

ICP-AES 测定林蛙皮肤中多种微量元素

侯天平 王松君^a 侯悦^b

(吉林工程技术师范学院 长春市宽城区凯旋路 3050 号 130052)

^a(苏州科技学院化学与生物工程学院 江苏省苏州市 215011)

^b(爱荷华州立大学工程学院 美国埃姆斯市 50011)

摘 要 针对林蛙皮肤组织生物有机体的复杂组成,进行微波辅助消解、硝酸过氧化氢湿法消解和低温干灰化法三种制备样品方法比较,利用数理统计方法确定最佳样品处理方法。微波消解法具有时间短、有机质消解能力强和试样溶液均匀性好的特点,可以大大缩短分析流程,在 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2\text{-HCl-H}_2\text{O}$ 酸溶体系,阶段性输出功率条件下进行试样密闭消解制备样品的方法,采用标准溶液基体匹配法消除基体干扰,利用 ICP-AES 分析技术,同时检测林蛙皮肤组织样品常量和微量元素。该方法经国家猪肝标准物质 GBW 08551 验证,测得方法相对误差为 0.17%—6.67%,方法回收率为 97.6%—100.6%。各项检测指标均能满足生物样品检测要求,达到满意的测量结果。

关键词 电感耦合等离子体-原子发射光谱法; 林蛙; 皮肤组织; 微波消解; 微量元素

中图分类号: O 657.31

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2009)06-1422-05

1 前言

中国林蛙是集食、药、补为一体的特种食药经济动物,是我国重要的经济蛙类。吉林省长白山是中国林蛙主要产区,所产的林蛙以产油量高、蛙油价值佳而享誉国内外。近年来,对于林蛙的研究出现了多方位的趋势。在深入研究哈蟆油的药理基础上,林蛙组织样品的药化^[1,2]分析不断揭示出林蛙更深层次和潜在的医疗保健作用及经济价值。林蛙产业已成为发展地方经济的重要支柱产业之一。林蛙皮肤作为一种副产品,其化学成分及经济价值日渐受到重视。如林蛙皮抗菌肽:从长白山林蛙皮肤中提取、分离出具有抗菌活性的蛋白及多肽的混合物,其抗菌效果明显。林蛙皮面膜、林蛙皮美容胶囊:以林蛙皮为主料,配以其他美容功能成分,经超微技术、真空干燥技术生产,具有良好的保湿养颜美容保健功效^[2]。

目前,国内外有关中国林蛙油的成分及其部分功能已有较多研究报道^[1,2],但关于林蛙皮肤组织微量元素测试方法的研究报道所见极少^[1]。本文作者通过电感耦合等离子体-原子发射光谱法(ICP-AES)研究动植物^[3-5]样品分析的基础上,以长白山林蛙皮肤组织样品为例,进行林蛙皮肤组织样品化学处理的方法比较,建立微波消解-ICP-AES 技术同时多元素检测的分析方法。

2 实验部分

2.1 仪器及工作条件

——见参考文献[4]。——

联系人,手机: (0) 13013770227; E-mail: wangsongjun@sina.com

作者简介: 侯天平(1956—),男,长春市人,副教授,研究方向: 经济动物研究。

收稿日期: 2009-04-22; 接受日期: 2009-05-11

2 2 标准溶液

用标准储备液, 配制混合标准溶液, 在 STD1-STD4 标准中加入 1% 的基体元素 Ca 和 P 进行基体匹配, 为避免某些元素间的化学干扰按其化学性质高浓度标准溶液分为四组。各种浓度值见表 1。

表 1 标准溶液浓度							($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
待测元素							基体
STD1 浓度	0.00						Ca(1%), P (1%)
STD2	Mg	Cd	Be	Cu	Mo	Pb	基体
浓度	12.5	12	10	11	10	10	Ca(1%), P (1%)
STD3	Al	Fe	Co	In	Mn	Ni	基体
浓度	10.6	13	10	10	12	13	Ca(1%), P (1%)
STD4	B	Ba	Cr	La	V	Y	基体
浓度	10	11	10	10	12	10	Ca(1%), P (1%)
STD5	Ca	P					
浓度	5%	5%					

2 3 样品处理

分别准确称取 0.1000g 林蛙皮肤组织样品各 20 份, 放入体积为 100mL 密闭的聚四氟乙烯微波消化罐中, 加入 8mL HNO_3 和 1mL H_2O_2 浸泡过夜。次日, 加入 1mL HCl 和 5mL H_2O 放入微波炉内消解, 先在输出功率为 150W 条件下消解 10min, 然后在输出功率为 360W 条件下消解 5min, 取出冷却, 开盖, 在 120℃ 恒温电热板浓缩试液体积约 1mL 时, 取下冷却后用二次蒸馏水定容于 10mL 容量瓶中, 待测。

3 结果与讨论

3 1 样品制备

3 1 1 干法制备样品^[6]

准确称取 1.0000g 林蛙外皮组织样品 11 份于石英坩埚中, 2 个空白样品。置于高温炉中, 从低温逐渐升温到 200℃, 保持 1h; 继续升至 300℃, 保持至黑烟冒尽后, 逐渐升温到 550℃, 关上炉门灼烧 4h。取出坩埚, 此时样品呈灰白色, 加 1mL 硝酸溶解灰份, 用二次蒸馏水定容到 10mL 容量瓶中, 摇匀待测。检测数据列于表 2。

3 1 2 湿法制备样品^[7]

准确称取 0.1000g 林蛙外皮组织样品 11 份于聚四氟乙烯坩埚中, 带 2 个空白。加入 5mL 硝酸、0.5mL 高氯酸, 盖上坩埚盖, 放置 24h。第二天取下坩埚盖, 将坩埚置于可控恒温电热板上升温至 120℃, 消解溶解。待试样溶解完全呈透明液时则浓缩至体积约为 1mL, 取下, 冷却后用二次蒸馏水定容于 10mL 容量瓶中, 摇匀待测。检测数据列于表 2。

3 1 3 微波辅助制备样品

见 2.3 样品处理, 检测数据列于表 2。

3 2 微波消解条件

微波消解程度与试剂的种类、用量以及输出功率的大小有一定的关系, 本实验根据无机酸的性质、ICP-AES 技术对酸液的要求和微波条件的特点三种情况的有机结合, 选用硝酸、盐酸和过氧化

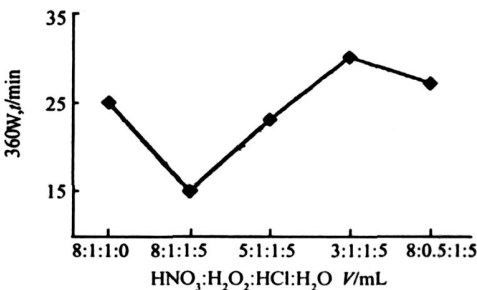


图 1 微波消解条件实验

氢为溶剂, 根据实验结果(见图 1 所示), 选择 $\text{HNO}_3\text{-HCl-H}_2\text{O}_2\text{-H}_2\text{O}$ (8 1 1 5) 酸溶体系针对其动物样品复杂的碳氢化合物、蛋白质、类脂组成进行消解^[8,9]。

3 3 林蛙皮肤组织样品制备方法

比较 微波辅助消解、酸湿法消解和 低温干灰化 3 种方法处理林蛙外皮组织样品的测试平均值、标准偏差(S)、相对标准偏差(RSD) 数据和最小 RSD 数值统计结果列于表 2。相对标准偏差为 0.50%—5.06%。

表 2 生物组织样品制备条件试验 (n= 11, $\omega(\text{B})/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

序号	均值	均值	均值	S	S	S	RSD (%)	RSD (%)	RSD (%)
	微波	湿法	干法	微波	湿法	干法	微波	湿法	干法
Al	239	212	259	2.20	1.08	12.15	0.92	0.51	4.69
Fe	751	749	686	8	11	29	1.03	1.52	4.20
Ca	28513	28295	26270	144	235	1820	0.50	0.83	6.93
Mg	2168	1913	2008	36	53	116	1.66	2.77	5.78
B	8.59	7.59	9.70	0.1	0.3	0.76	1.22	3.95	7.87
Ba	111.5	113	84.1	2.3	0.25	3.53	2.06	0.22	4.21
Cd	0.79	0.83	0.61	0.04	0.07	0.06	5.06	8.43	9.09
Cu	24.2	13.4	28.5	0.6	0.64	1.71	2.48	4.77	6.0
La	16.63	16.00	14.88	0.36	0.55	1.02	2.14	3.41	6.82
Mn	48.64	47.89	37.54	0.58	1.02	1.63	1.19	2.13	4.33
P	37729	36335	37325	267	1005	1995	0.71	2.77	5.34
Pb	14.1	13.4	19.5	0.21	0.3	1.48	1.49	2.24	7.58
Sr	36.15	33.23	29.00	0.71	1.05	0.11	1.96	3.16	0.38
Ti	12.66	11.65	14.20	0.18	0.23	1.15	1.46	1.97	8.07
V	5.72	5.49	7.39	0.06	0.23	0.39	1.14	4.1	5.28
Zn	193	188	148	2.85	2.8	11.7	1.47	1.49	7.91
最小 RSD	方法			微波		湿法		干法	
统计结果	最小 RSD: 元素			13 16		2 16		1 16	

表 2 可知, 通过 3 种林蛙外皮组织样品处理方法所测得 16 个元素共计 48 个 RSD% 数值进行数理统计, 得出各种方法最小 RSD% 所占元素的比例为: 干法为 1/16, 湿法为 2/16, 微波法为 13/16。得出结论: 微波辅助消解处理样品的方法所测定的最小 RSD% 所占比例为 81.25%。因此本实验选择用微波消解方法制备样品, 比较适合有机体复杂的生物组织样品的检测^[9]。

3 4 方法测定下限、准确度、回收率实验

分别测量基体空白溶液、国家标准物质 GBW 08551(猪肝标准物质) 各 11 次, 由 JA 90-750 型 ICP-AES(美国热电公司) 实时测控软件仪器性能检测系统自动计算方法测定下限, 各元素相对误差为 0.17%—6.67%, 回收率为 97.6%—100.6%, 平均值。实验结果列于表 3。

表 3 方法测定下限、准确度(RE)、回收率 (n= 11, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

序号	Fe*	Ca	Mg	Cd	Cu	Mn	P*	Pb	Zn
测定下限	0.01	0.09	0.09	0.009	0.02	0.004	0.23	0.13	0.004
平均值	0.107	201	732	0.064	17.2	8.41	1.35	0.58	170
推荐值	0.105	197	747	0.067	17.2	8.32	1.3	0.54	172
RE (%)	2.03	- 1.97	- 4.03	- 4.03	0.17	1.03	3.85	6.67	- 1.22
序号	Al	B	Ba	La	Ni	Sr	Ti	V	Y
测定下限	0.09	0.015	0.007	0.03	0.04	0.04	0.01	0.04	0.006
加标试样测定值	22.42	32.41	28.06	6.32	7.36	35.56	7.07	6.16	6.71
试样测定值	12.61	22.35	18.2	1.38	2.48	25.61	2.16	1.22	1.68
加标量	10.00	10.00	10.00	5.00	5.00	10.00	5.00	5.00	5.00
回收率 (%)	98.1	100.6	98.6	98.8	97.6	99.5	98.2	98.8	100.6

注: * 为 $[\omega(\text{B})/10^{-2}]$

3 5 样品测定

分别取林蛙内皮和外皮样品个 20 份, 按 2.3 微波消解制样方法处理样品, 分别测得试样溶液

中各元素平均值列于表 4。

表 4 林蛙皮肤样品检测数据 [n= 20, ω(B)/μg·g⁻¹]

样品名称	Al	Fe	Ca	Mg	B	Ba	Cd	Cu
林蛙内皮平均值	87.2	307.3	34057	1765	6.69	90.36	-	7.06
林蛙外皮平均值	239.9	752.3	28473	2170	8.55	111.5	0.80	23.9
样品名称	La	Mn	P	Pb	Sr	Ti	V	Zn
林蛙内皮平均值	18.7	38.8	41095	-	39.3	8.76	6.72	132.9
林蛙外皮平均值	16.62	48.62	37757	14.12	36.01	12.61	5.71	195.4

4 结论

由于 ICP 中试样是在通道里进行蒸发、分解、电离和激发的, 试样成分的变化对于高频趋肤效应的电学参数的影响(即基体干扰效应)很小, 在优化仪器工作参数条件下, 保持试样溶液和标准溶液具有大致相同的基体是十分重要的。本实验在标准溶液中加入 Ca、P 主要元素, 采用基体匹配法消除基体效应。实验数据分析: 林蛙内皮和外皮微量元素含量差异较大, 元素 Al、Fe、Cu、Zn 的含量外皮要比内皮高 1.5—3 倍, 特别是受污染影响的重金属元素 Cd、Pb 内皮样品没有检出, 另外元素 Ca、La、P、Sr、V 的含量林蛙内皮高于外皮, 各种微量元素在增强生物肌体的免疫机能等方面具有重要的生理作用, 而且与其生长环境密不可分, 其规律性有待于进一步研究。本实验方法可以为野生动物组织样品微量元素的检测提供一种快速可行实用的分析手段。

参考文献

[1] 常平, 王松君, 王飞等. ICP-AES 法测定林蛙组织中多种微量元素方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(3): 556—559
[2] 温铁峰, 卫功庆, 蔡凤坤. 圈养与野生东北林蛙皮肤营养成分比较研究[J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(6): 663—666
[3] 常平, 王松君, 王璞. ICP-AES 同时测定人参中多种微量元素[J]. 光谱实验室, 2006, 23(4): 723—726
[4] 王松君, 常平, 孙春华等. 蚂蚁粉中多种微量元素 ICP-AES 法检测[J]. 光谱实验室, 2002, 19(1): 131—133
[5] 阳胜. ICP-AES 同时测定不同产地贝母中多种微量元素[J]. 光谱实验室, 2007, 24(4): 683—686
[6] 王松君, 常平, 王璞等. 电感耦合等离子体发射光谱法同时测定野生葡萄籽中多元素的方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(1): 151—153
[7] 侯天平, 王松君, 曹林等. 微波消解 ICP-AES 法检测动物毛被中微量元素的方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(8): 1933—1937
[8] 古丽克孜·阿日甫. 微波消解-ICP-AES 同时测定维吾尔医药中多种元素含量[J]. 光谱实验室, 2005, 22(5): 987—990
[9] 王松君. 改进的等离子体原子发射光谱分析技术在矿产勘查样品中的应用[D]. 长春: 吉林大学, 2007.

Determination Method of Microelements in Skin
of Rana Dybowskii by ICP-AES

HOU Tian-Ping WANG Song-Jun^a HOU Yue^b

(Jilin Normal Institute of Engineering and Technology, Changchun 130052, P. R. China)

^a(Suzhou University of Science and Technology of Chemistry and Bioengineering, Suzhou, Jiangsu 215011, P. R. China)

^b(College of Engineering, Iowa State University, Ames, IOWA 50011, USA)

Abstract Methods of preparation sample were studied comparatively for complex frog skin tissue organism of Rana dybowskii by microwave assistant digestion, wet process digestion of nitric acid-hydrogen peroxide, and dry ashing process of low temperature. Optimally method of preparation

sample were confirmed by method of mathematical statistics. The method of microwave digestion have characteristics of consuming short time and better digestion for organism and good uniformity. The system of acidic solvent $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2\text{-HCl-H}_2\text{O}$ by condition of phased output power was adopted for the matrix matching to eliminate matrix interference. The macroconstituent and trace elements of rana dybowskii skin were detected by ICP-AES. This method was verified by national pork liver standards GBW 08551. The relative error is between at 0.17%—6.67%. The recovery is between at 97.6%—100.6%. The detection data all satisfy standards of biological tissue detection.

Key words ICP-AES; Rana Dybowskii; Frog Skin Tissue; Microwave Digestion; Microelements

欢迎您投稿“高效、保质”的中文核心期刊

《光谱实验室》

这是您的发明、发现获得“优先权”的可靠保障!

发表周期多数(50% - 75%)为 4—8 个月,

少数(20% - 45%)为 1—4 个月,个别(0- 7%)为 15—30 天

及时发表科技论文,是尽早实现其社会效益的前提,也是作者创造性劳动得到尊重、为在世界上取得“优先权”的可靠保障,因为发明、发现的“优先权”通常是以出版时间为准的。因此,本刊把尽快发表作者的论文,视为自己的神圣职责。

确保论文质量是论文早日发表的条件。作者发表论文总是要反映自己在工作有所发明、有所发现和有所创造的成绩,而不是去暴露自身的“缺欠”和“毛病”;换言之,作者发表论文总是要为自己“争光”,而不是让自己“蒙羞”。因此,作者投稿之前,除了自己要反复检查外,一定要多请您周围的同事、专家挑“毛病”,把“毛病”消灭在投稿之前,再投本刊才能发表得快。如果本刊挑出毛病,再请作者修改,反复“折腾”,不仅消耗双方精力,而且必然延长发表时间。保证质量的基本要求就是论文要做到“齐、清、定”。“齐”即全稿包括表、图和照片等齐全;“清”即文字图片打印(书写)清楚,不得有模糊不清的文字、图片和数字,段落要分明,便于排版和校对;“定”即做到稿件内容完整,在编辑过程中无须增删修改。

来稿请用 Word 或北大方正排版,用电子邮件发到本部电子信箱[E-mail: (1) gpsys@263.net; (2) gpsys@periodicals.net.cn]。为避免某一个电子信箱的服务器发生故障而延误收稿,建议作者向本刊两个信箱同时发送电子邮件。

本刊收到作者来稿后,都会在 16 小时(遇公休日顺延)内发出“关于收到稿件的通知”。因此,作者发送稿件后 5 日以上都没有消息,一定要及时来电查询。

一篇论文出版,常常需要反复沟通“作者→编辑部→审者→编辑部→作者”之间的联系,其中与作者的联系是最重要的一环,一旦脱节,必然中断编辑过程。因此作者来稿时,务必将联系人的正确的姓名和详细地址、办公室电话、手机号码、传真号码和电子信箱等(通讯方式要尽可能全)告诉编辑部,以便能与您及时联系。否则,由此而产生的不良后果由作者自己负责。

本刊发表论文的宗旨是学术交流,而不是应付“评职称”。

《光谱实验室》编辑部