

响应面法优化提取-原子吸收光谱法 测定茶叶中的铅^①

熊春红 黄晓君 彭康年 谢明勇^②

(南昌大学食品科学与技术国家重点实验室 南昌市南京东路 235 号 330047)

摘 要 研究超声辅助提取(UAE)快速测定茶叶铅。采用 Plackett-Burman 设计和响应面法得优化提取条件:200mg 样品中加入 $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2(1:1, V/V)$ 5mL 浸泡 6min、78℃ 超声 8.4min。对 GBW 10016 茶叶, 该法测定值与标准值符合, 加标回收率为 96.0%—102.2%, 检出限 $0.041\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 重复测定的 RSD 为 6.3%。该法测定 45 个茶鲜叶和 10 种商品茶, 铅含量(干基)在 $0.39\text{—}1.22\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间, 与湿法消解(WAD)结果无显著差异。

关键词 响应面法; 提取; 原子吸收光谱法; 铅; 茶叶

中图分类号: O657.31

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)06-2759-04

1 引言

作为世界三大饮料之一, 茶叶 Pb 的限量和快速测定关系到茶叶贸易及食用安全。按照《GB 5009.12-2010 食品中铅的测定》^[1], 茶叶消解方法有干法、湿法和高压消解等, 均耗时长、耗试剂多或有高压隐患。研究发现, 引入超声波强化酸、氧化剂提取重金属更具有优势, 如用于污水污泥^[2]、蔬菜和谷物^[3]等。由于超声波频率高、穿透力强, 有特殊的冲击破碎等作用, 能显著提高基料中组分的提取效率^[4], 使消解步骤简化、降低试剂污染。但应用于茶叶的铅测定未见报道。本文新采用 Plackett-Burman 设计和响应面法进行全面研究。

2 实验部分

2.1 仪器、试剂与样品

KQ2200E 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司), 超声频率 40kHz; PE-AA 700 原子吸收光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司); Milli-Q[®] Academic 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

所用试剂均为优级纯。实验用水为超纯水(电阻率为 $18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$)。

所有器皿洗净后于 10% 硝酸浸泡 48h, 超纯水冲洗 5 次, 晾干。铅标准储备液 $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 质控茶标样: GBW 10016 茶叶(铅含量 $1.5\pm 0.2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 购自国家标准物质中心; 基体改进剂: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 溶液 $20\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 配制校准曲线及试样、空白测定时均加入 $4\mu\text{L}$ 。

采集江西省 5 个茶区 11 个市县 45 个一芽二叶茶鲜叶, 其中高山样(海拔 300m 以上)23 个, 公路边样 22 个; 以及当地与鲜叶对应品牌商品茶 10 种。茶鲜叶经自来水、超纯水清洗 3 次; 130℃ 杀青 5min 后于 80℃ 烘干, 取出摊凉。玛瑙研钵研磨, 尼龙筛过筛取 $\leq 58\mu\text{m}$ 样。

① 国家自然科学基金资助项目(20462005)

② 联系人, 电话: (0791) 3969009(办); E-mail: myxie@ncu.edu.cn; xmync@163.com

作者简介: 熊春红(1971—), 女, 江西省进贤县人, 副教授, 硕士, 主要从事食品安全与分析研究工作。

收稿日期: 2011-01-21; 接受日期: 2011-03-16

2.2 消解方法、铅含量(干基)分析

超声辅助提取(UAE, Ultrasound-assisted extraction)法: 按表 1 中的水平以及表 2 组, 准确称量茶标样于 25mL 聚四氟乙烯器皿中, 提取后加超纯水定容至 10mL, 3000r/min 离心 5min。取上清液待测。同时做空白对照。其余茶叶样则根据优化后的条件操作。湿法消解(WAD, Wet acid digestion)法: 按文献[1]中 6.2.4 的方法消解。与同组 UAE 法取同重量样品。

表 1 Plackett-Burman 试验设计的因素、水平和显著性

因素	符号	水平(-)	水平(+)	<i>T</i> 值	<i>P</i>
浸泡时间(min)	Pt	2	10	- 1.46	0.205
超声时间(min)	St	2	10	3.83	0.012
超声温度(℃)	T	40	80	3.87	0.012
称样量(mg)	SM	50	200	1.68	0.154
HNO ₃ + HClO ₄ (9+ 1)(mL)	A	2	5	1.14	0.307
HNO ₃ : H ₂ O ₂ (1: 1, V/V)(mL)	B	2	5	2.64	0.046

原子吸收光谱仪条件: 波长 283.3nm, 光谱通带 0.7nm, 灯电流 12mA, 氘灯扣背景, 空气: 乙炔= 17.0: 2.0, 氩气流量 200mL/min, 进样量 20μL, 峰面积定量。石墨炉条件(温度℃/启动调整 s/保持 s): 干燥 100/ 5/ 20, 140/ 15/ 15; 灰化 700/ 10/ 20; 原子化 1800/ 0/ 5; 清除 2600/ 1/ 5。

配制 0、10.0、30.0、50.0、70.0μg · L⁻¹ 的铅标准系列溶液, 测定吸光强度, 得出校准曲线。

3 结果与讨论

3.1 Plackett-Burman (PB) 试验设计确定各因素的主要效应

PB 设计及测定结果见表 1、表 2。全文均以 Minitab15 处理数据。铅提取率 ERL(Extraction rate of lead, %) 为: [UAE 法测得的铅含量]/[WAD 法测得的铅含量] × 100%。P< 0.05 说明因素影响显著。其中 T、St 和 B 对 ERL 的影响显著。

表 2 筛选显著性因素的 Plackett-Burman 设计表 (n= 6, 平均值±标准偏差)

组	<i>Pt</i>	<i>St</i>	<i>T</i>	<i>SM</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	ERL (%)	组	<i>Pt</i>	<i>St</i>	<i>T</i>	<i>SM</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	ERL (%)
1	+	-	+	-	-	+	46.6±1.0	7	-	+	+	+	+	+	98.0±1.7
2	+	+	-	+	-	-	48.9±1.5	8	-	-	+	+	-	+	67.0±1.9
3	-	+	+	-	-	-	64.0±2.0	9	-	-	-	+	+	-	58.7±1.1
4	+	-	+	+	+	-	54.4±2.2	10	+	-	-	-	+	+	40.0±1.8
5	+	+	-	+	-	+	58.4±1.8	11	-	+	-	-	+	+	60.1±2.2
6	+	+	+	-	+	-	89.0±2.3	12	-	-	-	-	-	-	34.2±1.0

3.2 响应面优化试验设计及结果分析

根据中心组合设计原理进行优化试验, 设计及结果见表 3。取 *Pt*= 6min, *SM*= 200mg。

表 3 中心组合设计因素、水平及结果 (n= 6, 平均值±标准偏差)

组	<i>St</i> (min)	<i>T</i> (℃)	<i>B</i> (mL)	ERL (%)	组	<i>St</i> (min)	<i>T</i> (℃)	<i>B</i> (mL)	ERL (%)
1	2	40	2	48.2±2.7	11	6	26.3641	3.5	41.2±1.4
2	10	40	2	53.5±2.0	12	6	93.6359	3.5	83.7±1.6
3	2	80	2	55.6±1.8	13	6	60	0.9773	62.5±1.5
4	10	80	2	74.0±2.1	14	6	60	6.0227	81.5±1.7
5	2	40	5	43.8±1.9	15	6	60	3.5	81.6±2.3
6	10	40	5	55.7±1.8	16	6	60	3.5	81.5±1.7
7	2	80	5	79.8±2.3	17	6	60	3.5	84.0±1.5
8	10	80	5	99.0±1.8	18	6	60	3.5	83.5±1.2
9	- 0.7272	60	3.5	48.0±1.9	19	6	60	3.5	83.2±1.0
10	12.7272	60	3.5	70.4±2.2	20	6	60	3.5	83.7±1.1

3. 2. 1 模型的建立及其可靠性检验

表 3 的结果进行回归拟合后, 得到如下函数: $Y = -24.37 + 5.49St + 1.87T - 0.52St^2 - 0.02T^2 - 1.69B^2 + 0.03StT + 0.15StB + 0.21TB$, Y —— ERL 的预测值; T 、 St 、 B 分别为——各自的未编码值。

进一步进行方差分析来验证回归模型及显著度。失拟项 $P = 0.452 > 0.05$, 表明回归拟合的模型成立。试验设计可靠。另外方程中交互项和二次项对 Y 值的影响均高度显著。

3. 2. 2 铅提取率响应面优化及验证

运用 Minitab15 作出响应曲面(图 1), 并优化得到提取条件: $St = 8.4\text{min}$, $T = 78.0^\circ\text{C}$, $B = 5.1\text{mL}$ (实际操作取 5mL), ERL 的理论最大值为 99.9%。采用最优条件超声提取 GBW 10016 的铅, 所得 ERL 为 100.0%(见表 4), 与理论预测值极接近, 说明得到的模型及提取条件准确。

3. 3 UAE 法的检出限、准确度、精密度

按 2. 2 绘制校准曲线, 回归方程 $y = 0.0049x + 0.0026$, $R^2 = 0.9995$, 线性范围 $0\text{--}90\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 检出限(Limit of detection, LOD)为 $0.041\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。(LOD= $3s/m$, 其中: s ——连续 11 次全程序空白试验的标准偏差, m ——校准曲线的斜率)。表 4 显示, GBW 10016 测定值与标准值符合良好, 测定值的 RSD 为 6.3%。表 5 中加标回收率 96.0%—102.2%。方法精密度理想, 重现性好。

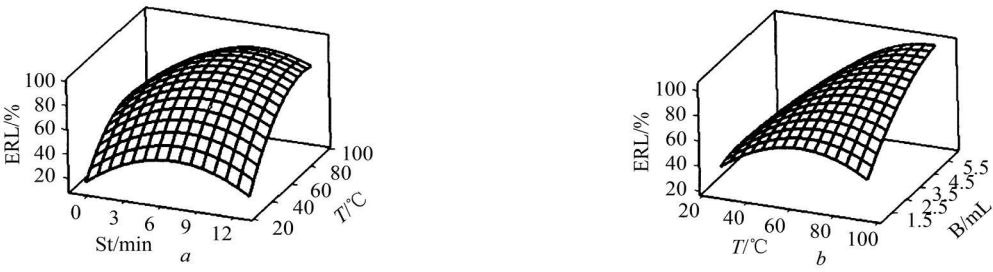


图 1 因素对 ERL 影响的响应面图
a—— St 与 T ; b—— B 与 T 。

表 4 标准参考物质茶叶(GBW 10016)的测定 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $n = 6$, 平均值±标准偏差)

元素	标准值	WAD		UAE		实测 ERL(%)
		测定值	相对误差(%)	测定值	相对误差	
铅	1.5 ± 0.2	1.6 ± 0.2	6.7	1.6 ± 0.1	6.7	100.0 ± 2.0

表 5 GBW 10016 的加标回收试验 ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

元素	样品原含量	加标含量	测定总含量		回收率(%)	
铅	30.2	30.0	59.0	59.8	96.0	98.7
		50.0	81.3	80.3	102.2	100.2

3. 4 UAE 法、WAD 法测定茶样品及比较

表 6 中, UAE 法测定的茶鲜叶和商品茶叶铅含量在 $0.39\text{--}1.22\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 经 “one-way ANOVA” 分析: 高山组与公路边组, $P = 0.692 > 0.05$, 铅含量差异不显著, 表明: 江西茶种植环境比较平均、良好。茶鲜叶组 ($0.59 \pm 0.52\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 与商品茶叶组 ($0.73 \pm 0.25\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), $P = 0.432 > 0.05$, 铅含量差异不显著, 但采摘后的加工过程使铅含量提高了 24%。UAE 法与 WAD 法比较, $P = 0.979 > 0.05$, 两者结果无显著差异。

表 6 UAE 法与 WAD 法测定茶鲜叶及商品茶叶中的铅 (mg · kg⁻¹, 平均值±标准偏差)

茶样品		U AE 法测定值	W AD 法测定值	ERL (%)
茶鲜叶	高山(<i>n</i> = 23)	0. 56±0. 49	0. 55±0. 30	101. 8±2. 0
	公路边(<i>n</i> = 22)	0. 62±0. 56	0. 63±0. 41	98. 4±1. 5
商品茶叶(<i>n</i> = 3)	庐山云雾	0. 65±0. 05	0. 64±0. 04	101. 6±0. 9
	狗牯脑	0. 70±0. 06	0. 71±0. 06	98. 6±0. 7
	婺源茗眉	0. 63±0. 05	0. 63±0. 05	100. 0±2. 0
	浮瑶仙芝	0. 72±0. 06	0. 71±0. 07	101. 4±1. 7
	前岭银毫	1. 02±0. 09	1. 01±0. 10	100. 1±0. 8
	白槎家乡茶	1. 22±0. 10	1. 24±0. 11	98. 4±0. 9
	梅岭毛尖	0. 85±0. 08	0. 84±0. 06	101. 2±1. 5
	赤水仙 · 岩眉	0. 64±0. 06	0. 63±0. 06	101. 6±1. 8
	南山雀眉	0. 44±0. 03	0. 44±0. 05	100. 0±2. 0
	玉山春芽	0. 39±0. 02	0. 38±0. 04	102. 6±1. 9

4 结 论

UAE-AAS 用于茶叶铅的测定, 快捷, 实用。多因素试验设计及响应面优化获得了最优提取条件。该法测定江西茶鲜叶及商品茶的铅含量均< 2mg · kg⁻¹, 与 WAD 法无显著差异。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家标准. 食品中铅的测定[S]. GB 5009. 12-2010. 北京: 中国标准出版社, 2010.

[2] Deng J C, Feng X, Qiu X H. Extraction of Heavy Metal from Sewage Shidge U sing U ltrasound-Assisted Nitric Acid[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2009, **152**(1): 177—182.

[3] Kazi T G, Jamali M K, Arain M B *et al.* Evauation of an Ultrasonic Acid Digestion Procedure for Total Heavy Metals Determination in Environmental and Biological Samples[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **161**(2—3): 1391—1398.

[4] Becerril B E, Lamas J P, Sanchez P L *et al.* Ultrasound-Assisted Emulsification-Microextraction of Fragrance Allergens in Water [J]. *Chemosphere*, 2010, **81**(11): 1378—1385.

Determination of Lead in Tea Leaves by AAS-Optimization of Extraction with Response Surface Method

XIONG Chun-Hong HUANG Xiao-Jun PENG Kang-Nian XIE Ming-Yong
(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, P. R. China)

Abstract A rapid ultrasound-assisted extraction (UAE) method for the determination of lead in tea leaves was developed. The optimized conditions were obtained by a Plackett-Burman design and response surface methodology as follows: HNO₃ : H₂O₂(1 : 1, V/ V) 5mL was added to 200mg sample by ultrasound extraction for 8. 4min at 78. 0℃ after soaking 6min. The detection results showed the good agreement with the certified values of GBW 10016. Recovery, detection limit and RSD of replicate measurements were 96. 0%—102. 2% , 0. 041μg · L⁻¹ and 6. 3%, respectively. The Pb concentrations of 45 fresh tea leaves and 10 branded tea were determined to be 0. 39—1. 22mg · kg⁻¹ on a dried basis. No significant differences were found between UAE method and WAD method.

Key words Response Surface Method; Extraction; AAS; Lead; Tea Leaves
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.c>