通常存在污染环境 and 耗时长^[3]的缺点。若明胶不经过消解,直接配置成悬浮液后检测就可以避免上述问题^[4]。

作者简介:吴晨曦(1987—),男(汉),工程师,硕士,主要从事食品药品检验和质量标准的研究工作。

相较于其它元素检测仪器,石墨炉原子吸收光谱仪(graphite furnace atomic absorption spectrometer, GFAAS)对样品具有灰化处理能力,能够对不经过消解的样品进行检测,所以GFAAS更适用于悬浮液进样法。近年,国内外对于悬浮液进样GFAAS进行元素的检测均有研究^[4-6],如苏耀东等利用悬浮液进样石墨炉原子吸收法测定了海洋沉淀物的铅元素^[5];Fernandes等利用水溶性叔胺为介质将人体头发制备成悬浮液,并对其含有的钒元素进行检测^[6];Silva等在低温状态下将海鱼研磨成固体颗粒后制备成悬浮液,并对其进行铜、铁、镁元素的检测^[7]。但用于明胶中元素的测定却未见报道。

在建立悬浮液直接进样—石墨炉原子吸收光谱法测定食用明胶中的铬过程中,配置适于检测的悬浮液是关键之一。另外,由于样品未经消化,基体效应较大,通过选择合适的基体改进剂和优化升温程序来减小基体效应也是影响检测结果是否准确的重要因素。本文以明胶为试验对象,就明胶悬浮液的配制,基体改进剂和仪器升温程序进行试验研究,得到一种能够快速准确的检测食用明胶中铬含量的新方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

硝酸(超级纯):苏州晶瑞化学股份有限公司;硝酸钡、磷酸二氢铵、六水合硝酸镁(均为光谱级)、曲拉通-100(优级纯):国药集团;铬标准溶液(质量浓度1 mg/mL)、明胶产品中铬成分分析标准物质[标准值(0.315±0.019) mg/kg]:中国计量科学研究院;水为超纯水(电阻率18.2 Ω·m);氩气(纯度大于99.99%):浙江省嵊州富豪气体供应站;玻璃器皿均用30%的硝酸浸泡24 h以上。

1.2 仪器设备

PinAAcle900z 石墨炉原子吸收光谱仪:美国 PerkinElmer 公司;UV-TOC/UF 超纯水仪:德国 Thermo 公司;ML204 电子天平:美国 Mettler Toledo 公司;Tissuelyser-24 冷冻研磨仪:宁波新芝生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 仪器工作条件和石墨炉升温程序

波长:357.87 nm;夹缝宽度:0.7 nm;灯电流:20 mA;测量方式为峰面积;氩气出口压力为0.35 MPa~0.40 MPa。石墨炉升温程序见表1。

1.3.2 基体改进剂的配制

分别称取0.5 g 磷酸二氢铵,0.05 g 硝酸钡和

表1 石墨炉升温程序

Table 1 Heating program of graphite furnace

升温程序	温度/°C	爬升时间/s	保持时间/s
干燥1	130	1	30
干燥2	150	15	30
灰化	1 500	15	25
原子化	2 200	0	5
清洁	2 550	1	5

0.087 g 六水合硝酸镁于50 mL 容量瓶中,用体积分数0.5%的硝酸定容至刻度备用。

1.3.3 样品前处理方法

利用冷冻研磨仪将明胶制成粉末并过100目筛。称取0.30 g~0.35 g 明胶颗粒至10 mL 容量瓶中,并用体积分数为0.5%的硝酸定容至刻度,振荡、混匀直接上机检测。

1.3.4 标准曲线的绘制

用体积分数为0.5%的硝酸将铬标准溶液稀释为1 mg/L 的中间液,在100 mL 的容量瓶中加入1 mL 的中间液并用体积分数为0.5%的硝酸定容至刻度,振荡使其形成均一的标准使用液,浓度为10 ng/mL。最终自动进样器将使用液稀释成浓度为2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 ng/mL 的标准系列。

2 结果与分析

2.1 悬浮液的研究

悬浮液的均一稳定性以及待测元素是否能够被充分提取均会影响试验结果。样品颗粒直径、表面活性剂的用量以及取样量与定容体积的比例(质量体积比)则是影响待测元素提取率和悬浮液均一稳定性的重要因素^[8]。

2.1.1 样品颗粒大小对检测结果的影响

粒径越小的明胶颗粒,比表面积越大,越有利于铬元素的提取,但同时也会提高样品的研磨要求。试验利用目筛对研磨的明胶颗粒进行筛分并利用体积分数为0.5%的硝酸配置成悬浮液进行连续6次检测并取结果的平均值以考察样品颗粒大小对测量结果的影响,结果见图1。

由图1可知,随着粒径的减小,样品中铬元素的浓度也随之变大;当样品微粒通过100目筛之后,样品中铬元素的浓度的变化趋于平缓。说明当微粒通过100目筛之后,既粒径小于0.15 mm 时,溶液对明胶微粒中铬元素的提取已趋近最大。故将明胶颗粒的粒径控制在0.15 mm 以下即能满足试验要求。

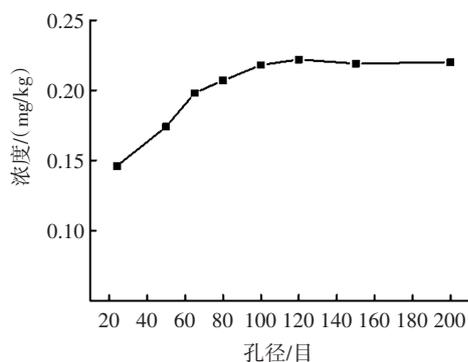


图1 颗粒直径对结果的影响

Fig.1 Effect of particle diameter on the results

2.1.2 表面活性剂的用量对结果的影响

添加表面活性剂是为了增加样品颗粒之间的表面张力,使颗粒能够均匀的分布,保证悬浮液的均一稳定,提高检测结果的重复性。同时表面活性剂会使悬浮液基体更加复杂,影响试验结果的准确性。曲拉通-100 作为表面活性剂,在重金属悬浮进样直接测定中有大量应用报道^[9-10],为了研究表面活性剂用量对试验结果的影响,采用曲拉通-100(Triton X-100)作为表面活性剂,考察当取样量为 0.2 g,定容体积为 10 mL时,不同体积分数的曲拉通-100 对连续 6 次检测结果的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)以及回收率的影响,结果见图 2。

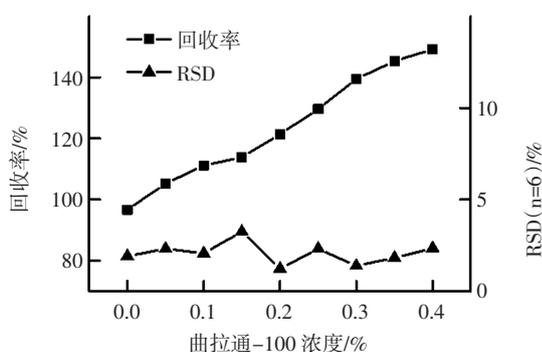


图2 曲拉通-100 浓度对结果的影响

Fig.2 Effects of 曲拉通-100 concentration on results

由图 2 可知随着曲拉通-100 浓度增加,悬浮液的基体变的更为复杂,回收率也逐渐变大。另外,曲拉通-100 浓度对结果的 RSD 值影响并不明显,且无论是否添加曲拉通-100,结果的 RSD 值均小于 5%。这是由于明胶分子中既有氨基又有羟基,具有双亲性^[11]。故明胶本身就具有表面活性,能够保障其微粒均匀的分布在介质中。为了不带来新的干扰,本次试验的悬浮液配制中不会加入表面活性剂。

2.1.3 质量体积比对结果的影响

取样量与定容体积的比例既会影响悬浮液的均

一性也是决定方法灵敏度的重要因素。当定容体积不变时,取样量越大,方法的灵敏度越高;但过高的样品浓度会产生大量沉淀导致悬浮液不均一,同时增加基体干扰不利于检测。研究当定容体积为 10 mL 时,明胶的质量对回收率和 RSD 的影响,结果见图 3。

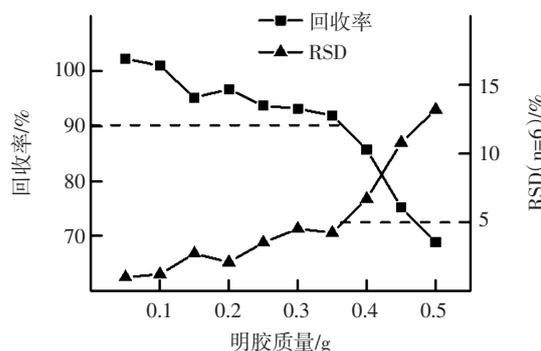


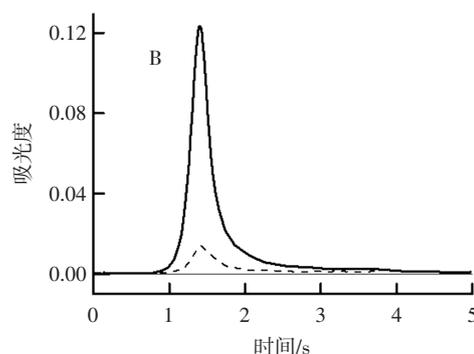
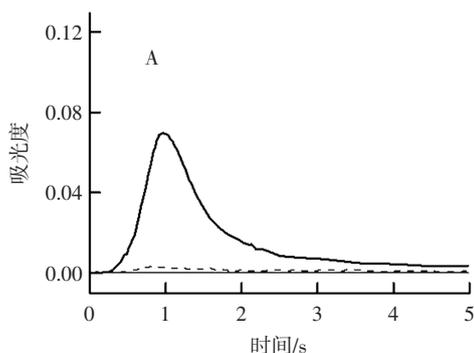
图3 样品质量对结果的影响

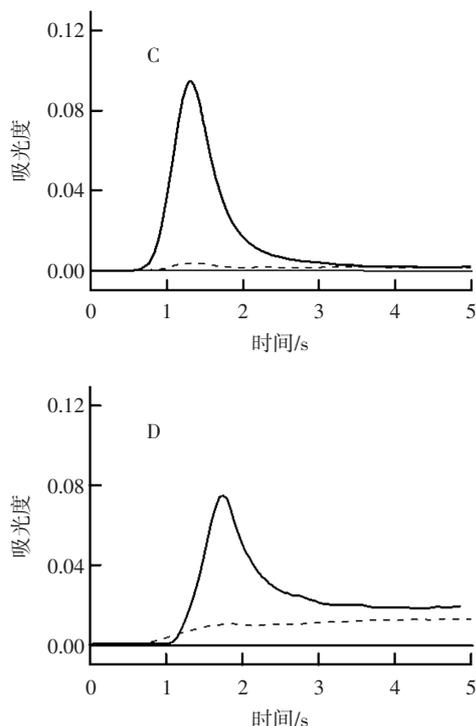
Fig.3 Effect of sample weight on the results

在图 3 中可以看出,随着取样量增加,回收率总体呈下降趋势,RSD 值则上升。为了提高方法灵敏度的同时保证回收率在 90% 以上,RSD 值在 5% 以下,控制取样量在 0.30 g~0.35g 之间最为合适。

2.2 基体改进剂的研究

基体改进剂使基体更容易挥发,从而能够达到减小基体效应的目的,同时减小待测元素在灰化阶段的损失,并改善峰形。试验比较了硝酸钡、硝酸镁和磷酸二氢铵 3 种常用的基体改进剂对检测结果的影响。图 4 和表 2 分别为吸收峰的峰形和相关参数。





A.不加基体改进剂;B.硝酸钡;C.硝酸镁;D.磷酸二氢铵。

图4 不同基体改进剂的峰形

Fig.4 Different peak shape of the matrix modifier

表2 不同吸收峰的参数

Table 2 The parameters of different absorption peaks

基体改进剂	峰面积	峰高	背景值
无	0.045 1	0.070 3	0.001 6
硝酸钡	0.049 1	0.124 2	0.009 6
硝酸镁	0.053 2	0.094 5	0.004 7
磷酸二氢铵	0.051 7	0.077 2	0.042 3

结合图4和表2来看,不加基体改进剂时,出峰时间过早,峰形扁平且峰面积最小,说明不加基体改进剂时Cr元素有大量损失;基体改进剂为磷酸二氢铵时,吸收峰会有明显拖尾现象,而且背景值为0.0423,远大于其余两种基体改进剂。吸收背景产生的原因是分子吸收干扰和光散射干扰^[9],背景值过大会导致待测元素的吸收强度发生改变,导致测量误差。故磷酸二氢铵不适合作为本方法的基体改进剂;硝酸镁与硝酸钡作为基体改进剂时,吸收峰的完整性与对称性均较为理想。且与硝酸镁相比,硝酸钡的吸收峰更高,峰面积更小。又因为以峰面积为测量方式的稳定性要优于峰高,所以应该选择峰面积更大的硝酸镁作为基体改进剂,这样既能够保证测量稳定性又使方法的灵敏度更高。

2.3 石墨炉升温程序的研究

在石墨炉升温程序中,灰化温度与原子化温度是

较为重要的两个参数。灰化的作用是尽可能除去基体成分,同时也要保障待测元素不过多损失。原子化是将样品溶液中的元素转化为自由原子的过程^[12]。

2.3.1 灰化温度的优化

将原子化温度设为仪器推荐的2300℃不变,改变灰化温度并测定吸光度与背景值。结果见图5。

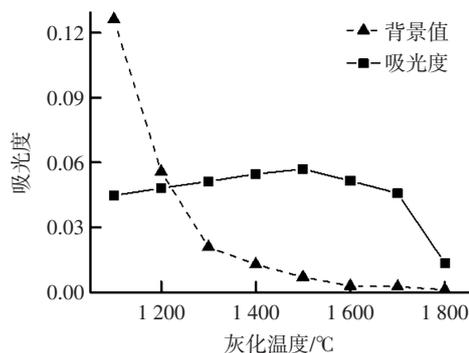


图5 灰化温度对吸光度和背景值的影响

Fig.5 Effect of pyrolysis temperature on absorbance and background signals

在图5中,背景值随着温度的增加不断减小。说明样品中的基体成分随着灰化温度的增加而变小,基体干扰也随之变小。同时吸光度在温度为1500℃时达到最大值,之后便随温度的增加而变小。说明在1500℃之前,由于基体干扰的减小,铬元素吸光度会不断增加,当温度超过1500℃之后,铬元素会有大量损失。所以,最佳灰化温度为1500℃,这既可以减小基体干扰又可以保证样品中的铬元素不会损失过多。

2.3.2 原子化温度的优化

取最佳灰化温度1500℃不变,改变原子化温度测定吸光度与背景值。结果见图6。

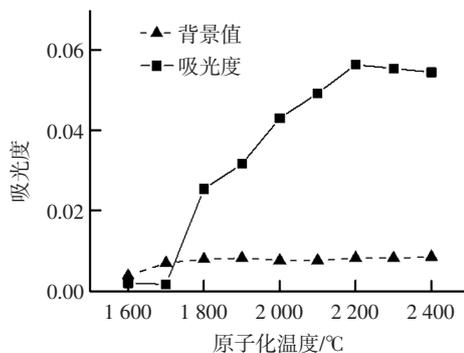


图6 原子化温度对吸光度和背景值的影响

Fig.6 Effect of atomization temperature on absorbance and background signals

图6可以看出,当灰化温度为1500℃时,原子化温度对背景值的影响并不明显,吸光度则随原子化

度的升高而增加,当温度达到 2 200 ℃之后吸光度则略微下降。说明最佳原子化温度为 2 200 ℃。

2.4 标准曲线与方法检出限

本次试验采用外标法定量,以铬标准系列的质量浓度为横坐标,测得的吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得到线性回归方程为 $A=0.013\ 69C+0.003\ 10$,线性相关系数为 0.999 6。据国标 GB/T5009.1-2003《食品卫生检验方法 理化部分 总则》的计算方法,连续测量空白 20 次并计算出标准偏差 s ,再根据标准曲线的斜率

b ,由 $3s/b$ 计算出最低检出浓度为 0.0317 ng/mL。若定容体积为 10 mL,取样量为 0.3 g,则方法检出限为 0.001 mg/kg。

2.5 样品分析

对明胶标准物质[标准值(0.315±0.019)mg/kg]和市场中购买的 4 种食用明胶按试验方法进行检测,并与微波消解法(国标 GB 5009.123-2014《食品安全标准食品中铬的测定》)的检测结果进行对比。同时做加标试验,每个样品平行测量 6 次。结果见表 3。

表 3 样品分析结果(n=6)

Table 3 Analytical results of samples

样号	样品名称	测定值/(mg/kg)		本底值/ng	加标量/ng	总量/ng	回收率/%	RSD/%
		国标法	本法					
1	标准物质	0.313	0.322					2.3
2	鱼皮明胶	0.049	0.052	16.23	20	38.20	109.8	4.3
3	鱼骨明胶	0.032	0.033	10.72	20	32.21	107.4	2.9
4	猪皮明胶	0.034	0.037	12.30	20	31.59	96.4	1.9
5	牛骨明胶	0.044	0.041	12.59	20	35.37	113.9	3.9

由表 3 可知,悬浮液进样法与微波消解法的检测结果相近,且标准物质的测量结果在标准值范围内。加标试验的回收率在 95%~115%之间,连续测量 6 次的 RSD 值也小于 5%,说明方法的准确性和重复性良好。

3 结论

称取粒径小于 0.15 mm 的明胶颗粒 0.30 g~0.35 g,并用体积分数为 0.5%的硝酸定容至 10 mL 配置成悬浮液后直接进石墨炉原子吸收光谱进行铬元素的检测。试验中的基体改进剂选用硝酸镁,仪器设置的灰化温度为 1 500 ℃、原子化温度为 2 200 ℃。利用外标法进行定量分析,回收率在 95%~115%之间,RSD<5%,方法检出限为 0.001 mg/kg。该方法解决了食用明胶中铬元素检测过程中样品消解的劳动强度大、耗时长、同时避免了使用大量酸所带来的环境污染,在保证检测结果准确的同时提高了检测效率。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部.食品安全国家标准食品添加剂明胶:GB 6783-2013[S].北京:中国标准出版社,2013: 2
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:中国医药科技出版社,2010: 1216
- [3] 中华人民共和国卫生部.食品安全国家标准食品中铬的测定:GB

5009.123-2014[S].北京:中国标准出版社,2015: 1-3

- [4] 李英,王成云.悬浮液直接进样原子吸收光谱法及其应用进展[J].常德师范学院学报,2001,13(1): 60-65
- [5] 苏耀东,王中平,倪亚明,等.悬浮液进样石墨炉原子吸收测定痕量铅[J].分析化学,2000,28(5): 660
- [6] Fernandes K G, Nogueira A R A, Neto J A G, et al. Determination of vanadium in human hair slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry[J].Talanta,2007,71(3): 1118-1123
- [7] Silva E G P D, Hatje V, Santos W N L D, et al. Fast method for the determination of copper, manganese and iron in seafood samples[J]. Journal of Food Composition & Analysis, 2008, 21(3): 259-263
- [8] 卢桂萍,汪正,邱德仁,等.悬浮液进样石墨炉原子吸收光谱法研究分析进展[J].光谱学与光谱分析,2010,30(8): 2253-2259
- [9] 周陶鸿,林津,彭青枝,等.悬浮液进样石墨炉原子吸收光谱法测定乳粉中痕量铬[J].食品安全质量检测学报,2015,6(4): 1478-2259
- [10] Oliveira T M D, Peres J A, Felsner M L, et al. Direct determination of Pb in raw milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) with electrothermal atomization sampling from slurries[J]. Food Chemistry, 2017, 229: 721-725
- [11] Griffith P C, Stilbs P, Howe A, et al. A Self-Diffusion Study of the Complex Formed by Sodium Dodecyl Sulfate and Gelatin in Aqueous Solutions[J]. Langmuir, 1996, 12(12): 2884-2893
- [12] 任婷,赵丽娇,曹珺,等.高分辨连续光源石墨炉原子吸收光谱法测定食品中的铅、镉和铬含量[J].光谱学与光谱分析,2012,32(9): 2566-2571

收稿日期:2018-10-22