

干灰化结合偏硼酸锂碱熔灰分 ICP-AES 测定 生物样品中的硅铝等元素

孙德忠, 何红蓼, 温宏利, 马生凤, 巩爱华, 殷绍泉

国家地质实验测试中心, 北京 100037

摘要 探讨不同种类生物样品中 Si 和 Al 等 10 种元素的测定方法, 采用干灰化结合偏硼酸锂碱熔灰分的前处理方法, 用电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)同时测定试样中 Si 和 Al 以及 Ca, Mg, Fe, Na, P, Mn, Sr, Ti。方法检出限 Si 为 $0.15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, Al 为 $0.03 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。用国家一级标准物质 GBW07604(杨树叶), 验证了方法的准确度及精密度, Si 和 Al 的测定的准确度(RE)分别为 -0.03% 和 -3% , Si 和 Al 测定的方法精密度均小于 3% , 该方法已用于新研制的系列生物标准物质的定值, 并取得满意结果。

关键词 偏硼酸锂碱熔; Si; Al; ICP-AES; 生物样品

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2008)01-0195-05

引言

Si 能促进人体骨的代谢, 从而起到强壮骨骼的作用, 还可以防治心脑血管疾病, 具有降压抗衰老功能, 而游离 SiO_2 是引起矽肺的主要物质^[1]。

Al 的生物地球化学行为对许多科学领域的研究有较大的影响, 环境中 Al 的生态学效应是引人注目的课题。随着对环境酸化问题的深入研究, 人们发现 Al 浓度的增加是造成鱼类和大量水生物死亡的致毒因子^[2, 3]。微量 Al 与人体健康的关系已引起普遍关注, 已发现 Al 化合物能引起皮炎、支气管哮喘及 Alzheimer's 病^[4], Al 还累积在人体组织中引起老年痴呆症^[5, 6], 因此生物样品中痕量 Si 和 Al 的准确测定, 对于医学、有毒物质研究和控制都是相当重要的^[7]。

然而, Si 和 Al 都属两性元素, 采用常规的生物样品处理方法即湿硝化法或干灰化后酸溶, 都溶解不完全, 易造成结果偏低^[8]。而直接碱熔引入大量熔剂, 造成高空白值, 并因溶液含盐量高而要求进行高倍稀释, 从而导致方法检出限高^[9]。因此样品的前处理一直是个难题。本实验采用干灰化结合偏硼酸锂碱熔灰分的前处理方法, 利用等离子体光谱仪, 能定量分析生物样品中的 Si, Al, Ca, Mg, Fe, Na, P, Sr, Ti, Mn 等元素, 经不同种类生物样品国家标准物质验证, 结果满意。

1 实验部分

1.1 仪器及主要试剂

1.1.1 仪器

IRIS-ADVANTAGE 全谱直读等离子体发射光谱仪(美国 TJA 公司), 波长范围: $172 \sim 1050 \text{ nm}$, $512 \times 512 \text{ CID}$ 检测器, 玻璃同心雾化器, 旋流雾室, 仪器工作参数见表 1。可调温电热板, 马弗炉, 医用数控超声波清洗器。容积 30 mL 铂金坩埚, 用光谱纯石墨棒车制为内径 12 mm , 壁厚 3 mm , 高 24 mm 的小坩埚, 容积 10 mL 瓷坩埚。

1.1.2 主要试剂及生物样品标准物质

优级纯的硝酸、盐酸。分析纯偏硼酸锂 ($\text{LiBO}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), 在铂金皿中灼烧脱水, 磨碎后备用。国家一级标准物质 GBW07602(灌木枝叶)、GBW07603(灌木枝叶)、GBW07604(杨树叶)、GBW07605(茶叶)、GBW10010(大米)、GBW10011(小麦)、GBW10012(玉米)、GBW10013(黄豆)、GBW10014(圆白菜)、GBW10015(菠菜)、GBW10016(茶叶)、GBW10017(奶粉)、GBW10018(鸡肉粉)、GBW10019(苹果)(国土资源部物化探所研制)^[10]。

1.2 仪器工作条件

为了便于进行多种元素同时测定, 通过优化实验选择了如下工作条件(见表 1)。

收稿日期: 2006-09-13, 修订日期: 2006-12-28

基金项目: 国土资源地质大调查项目(1212010660902)资助

作者简介: 孙德忠, 女, 1968 年生, 国家地质实验测试中心高级工程师

e-mail: sundezhong_1@yahoo.com.cn

Table 1 ICP-AES operating conditions

参数	设定值	参数	设定值
RF 功率/W	1 150	雾化器压力/psi	28
蠕动泵转速/(r·min ⁻¹)	130	辅助气流量/(L·min ⁻¹)	1.0
短波积分时间/s	20	冷却气流量/(L·min ⁻¹)	15
长波积分时间/s	10	溶液提升量/(mL·min ⁻¹)	2.0

1.3 样品的处理方法

将样品于 80 °C 烘干 4 h, 根据样品的灰分的百分含量(见表 2)估算样品称样量(使灰分尽量在 30 mg 以下), 精确称取样品, 置于铂金坩埚中, 在电热板上预灰化至无烟后取下, 再放入马弗炉升温至 600 °C 灰化 3 h 后取出, 转入碳棒车制石墨坩, 并把装有样品的石墨坩放入磁坩中, 如灰质疏松先把灰倒入净称量纸中直接小心转移至石墨坩中, 如灰质较硬, 把灰倒入净称量纸, 用称量纸将灰包裹好后, 隔纸把样品碾碎后再用干净毛刷转移至石墨坩中, 按质量比 4 : 1 (熔剂 : 熔质)的比例覆盖 LiBO₂ 120 mg, 混匀。放入已升温至 1 000 °C 的马弗炉中熔 15 min 取出, 于熔融状态倒在已装有约 10 mL 5% 王水, 容积为 50 mL 的玻璃烧杯中, 使高温的样品熔体骤冷裂成碎片, 并马上将烧杯放入超声清洗器中, 利用超声溶解样品, 如采用加热来加速溶解或没有立即进行超声溶解, 由于溶液局部碱性过强或受热不均匀, Si 会以 Si 酸的形式析出^[11], 熔珠完全溶解后用 5% 王水转移至 25 mL 比色管中, 再加入 1 mL Cd 内标溶液, 定容至刻度。

1.4 标准溶液的配制

浓度 250 μg·mL⁻¹ 的 Cd 作为内标溶液。标准及内标元素 Si, Al, Ca, Mg, Fe, Na, P, Sr, Ti, Mn, Cd 均采用光谱纯或优级纯配制, 标准贮备液均为 1 000 μg·mL⁻¹。标准溶液用标准贮备液逐级稀释而成, Si, Ca Na, Mg, P 的标准溶液浓度均为 100 μg·mL⁻¹, 并加入内标溶液 Cd, 使其最后浓度和样品一致, Al, Fe, Sr, Ti, Mn 标准溶液浓度均为 10 μg·mL⁻¹。由于采用偏硼酸锂熔样, 样品溶液中引入了大量的锂盐, 因此在配制标准溶液时, 加入了与样品溶液相当的偏硼酸锂, 并加入一定量的王水, 以便保证标准溶液的基体和酸度与样品溶液基本一致。以试剂空白溶液作为低点, 配制的标准溶液为高点对等离子体光谱仪进行标准化, 然后对样品进行测定。也可用标准物质与样品同时进行化学处理, 制备成溶液作为校准曲线的高点。

2 结果与讨论

2.1 不同种类生物样品的灰分和称样量

由于熔质和熔剂比例是一定的, 并且最后样品测试溶液的基体要和标准溶液匹配, 即偏硼酸锂的浓度一致, 所以要根据样品的灰分来估算称样量。表 2 列出了一些生物样品的灰分和本方法的大致称样量(以干样计)。对于未知样品, 可以尽量多取样, 灰化后, 对灰分恒重并压碎混匀后取大约 30 mg 碱熔。

2.2 溶剂和溶质比的确定

对于一般 Si 酸盐地质样品, 熔剂和熔质的质量比为

(2.5~5) : 1, 但考虑到生物样品的灰分含 Si 比岩石样品低得多, 而且经过高温煅烧, 可以尽量减少熔剂量, 以减少试剂空白和测试溶液的含盐量, 经过实验确定溶剂和溶质的质量比为 4 : 1, 熔体不沾石墨坩埚, 且最后的样品溶液澄清透明, 说明样品熔得比较彻底。

Table 2 The contents of ash and the mass of test portion in different kinds of biological samples (calculated by dry samples)

类别	灰分/%	称样量/g
精粮(大米, 小麦, 玉米)	~1	~3
豆类	~5	~2
植物(根茎叶)	~10-15	~0.2
乳制品(奶粉)	~5	~2
肉类	~5	~2
果实类	~5	~2
毛发类	~5	~2

2.3 灰化温度的选择

有的种类的生物样品(如鸡肉, 粮食等)600 °C 长时间也不能完全灰化, 灰分仍呈黑色, 通过实验发现即使样品没有完全灰化, 对结果影响也不大。这是因为残留的有机物经过第二次 1 000 °C 的高温熔融, 能够完全去除。灰化温度太高会使样品灰分板结, 不利于和溶剂的充分混匀。而温度太低, 使灰化时间变长, 并且有机物残留太多, 不利于样品的转移和溶剂加入量的准确计算。通过实验发现大多数的生物样品在 600 °C 时基本上能彻底灰化。

2.4 分析元素的校准

未知样品元素浓度采用外标法, 既可采用人工合成标准溶液(人工合成标准溶液需与样品溶液同天配制), 也可采用天然标准并加入内标, 实验证明用这两种外标法所得的结果并无明显差别。本工作采用国家一级标准物质 GBW07603 (灌木枝叶)、GBW07604 (杨树叶)或 GBW07605 (茶叶)作为参考标准的高点进行标化, 与人工合成多元素标准溶液相比, 采用同类型天然标准物质制备标准溶液具有制备简单, 流程相同, 可扣除同一本底。并可有效减少系统偏差等优点, 但其不足之处是元素的推荐值与真值之间的偏差将被未知样品继承^[12], 所以要尽量多制备几个校准用标样, 以验证校准过程的准确。为了校正基体效应以及仪器和进样系统的波动影响。本工作实验了在样品和制备的天然标准样品溶液和人工合成多元素标准溶液中加入内标元素 Cd, 结果的精密度较理想。

2.5 方法的准确度和精密度实验

分别称取在同一实验室, 由同一操作者使用相同设备, 按本方法 10 次独立测定 GBW07604 (杨树叶), 得到本方法精密度, 见表 3。

2.6 分析线及方法检出限

本法报出的检出限是连续对测定 10 个不同空白批次的空白溶液, 取其 3 倍标准偏差(σ)所得浓度为各元素的方法检出限^[13]。各元素的分析线、空白平均值及方法检出限列于

表 4。

由于不同种类的生物样品灰分差异很大(见表 2), 所以称样量不同, 样品的稀释倍数也不同。表 3 所列各方法检出限以溶液的浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)表示。粮食类样品灰分少, 说明无机元素含量低, 有机物含量高, 由于有机物可以通过灰化除去, 因此可以加大称样量, 从而降低检出限, 这是本方法和其他直接测量方法如波长色散 X 荧光(WDXRF), 中子活化(INAA)^[14, 15]相比的优势之一。

Table 3 Data of accuracy and precision

元素	平均值/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	RSD/%	标样推荐值	RE/%
Ca*	1.89	2.8	1.81±0.13	4.2
Mg*	6.69	3.2	0.65±0.05	3
Si*	0.71	2.8	0.71±0.08	-0.03
Al	1 009	3.0	1 040±60	-3
Fe	282	4.6	274±17	2.8
Mn	44.5	2.3	45±4	-1.2
Na	221	3.8	200±13	10
P	1 734	2.8	1 680±60	3.2
Sr	165	2.9	154±9	7.2
Ti	18.4	23	20.4±2.2	-9.6

注: * 元素含量单位为%

2.7 共存无机元素干扰及波长的选择

本实验把生物样品灰化再用偏硼酸锂熔融后, 样品只剩下无机元素基体, 而生物样品的无机元素基体比较简单, 且经过高倍稀释后, 溶液的主基体为熔剂偏硼酸锂, 通过文献

[16]可知, 锂对大多数元素的影响并不很大, 测定时对背景进行自动扣除, 并采用仪器中设计的离峰法校正。测定时, 由于不同种类生物样品的 Si, Ca, Mg, P, Na 等含量相差较大, 应选择灵敏线和次灵敏线测定, 最后根据同种类型标准样品的测定结果来确定谱线。

Table 4 Analysis line and detection limit

元素	分析线 /nm	空白平均值 / $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	检出限 / $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
Si	212.4	0.17	0.12
Si	251.6	0.15	0.12
Al	396.1	0.031	0.020
Fe	240.4	0.19	0.20
Ca	183.8	0.14	0.16
Ca	317.9	0.17	0.17
Mn	260.5	0.006	0.005
Mg	285.2	0.036	0.033
Mg	383.8	0.040	0.052
Na	589.5	0.12	0.097
P	213.6	0.026	0.051
Sr	407.7	0.001	0.001
Ti	334.9	0.017	0.055

2.8 不同种类的生物标准物质分析结果

作者采用这种方法参与了地矿部物化探所最近研制的不同种类的生物样品成分分析国家标准物质的定值工作^[10], 所得的结果平均值(各平行 4 份)见表 5。

Table 5 The analytical results for different biological reference materials($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

元素	GBW10010 大米		GBW10011 小麦		GBW10012 玉米		GBW10013 黄豆		GBW10014 圆白菜	
	平均值	推荐值	平均值	推荐值	平均值	推荐值	平均值	推荐值	平均值	推荐值
Si*	0.022	0.025	0.005	0.008	0.007	0.008	0.011	(0.013)	0.018	0.024
Al*	0.037	0.037	0.009	0.011	0.029	0.033	0.053	(0.047)	0.017 5	0.016 6
Ca*	0.009	0.011	0.030	0.034	0.005 1	0.005 5	0.139	0.153	0.696	0.70
Mg*	0.034	0.041	0.041	0.045	0.015	0.018	0.219	0.23	0.230	0.241
Fe	8.7	7.9	14.8	18.7	9.21	13.3	130	139	114	98
Mn	13.4	17	4.5	5.4	1.15	1.55	24.0	28	19.3	18.7
Na	20.2	25	14.6	17	13.9	(10)	12.4	(15)	1.12*	1.07*
P*	0.127	0.136	0.154	0.154	0.058	0.061	0.641	0.664	0.429	0.46
Sr	0.35	0.30	2.32	2.54	0.25	0.19	9.0	9.9	44.7	48
元素	GBW10015 菠菜		GBW10016 茶叶		GBW10017 奶粉		GBW10018 鸡肉		GBW10019 苹果	
	平均值	推荐值	平均值	推荐值	平均值	推荐值	平均值	推荐值	平均值	推荐值
Si*	0.212	0.212	0.091	0.099	0.002		0.007	(0.013)	0.004	0.005
Al*	0.057	0.060	0.081	0.094	0.002 2	(0.003 5)	0.01 3	0.015	0.006 4	0.006 6
Ca*	0.639	0.658	0.328	0.326	0.934	0.94	0.019	0.022	0.047	0.049
Mg*	0.512	0.552	0.180	0.186	0.088	0.096	0.112	0.128	0.035	0.039
Fe	561	540	246	242	33.5	7.8	33.6	31	10.3	15.7
Mn	35.3	40.6	442	496	1.03	0.51	1.22	1.65	2.32	2.6
Na	1.47*	1.50*	140	90	0.482*	0.47*	0.139*	0.142*	0.121*	0.114*
P*	0.328	0.354	0.444	0.447	0.739	0.764	0.899	0.956	0.063	0.066
Sr	76.9	87	8.8	9.2	5.28	5.3	0.73	0.64	6.61	6.9

注: * 元素含量单位为%

2.9 关于有机 Si 问题

文献[17]提到生物样品所含的有机硅(聚硅氧烷)具有挥发性,灰化时可能会导致损失。而本实验分别采用国家一级标准物质 GBW07603(灌木枝叶)、GBW07604(杨树叶)或 GBW07605(茶叶)作为参考标准的高点进行标化和人工配制的标准溶液相比结果没有明显差别,而随后用本方法参与了其他十种类型的生物标样定值工作,结果(见表 5)和推荐值比较吻合,进一步说明大部分生物样品挥发性有机 Si 含量

较低。

2.10 与 Al 的酸溶法结果比较

Al 属于典型的两性元素,理论上来说酸溶法的结果应该偏低。但也经常有人试图用湿硝化法或干灰化后酸溶法等经典方法处理生物样品并测量 Al 的含量^[18,19]。本实验分别用干法灰化后酸溶和直接微波酸溶法处理标准物质,并用 ICP-AES 对 Al 进行测定,结果如表 6 所示。

Table 6 Comparison of analytical results for aluminium in different biological reference materials by different methods(%)

样品	推荐值	灰化后碱溶	灰化后酸溶	微波酸溶
GBW10010(大米)	0.037±0.006	0.037	0.015	0.027
GBW10011(小麦)	0.011±0.002	0.009	0.004 7	0.009
GBW10012(玉米)	0.033±0.003	0.029	0.003 2	0.021
GBW10013(黄豆)	(0.047)	0.053	0.020	0.024
GBW10014(圆白菜)	0.016 6±0.002 2	0.017 5		0.004 5
GBW10015(菠菜)	0.060±0.005	0.057	0.031	0.038
GBW10016(茶叶)	0.094±0.009	0.081	0.052	0.085
GBW10017(奶粉)	(0.0035)	0.00 22		
GBW10018(鸡肉)	0.015±0.00 2	0.013	0.012	0.013
GBW10019(苹果)	0.006 6±0.000 8	0.006 4	0.000 7	0.006 4

从上面的结果可以看出大部分样品两种酸溶法的结果都偏低,特别是干法灰化后酸溶,可能是样品中的 Al 在灰化过程都被氧化成 Al_2O_3 , 更加不易用酸提取。文献上经常用加标回收来检验方法的准确度,由于加入样品的是 Al 的标准溶液,Al 本来就是以离子状态存在的,回收率理想并不能代表样品中 Al 能全部溶解。所以还是应该尽量用标准物质的测量结果来检验方法的准确性。

3 结 论

本实验采用干灰化结合偏硼酸锂碱熔灰分的前处理方

法,并用 ICP-AES 测定 SiAl 等元素含量,取得了满意的结果。该方法具有较高的灵敏度、准确度和精密性,适用多种类型的生物样品。但由于 Si 的全流程空白较高($0.15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),更适用于 Si 含量相对比较高的生物样品。当样品中的 Si 含量较低时可采用文献[14]提供的方法,该方法用四甲基氢氧化铵(TMAH)通过微波对样品进行高压无氧分解,Si 的方法测定下限仅有 $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,但由于四甲基氢氧化铵的碱性较弱,不能完全消解结构致密的生物样品,如:植物纤维质和木材等。

参 考 文 献

- [1] Kristien V D, Harry R. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2000, 15(6): 735.
- [2] Sadler K, Lynam S. Journal of Fish Biology, 1987, 31: 209.
- [3] Sposito G. The Environmental Chemistry of Aluminum, 2 Boca Raton, Florida: CRC Press Inc., 1995.
- [4] Debray M E, Kreiner A. Journal of American Institute of Physics, Conference Proceedings, 1997, 392: 567.
- [5] Lewis T E. Environmental Chemistry and Toxicology of Aluminum, Michigan Chelsea: LEWIS Publishers Inc, 1989.
- [6] WANG Hui-qin, YANG Zhi-bin (王慧琴, 杨志斌). Analytical Chemistry(分析化学), 1996, 24(5): 587.
- [7] Čačvi -Vlasak B A, Thompson M, Smith D C. Analyst, 1996, 121: 53R.
- [8] WANG Xiao-ping, GAO Wei-jian, XIANG Su-liu(王小平, 高伟健, 项苏留). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(2): 348.
- [9] Krushevska A, Barnes R M. J. Anal. At. Spectrom., 1994, 9: 131.
- [10] YAN Ming-cai, SHI Chang-yi, GU Tie-xing, et al(严明才, 史长义, 顾铁新, 等). Rock and Mineral Analysis(岩矿测试), 2006, 25(2): 159.
- [11] GU Li-bing, SHAO Hong-xiang, SHU Gui-ming(古丽冰, 邵宏翔, 舒桂明). Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(光谱实验室), 2000, 17(5): 503.

- [12] LI Bing, SHI Shi-yun, HE Hong-liao, et al(李冰, 史世云, 何红蓼, 等). Rock and Mineral Analysis(岩矿测试), 2001, 20(4): 242.
- [13] LI Bing, YANG Hong-xia(李冰, 杨红霞, 编著). The Principles and Applications of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (电感耦合等离子体质谱原理和应用). Beijing: Geological Press(北京: 地质出版社), 2005.
- [14] Velandia J A, Perkson A K. J. Radioanal. Chem., 1974 20: 715.
- [15] Ward N I, Mason J A. J. Radioanal. Chem., 1987, 113: 515.
- [16] LU Hui-wen, WANG Ying-jie(鲁慧文, 王英杰). Jilin Geology(吉林地质), 2005, 24(2): 119.
- [17] Hauptkorn S, Pavel J, Seltner H, Fresenius J. Anal. Chem., 2001, 370: 246.
- [18] HE Jin-zhe, LIANG Shi-jun(何晋浙, 梁世君). Guangzhou Food Science and Technology(广州食品工业科技), 2003, 19(4): 84.
- [19] LIU Ying, LI Jing-feng, GA Ri-di, et al(刘颖, 李景峰, 嘎日迪, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(2): 344.

Determination of Si, Al and Other in Biological Samples by ICP-AES with Fusion with LiBO_2 after Dry Ashing

SUN De-zhong, HE Hong-liao, WEN Hong-li, MA Sheng-feng, GONG Ai-hua, YIN Shao-quan
National Research Center of Geoanalysis, Beijing 100037, China

Abstract An alkaline sample digestion procedure using fusion with lithium metaborate (LiBO_2) after dry ashing was developed. Silicon, aluminium and other, a total of 10 elements in different kinds of biological samples, were measured by ICP-AES. The detection limit of this method was $0.15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ for Si and $0.03 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ for Al. The accuracy and precision of the method were demonstrated by analyzing certified reference materials poplar leaves (GBW07604). The precision was less than 3% and the accuracy was -0.03% for Si and -3% for Al. This method was applied to the certification of a series of ten biological reference materials. The results were satisfied.

Keywords Fusion with lithium metaborate; Silicon; Aluminium; ICP-AES; Biological materials

(Received Sep. 13, 2006; accepted Dec. 28, 2006)