

微波消解 ICP-MS 法测定啤酒废酵母中的微量金属元素

程先忠, 金 灿, 张开诚

武汉工业学院化学与环境工程系, 湖北 武汉 430023

摘要 建立了微波消解-电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)同时测定啤酒废酵母粉中铜、铅、锌、铁、锰、镉、铬和砷等八种微量元素的方法。在实验中,对仪器的最佳工作参数进行了优化,选择适当的同位素,并用铷作内标元素,有效地抑制了分析信号的漂移及分子和多原子离子的质谱干扰;探讨了混合酸消解体系、消解液用量、微波消解功率及时间对测定结果的影响。以 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ (2:1) 作为消化试剂,在 0.5 MPa 压力下 2 min, 1.0 MPa 压力下 3 min, 1.5 MPa 压力下 5 min, 4 mL HNO_3 和 2 mL H_2O_2 能完全消解样品。在选定的实验条件下,对五种啤酒废酵母粉样品进行了精密度和回收率实验,方法相对标准偏差在 0.94%~3.26% ($n=9$) 之间,加标回收率在 98.4%~102.6% 之间。

关键词 啤酒废酵母;微量元素;微波消解;ICP-MS

中图分类号: O657.6 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2008)10-2421-04

引言

啤酒废酵母是啤酒工业生产重要的副产物,由于含有比较丰富的氨基酸、核酸、维生素、酶类和矿物质等营养成分,具有广阔的开发前景,其深加工产品广泛用于食品、生物制药和饲料等行业^[1-3],如可用于蛋白质、维生素的提取,生产食品添加剂的生产及功能保健食品的制备等^[4],与人类日常生活紧密相连。啤酒废酵母粉中存在有人体不可缺少的微量元素如锌、铁、铜和锰等,这些微量元素对人体的健康、生长发育和防治疾病有着密切关系^[5-7],适量的铁锌铜微量元素不仅可以促进机体的生长发育,而且还可以提高机体的免疫功能,降低人类对疾病的易感性^[8-9]。但啤酒废酵母粉中也存在着铅、镉、铬和砷等有害金属元素,在人体内累积容易对健康造成危害。随着啤酒废酵母的广泛开发利用,人们对其中存在着的微量金属元素的作用越来越关注,因此,准确测定出啤酒废酵母粉中微量元素的含量对人类的健康有着积极的作用。微量金属元素的分析方法已有很多报道,常见的有分光光度法^[10],原子吸收光谱法^[11],电感耦合等离子体发射光谱法^[12](ICP-AES),电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)^[13]等。其中电感耦合等离子体质谱技术(ICP-MS)是20世纪90年代以来发展最快的无机痕量和微量分析技术之一,具有灵敏度高,精密度好,检出限低,动态线性范围宽,可同时进行多元素快速分析等分析特性,被广泛应用于

生物、食品、环境、地质、材料科学等各个领域^[14-17],但对于啤酒废酵母中微量金属元素的测定目前尚未见有报道。啤酒废酵母含有大量有机质,需要对样品进行消化处理,使待测元素完全转化为无机离子状态。传统的样品消化方法有干法灰化和湿法消化,干法灰化操作简便,但在消化过程中因一些元素易挥发而造成分析结果偏低;湿法消化极易带入污染物,导致空白值高,且对环境造成污染。而微波消解技术是近几年来发展起来的一种先进、高效的样品消解技术^[18,19],具有快速、分解完全、元素无挥发损失,酸消耗少、环境污染小等优点日益受到青睐,并在光谱分析中得到广泛应用^[20-22]。本文采用微波消解技术对啤酒废酵母样品进行消化,研究了微波消解和 ICP-MS 测定的条件,建立了微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定啤酒废酵母中铜、铅、锌、铁、锰、镉、铬和砷等八种微量元素的方法,取得了满意的效果。

1 实验部分

1.1 仪器及工作参数

X-Series 电感耦合等离子体质谱仪(美国 Thermo Element 公司); MK-III 型光纤压力自控密闭微波消解炉(上海新科微波溶样测试技术研究所);超纯水机(Milli-Q Gradient),美国 Millipore 公司。

ICP-MS 射频功率,载气流量真空度和测量参数是 ICP-

收稿日期:2007-01-28,修订日期:2007-04-29

基金项目:湖北省教育厅科学研究重点基金项目(D200518004)资助

作者简介:程先忠,1963年生,武汉工业学院教授 e-mail: yccxz502@163.com

MS 最重要的工作参数,以质量浓度均为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的⁸⁹Sc, ¹⁰³Rh, ¹¹⁵In 的混合标准溶液对仪器条件最佳化选择,使 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ¹¹⁵In 的计数大于 1.0×10^5 CPS 且各元素变异系数最

小,再将 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ⁸⁹Sc, ¹⁰³Rh 最佳化,以选择最佳的仪器工作条件,仪器的参数如表 1 所示。

Table 1 Optimized parameters of ICP-MS system

| 电感等离子体参数(ICP 系统) | 测量参数 | 质谱仪参数(MS 系统) |
|--------------------------------------|------------------|----------------------------------|
| RF 功率/W: 1 350 | 分辨率(峰高)/aum: 0.8 | 四极杆区真空度/Pa: 6.7×10^{-2} |
| 冷却气流量/(L · min ⁻¹): 15.0 | 测量方式: 跳峰 | 检测器区真空度/Pa: 6.7×10^{-4} |
| 辅助气流量/(L · min ⁻¹): 1.00 | 观测点/峰: 3 | 分析时间/s: 20 |
| 雾化气流量/(L · min ⁻¹): 1.02 | 循环次数: 3 | 采样深度/mm: 7.8 |
| 样品提升率/(mL · min ⁻¹): 1.0 | | |

1.2 主要试剂

HNO₃, HCl, H₂O₂ (30%) 均为优级纯。

标准溶液,按常规方法用高纯试剂配成 Cu, Pb, Zn, Fe, Mn, Cd, Cr 和 As 浓度为 $1.000 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准储备液,分别贮存于聚乙烯塑料瓶中。然后根据不同元素测定的需要,配制成适当浓度的标准溶液(含 1% HNO₃)。

内标铑标准溶液, Rh 标准溶液($1.000 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)由国家标准物质研究中心提供,使用前用 1% HNO₃ 逐级稀释为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。所有的空白溶液、标准溶液和样品溶液都通过仪器在线加入内标溶液。

所用器皿均用(1+5)的硝酸浸泡过夜,然后用二次蒸馏水洗净,防尘贮藏备用。

1.3 样品制备

将啤酒废酵母样品用玛瑙研钵研磨至 120~200 目,于 150 °C 烘干,冷却后放入干燥器中备用。

准确称取啤酒废酵母粉 0.250 0 g 试样于聚四氟乙烯消化罐中,加入 0.5 mL 水润湿,再加 4 mL 浓硝酸,2 mL 过氧化氢(30%),轻轻摇匀,使样品与消解液充分接触,盖好内盖,旋紧外盖,放入 MK-III 型光纤压力自控密闭微波消解炉中,微波固定输出功率均为 650 W,采用程序消解方法处理。待得到澄清透明的溶液后,转移至 25 mL 容量瓶中,用超纯水定容至刻度,摇匀,同时做空白实验。按表 1 仪器工作参数条件直接用 ICP-MS 测定各元素含量。

2 结果与讨论

2.1 同位素和内标元素的选择

ICP-MS 测定会受到同质异位素的干扰,许多元素具有多个同位素,本方法按照丰度大、干扰小、灵敏度高的原则来选择同位素。另外某些同位素还会受到 Ar 气和 C, H, O 和 N 等结合的多种复合离子形成的质谱干扰,如⁵³Cr, ⁵⁶Fe, ⁵⁴Mn 和⁶³Cu 等元素分别受到⁴⁰Ar ¹³C, ⁴⁰Ar ¹⁶O, ⁴⁰Ar ¹⁴N 和⁴⁰Ar ²³Na⁺ 等多原子离子的干扰,实验中通过选择合适的同位素来消除这类干扰的影响,同位素的选择如表 2。

Table 2 The selected isotope of detection

| 元素 | Cu | Pb | Zn | Fe | Mn | Cd | Cr | As |
|-----|----|-----|----|----|----|-----|----|----|
| 同位素 | 65 | 208 | 66 | 57 | 55 | 114 | 52 | 75 |

在 ICP-MS 分析中,内标元素能有效地监控和校正分析信号的短期和长期漂移,并对基体效应具有明显的补偿作用^[23],通过对 Sc, In 和 Rh 作内标元素的行为特征及其对基体补偿作用的对比实验研究,确定在线加入浓度为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Rh 作为内标,效果较好,对改善测定精度的作用是非常明显的。

2.2 微波消解条件

啤酒废酵母富含多种有机物,采用敞口容器湿法消解,难以消化完全,被测元素铅和砷均属于氢化物元素,受热不稳定,极易挥发,容易造成结果偏低。微波消解法具有快速、节省试剂、空白值低等优点,广泛用于有机生物样品的处理。根据基体的组成及不同酸的微波吸收率,分别以 HNO₃, HNO₃-H₂O₂, HNO₃-HClO₄, HNO₃-H₂SO₄ 不同体系作为消解试剂,放入微波炉中进行消解,按试验部分方法进行测定。通过观察消解溶液和透明度和残留物的含量,发现单独使用 HNO₃ 效果不佳,而 HNO₃-H₂O₂, HNO₃-HClO₄, HNO₃-H₂SO₄ 三种消解试剂均可使啤酒废酵母样品消化完全,但 HNO₃-HClO₄, HNO₃-H₂SO₄ 体系对质谱测定有干扰不宜使用,以 HNO₃-H₂O₂ (2:1) 体系消解效果最佳,为无色透明液,其中过氧化氢分解所产生的氧非常有利于消解有机物,但由于能导致瞬间压力的上升,其用量不宜超过 3.0 mL。

微波消解样品时最重要的参数是压力和温度。在消解安全限度内,对罐内压力、微波功率、消解时间进行实验。发现采用逐渐升温升压方式进行微波加热,即选择一档(0.5 MPa)消解 2 min,二档(1.0 MPa)消解 3 min 和三档(1.5 MPa)消解 5 min 的消解条件,可满足 0.250 0 g 样品的完全消解,消化液无色透明、无残渣。

2.3 校正曲线及方法的线性范围

根据样品的半定量扫描,用 Cu, Pb, Zn, Fe, Mn, Cd, Cr 和 As 的标准溶液和 1% 的 HNO₃ 溶液配制一系列浓度不同的混合标准溶液,并分别加入内标溶液,在上述选定的最优条件下,用 ICP-MS 进行测定,标准溶液进入 ICP-MS 后,仪器自动给出了各元素的工作曲线及线性关系,Cu, Pb, Cr, Mn, Cd 和 As 元素在 0~100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, Zn 和 Fe 元素在 0~200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内呈线性关系,相关系数均在 0.999 以上。

2.4 方法精密度和准确度

称取啤酒废酵母样品 0.250 0 g(平行 9 份), 用 1.3 节和 2.2 节的方法分别处理样品, 测定微量元素, 计算测定的精密度 RSD; 采用标准加入法测定各元素的回收率, 考察方法准确度。按样品处理方法做试剂空白, 在选定的工作条件下测量空白值 11 次, 以 3 倍标准偏差计算检出限, 结果如

表 3。Cu, Pb, Zn, Fe, Mn, Cd, Cr 和 As 八种元素测定的检出限在 0.013 ~ 0.16 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 回收率均在 96.0% ~ 102.0% 之间, 相对标准偏差在 0.94% ~ 3.26% 之间, 表明建立的测试方法能满足啤酒废酵母中各元素的分析测定。

Table 3 Test result of recovery of sample

| 元素 | 测定值/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | 加标量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | 测定总值/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | 回收率/% | RSD($n=9$)/% | 检出限/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ |
|----|--|--|---|-------|----------------|--|
| Cu | 2.38 | 2.00 | 4.42 | 102.0 | 1.78 | 0.026 |
| Pb | 1.17 | 1.00 | 2.16 | 99.0 | 1.23 | 0.036 |
| Zn | 58.6 | 50.0 | 109.1 | 101.0 | 0.57 | 0.122 |
| Fe | 72.5 | 50.0 | 122.3 | 99.6 | 0.94 | 0.090 |
| Mn | 4.18 | 4.00 | 8.12 | 98.5 | 0.47 | 0.013 |
| Cd | 0.27 | 0.50 | 0.75 | 96.0 | 2.4 | 0.021 |
| Cr | 1.97 | 2.0 | 4.00 | 101.5 | 0.81 | 0.019 |
| As | 0.20 | 0.50 | 0.69 | 98.0 | 3.26 | 0.097 |

2.5 样品测定

采用微波消解技术对啤酒废酵母粉进行消化, 然后按仪器工作参数对试样溶液和空白溶液进行 ICP-MS 测定, 分析

结果如表 4。发现啤酒废酵母中的有益元素铁和锌的含量相对较高, 而有害金属元素铅镉和砷含量甚微, 符合食品工业标准的要求^[24]。

Table 4 Analytical results of waste beer yeast samples

| 序号 | 样品号 | 测定值/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ | | | | | | | |
|----|--------|--|------|------|------|------|------|------|-------|
| | | Cu | Pb | Zn | Fe | Mn | Cd | Cr | As |
| 1 | BY0632 | 2.90 | 0.92 | 83.2 | 42.3 | 2.56 | 0.21 | 2.23 | 0.12 |
| 2 | BY0633 | 2.47 | 0.96 | 92.1 | 61.9 | 2.94 | 0.15 | 3.60 | 0.092 |
| 3 | BY0645 | 2.38 | 1.17 | 58.6 | 72.5 | 4.18 | 0.27 | 1.97 | 0.20 |
| 4 | BY0646 | 1.51 | 2.03 | 67.3 | 74.3 | 4.76 | 0.18 | 3.14 | 0.19 |
| 5 | BY0675 | 1.91 | 1.12 | 51.9 | 47.5 | 3.08 | 0.24 | 2.76 | 0.08 |

参 考 文 献

- [1] Robert I. Food Science and Technology, 2004, 18(1):25.
- [2] CHANG Ya-ning, YU Jian-ying, YUAN Qin-sheng(常雅宁, 俞建瑛, 袁勤生). Journal of Microbiology(微生物学杂志), 2001, 21(2): 30.
- [3] LING Xiu-mei, QIN Shu-yi, HU Peng-gang, et al(凌秀梅, 邱树毅, 胡鹏刚, 等). Liquor-Making Science & Technology(酿酒科技), 2006, (2): 87.
- [4] LIN Jian-ping, YOU Jian-feng, SHENG Xiao-xia, et al(林建平, 游建锋, 盛晓霞, 等). Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities(高等学校化学工程学报), 2003, 17(6): 695.
- [5] WANG Kui(王 夔主编). Handbook of the Trace Element in Life Science Analysis and Data(生命科学中的微量元素分析与数据手册). Beijing: Chian Measure Press(北京: 中国计量出版社), 1998. 7.
- [6] Mirskv N. J. Inorg. Biochem., 1993, 49: 123.
- [7] TIAN Xiao-hua(田晓华). Acta Nutrimanta Sinica(营养学报), 1994, 16(2): 126.
- [8] YU Xue-mei(于雪梅). Chinese Journal of Endocrine and Metabolism(中华内分泌代谢杂志), 1994, 10(4): 222.
- [9] CHEN Qing, LU Guo-cheng(陈 清, 卢国程). Trace Elenment and Health(微量元素与健康). Beijing: Peking University Press(北京: 北京大学出版社), 1989. 1.
- [10] YU Chang-xing, ZHANG Min-fang, GAO Ying-li(俞长兴, 张敏芳, 高英立). Chinese J. Anal. Chem.(分析化学), 1997, 25(5): 531.
- [11] FAN Hua-jun, LI Wei-bo(范华均, 黎蔚波). Physical Testing and Chem. Anal., Part B; Chem. Anal.(理化检验-化学分册), 2005, 41(9): 639.
- [12] Atanassova D, Stefanova V, Russeva E. Talanta, 1998, 47(5): 1237.
- [13] LÜ Lin-lin, XU Ye, YI Ping, et al(吕琳琳, 徐 焯, 伊 萍, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(3): 548.

- [14] WANG Yong-ning, SHI Yu-ping, LI Ji-dong(王永宁, 石玉平, 李继东). Chinese Journal of Analysis Lab(分析实验室), 2004, 23(5): 68.
- [15] WANG Song-jun, CAO Lin, CHANG Ping, et al(王松君, 曹林, 常平, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(7): 1330.
- [16] Swami K, Judd C D, Orsini J, Fresenius J. Anal. Chem., 2001, 369(1): 63.
- [17] HU Sheng-hong, LIN Shou-lin, LIU Yong-sheng, et al(胡圣虹, 林守麟, 刘勇胜, 等). Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报), 2000, 21(3): 368.
- [18] Abu-Samra A, Morris J S, Koirtiyohann S R. Anal. Chem., 1975, 47(5): 1475.
- [19] Kingsion H M, Jassie I B. Introduction to Microwave Sample Preparation: Theory and Practice. New York: American Chemical Society, 1988.
- [20] Juvonen R, Lakomaa T. Talanta, 2002, 58(3): 595.
- [21] Vaughan M A, Horlick G. Spectrochim. Acta, 1990, 45B: 1289.
- [22] JIN Qin-han(金钦汉). Chinese J. Analytical Chemistry(分析化学), 1988, 16(7): 668.
- [23] Thompson J J, Houk R S. Appl. Spectrosc., 1987, 41: 801.
- [24] GB/T15200—1994 Standard of China(国家标准). Tolerance Limit of Metal Element in Foods(食品中金属元素限量标准).

Determination of Trace Elements in Waste Beer Yeasts by ICP-MS with Microwave Digestion

CHENG Xian-zhong, JIN Can, ZHANG Kai-cheng

Department of Chemistry and Environmental Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China

Abstract The waste beer yeast has rich nutritional compositions and is widely used in food, medical and forage industries. The security of the yeast plays an important role in everyone's daily life. But the yeast containing microamount of lead, cadmium, chromium, arsenic and other harmful metals is endangering human health. A new method was developed for the direct determination of eight elements, namely copper, lead, zinc, iron, manganese, cadmium, chromium and arsenic in waste beer yeast by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) with microwave digestion. The parameters of plasma system, mass system, vacuum system and spectrometer system were optimized. The spectral interferences were eliminated by selecting alternation analytical isotopes of ^{65}Cu , ^{208}Pb , ^{66}Zn , ^{57}Fe , ^{55}Mn , ^{114}Cd , ^{52}Cr and ^{75}As , and the internal standards of Rh was selected to compensate the drift of analytical signals. The samples were digested with concentrated nitric acid-hydrogen peroxide (2 : 1) mixed solution more rapidly and more effectively. The effects of the type of mixed acid, the volume of digesting solution, heating time, and heating power were investigated in detail. In the closed system, the complete digestion was performed using 4 mL HNO_3 and 2 mL H_2O_2 for 2.0 min at 0.5 MPa, 3 min at 1.0 MPa and 5 min at 1.5 MPa. The detection limits of these eight elements were 0.013-0.122 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. The relative standard deviation (RSD) was 0.94%-3.26% ($n=9$), and the addition standard recovery was 98.4%-102.6% for all elements. The proposed method has been applied to the determination of trace elements of Cu, Pb, Zn, Fe, Mn, Cd, Cr and As in waste beer yeast samples with satisfactory results. The determination results indicated that the content of trace elements of Cu, Pb, Cd and As in waste beer yeast samples are significantly low.

Keywords Waste beer yeasts; Trace element; Microwave digestion; ICP-MS

(Received Jan. 28, 2007; accepted Apr. 29, 2007)