

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20170516001

http://www.yykxjz.cn/

刘慧, 李应东, 张凤枰, 刘耀敏. 微波-干灰化混合消解和原子荧光光度法测定鱼粉中总砷. 渔业科学进展, 2018, 39(4): 167-172

Liu H, Li YD, Zhang FP, Liu YM. Determination of total arsenic in fishmeal using Microwave-Dry ashing mixed digestion coupling with atomic fluorescence spectrophotometry. Progress in Fishery Sciences, 2018, 39(4): 167-172

微波-干灰化混合消解和原子荧光光度法 测定鱼粉中总砷*

刘 慧^{1,2} 李应东³ 张凤枰^{1,2①} 刘耀敏^{1,2}

(1. 四川威尔检测技术股份有限公司 成都 610041; 2. 通威股份有限公司 水产畜禽营养与健康养殖
农业农村部重点实验室 成都 610041; 3. 通威股份有限公司昆明分公司 昆明 650217)

摘要 采用微波-干灰化混合消解法进行前处理, 原子荧光光度法测定鱼粉中的总砷含量。结果显示, 样品经微波消解、干灰化、原子荧光分光光度法分析, 加标回收率为 96.8%~103.6%, 相对标准偏差为 2.4%, 检出限为 0.1 μg/L; 采用 CNAS 能力验证鱼粉样品, 微波-干灰化混合消解法总砷测定结果与中位值一致。研究表明, 微波-干灰化混合消解法能减少前处理过程中砷(As)因高温或消解不完全导致的损失, 使鱼粉中的各种形态的 As 完全转化为无机砷离子, 方法重现性好、准确可靠, 是测定鱼粉中的总砷含量理想的前处理方法, 也可以用于砷形态比较复杂的食品、饲料等样品中总砷的测定。

关键词 微波-干灰化混合消解; 原子荧光光度法; 总砷; 鱼粉

中图分类号 O655.9; TS201.6 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2018)04-0167-06

鱼粉含有大量的蛋白质和钙(Ca)、磷(P)等矿物质, 能促进动物生长发育, 是最好的动物饲料原料(王丹红等, 2004)。砷(As)是动物生长的必需元素之一, 当缺乏 As 元素时, 可导致动物心肌和骨骼肌纤维萎缩、生长滞缓、怀孕率低、自发流产较多、死亡率较高等(贾涛, 2013; 唐志华, 2003)。但 As 也是一种蓄积性有害元素, 当其在体内蓄积量超过一定限量, 就会产生毒性作用, 会对动物的心肌、呼吸、生殖和免疫系统造成损伤(康家琦等, 2004), 甚至会造成基因突变、DNA 甲基化改变、诱发癌症等(Hughes *et al.*, 2002)。人类社会生产活动产生的工业废水、生活污

水, 风化和生物活动等自然过程使环境中 As 含量升高(杨婉玲等, 2013; 朱参胜等, 2009), 鱼类体中的 As 含量也随之升高(Tisler *et al.*, 2002), 造成鱼粉原料中 As 超标, 直接导致饲料 As 超标, 给人类食品安全带来不利影响, 从而威胁人类健康(康家琦等, 2004; 朱参胜等, 2009; 白爱梅等, 2007)。因此, 对鱼粉中 As 含量的准确测定是非常重要的。样品中总砷含量的检测结果准确与否, 取决于前处理过程能否将样品中不同形态的 As 完全转化为砷离子, 且前处理过程中 As 的损失量较少。目前, 测定总砷的前处理方法主要有干灰化法、微波消解法和湿法消解法(宋洪强等,

* 四川省科技支撑计划(2016NZ0068)和四川省青年科技创新研究团队专项计划(2015TD0024)共同资助 [This work was supported by the Technology Research and Development Program of the Department of Science and Technology of Sichuan (2016NZ0068), and Youth Science and Technology Innovation Team Program of Department of Science and Technology of Sichuan(2015TD0024)]. 刘 慧, E-mail: liuh@willtest.cn

① 通讯作者: 张凤枰, 高级工程师, E-mail: fengpingzhang@163.com

收稿日期: 2017-05-16, 收修改稿日期: 2017-06-11

2010; 安建博等, 2015; 王锬等, 2010; Nishimura *et al.*, 2010)。干灰化法碳化阶段样品易起泡、飞溅, 灰化过程中, As 易因高温损失, 导致检测结果偏低(宋洪强等, 2010); 微波消解法受到酸种类、酸用量和最高温度的限制, 对 As 形态较为复杂的样品, 不能将样品中不同形态的 As 完全转化为砷离子, 造成结果偏低(宋洪强等, 2010; 傅余强等, 2010); 湿法消解法一般采用硝酸-高氯酸-硫酸体系, 若消解温度低于 300℃, 无法将样品中的 As 完全消解转化为砷离子, 这种方法通常需要放置过夜, 耗费时间较长, 且该方法酸用量大, 耗费试剂多, 危险性较大, 并在消解时需随时观察试剂的量值和避免碳化(宋洪强等, 2010)。本研究采用微波消解和干灰化法联用, 即微波-干灰化混合消解法(以下简称混合消解法), 旨在克服干灰化法、微波消解法和湿法消解法 3 种前处理方法的缺点, 研究建立适合鱼粉总砷含量测定的前处理方法, 为鱼粉的质量控制提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

1.1.1 仪器 AFS-9130 原子荧光光度计, AFS-9x (Version6.20) 数据处理软件(北京吉天仪器有限公司); 砷空心阴极灯(北京有色金属研究总院); ETHOS 1 微波消解仪(意大利 Milestone 公司); CP224S 电子分析天平(德国 Sartorius 公司); 恒温水浴锅, 万用电炉(北京中兴伟业仪器有限公司); 箱式电阻炉(沈阳市节能电炉厂)。

所有玻璃器皿均在 20% 的稀硝酸中浸泡 24 h 后使用。

1.1.2 试剂 砷单元素溶液标准物质, 1000 mg/L, 编号为 GBW08611(中国计量科学研究院); 盐酸, 原子荧光纯(成都科龙化工试剂厂); 30% 过氧化氢, 优级纯(成都科龙化工试剂厂); 硝酸, 优级纯(国药集团化学试剂有限公司); 硝酸镁、硼氢化钾、氢氧化钾和硫脲, 均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司); 水为 Milli-Q Gradient 去离子水(电阻超过 18 MΩ); 高纯氩气(纯度大于 99.99%)。

1.1.3 样品 1、2、3 号国产鱼粉样品于当地市场购买; CNAS T0508 鱼粉和 T0744 鱼粉能力验证样品(山东出入境检验检疫局检验检疫技术中心)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理

1.2.1.1 干灰化 称取试样 2~3 g 于 50 ml 瓷坩埚

中, 加入 5 ml 150 g/L $Mg(NO_3)_2$, 混匀, 于低温蒸干, 碳化至无烟后, 转入高温炉 550℃, 恒温灰化 3.5 h, 取出冷却, 缓慢加入 10 ml 6 mol/L HCl 溶液, 待激烈反应后, 煮沸并转移至 50 ml 容量瓶中, 向容量瓶中加入 2.5 ml 50 g/L 硫脲溶液, 用去离子水洗涤坩埚 3~5 次, 洗液一并转入容量瓶中, 用去离子水定容, 摇匀, 待测(国家质量监督检验检疫总局等, 2006)。同时, 做试剂空白。

1.2.1.2 微波消解 称取试样 0.3~0.5 g 于消解罐中, 加入 6 ml HNO_3 , 2 ml 30% H_2O_2 , 盖好消解罐的安全阀, 并放入微波炉消解系统中, 设定升温程序, 20 min 升温至 180℃, 保温 20 min, 冷却至室温, 取出于电热板上赶酸, 冷却后转移至容量瓶, 向容量瓶中加入 2.5 ml 50 g/L 硫脲溶液, 定容, 摇匀, 待测(王锬等, 2010)。同时, 做试剂空白。

1.2.1.3 微波-干灰化混合消解 称取试样 0.3~0.5 g 于消解罐中, 步骤同 1.2.1.2, 消解程序完成后, 冷却至常温, 用去离子水转移至 25 ml 容量瓶中, 定容, 混匀备用。准确移取 10 ml 消解液于 50 ml 瓷坩埚中, 加入 5 ml 150 g/L $Mg(NO_3)_2$, 混匀, 于沸水浴中蒸干, 低温碳化至无烟, 然后转入高温炉 550℃, 恒温灰化 3.5 h。取出冷却后, 步骤同 1.2.1.1。同时, 做试剂空白。

1.2.2 仪器工作条件 AFS-9130 原子荧光光度计测定 As 的仪器工作条件: 负高压 207 V, 灯电流 65 mA, 原子化器温度 200℃, 原子化器高度 8 mm, 载气流量 400 ml/min, 屏蔽气流量 800 ml/min, 读数时间 7 s, 延迟时间 1.5 s。

1.2.3 校正曲线及样品分析 用 5% HCl 配制最高浓度为 50.00 μg/L 的标准溶液, 测量时, 仪器自动配制 5.00、10.00、20.00、30.00、50.00 μg/L As 标准系列, 标准曲线相关系数 R 为 0.9995 以上。在相同条件下测定样品, 从校正曲线上求得样品中总砷的含量。

2 结果与讨论

2.1 3 种前处理方法比较

3 个国产鱼粉样品分别用干灰化法、微波消解法、混合消解法处理, 氢化物-原子荧光分光光度法测定其总砷含量, 结果见表 1。从表 1 可以看出, 与混合消解法相比, 干灰化法处理的鱼粉中总砷的检测结果偏低 50% 左右, 微波消解法偏低 90% 以上。这可能是由于干灰化法的碳化阶段样品起泡、飞溅, 液态 $Mg(NO_3)_2$ 与固态样品不能充分反应, 未能与样品中的 As 完全反应, 生成不挥发的焦磷酸镁, 从而使

表1 干灰化法、微波消解法和混合消解鱼粉总砷测定结果
Tab.1 The amount of total arsenic in fishmeal determined by dry-ashing, microwave digestion and microwave-dry ashing mixed digestion (mg/kg)

样品 Samples	干灰化 Dry-ashing		微波消解 Microwave digestion		混合消解 Mixed digestion	
	测定结果 Result	平均值 Average value	测定结果 Result	平均值 Average value	测定结果 Result	平均值 Average value
1	1.54	1.50	0.20	0.21	2.81	2.98
	1.45		0.22		2.95	
2	3.82	3.86	0.31	0.32	7.46	7.42
	3.91		0.33		7.37	
3	5.04	5.08	0.67	0.68	9.23	9.29
	5.12		0.70		9.35	

大量的 As 在 550℃ 的高温灰化阶段挥发损失, 导致结果偏低。微波消解法的温度较低, 不超过 200℃, 这仅将样品消解为溶液状态, 不能将鱼粉中的有机砷如二甲基砷、三甲基砷、砷糖等消解为砷离子(李朝霞等, 2011; 刘敏敏等, 2013; 戚平等, 2011), 且在硝酸氧化体系中, 消解温度须达 300℃ 才能将有机砷完全转为五价砷离子(宋洪强等, 2010), 因此, 微波消解法不适合 As 形态比较复杂样品中总砷的测定。而混合消解法很好地克服前 2 种方法的缺点, 鱼粉经微波消解后呈液态, 再加入 $Mg(NO_3)_2$ 溶液, 液-液反应更完全, 在灰化阶段 $Mg(NO_3)_2$ 能与 As 完全反应生成焦砷酸镁而被固定住, 大大减少了 As 的挥发, 降低了 As 的损失。

2.2 精密度实验

对 3 个国产鱼粉进行了混合消解法精密度研究, 结果见表 2。从表 2 可以看出, 3 个国产鱼粉样品中总砷的检测结果相对标准偏差(RSD)均小于 2%, 说明该方法重现性好。

2.3 回收率实验

对 CNAS T0508 鱼粉和 T0744 鱼粉进行加标, 采用混合消解法进行消解, 以能力验证鱼粉样品总砷含量中位值计算方法回收率, 结果见表 3。从表 3 可以看出, 采用微波-干灰化混合消解法处理鱼粉样品, 总砷回收率为 96.8%~103.6%, 平均回收率为 99.8%, 相对标准偏差为 2.4%, 由此可见, 该方法能较准确

表2 精密度实验结果
Tab.2 The results for the method precision

样品 Samples	测定结果 Result (mg/kg)						平均值 Average (mg/kg)	相对标准偏差 RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
1	2.84	2.87	2.92	2.84	2.95	2.81	2.87	1.86
2	7.47	7.45	7.37	7.42	7.39	7.46	7.43	0.54
3	9.25	9.29	9.23	9.28	9.31	9.35	9.28	0.46

表3 回收率实验结果
Tab.3 The results for recovery

样品 Samples	添加量 Spiked (mg/kg)	本底值 Original (mg/kg)	测定值 Result (mg/kg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
T0508	10	7.18	17.27	100.90	99.8	2.4
			17.06	98.80		
			16.99	98.10		
T0744	5	2.94	7.78	96.80		
			7.96	100.40		
			8.12	103.60		

测定鱼粉中的总砷含量。

2.4 验证结果

对 CNAS T0508 鱼粉和 T0744 鱼粉采用混合消解法处理, 总砷检测结果见表 4。从表 4 可以看出, 混合消解法测定的总砷含量与能力验证报告中位值基本一致, 相对偏差小于 1%, 而干灰化和微波消解的鱼粉总砷含量与中位值的相对偏差约达 45%和 95%。

因此, 混合消解法较干灰化和微波消解法而言, 能更准确地测出鱼粉中总砷的含量。

2.5 检出限

在线性范围 0~50 $\mu\text{g/L}$ 内, As 的相关系数良好, $R^2=0.9996$, 对样品空白溶液连续进行 11 次荧光强度测定, 以 3 倍空白的标准偏差除以标准曲线的斜率求出检出限为 0.1 $\mu\text{g/L}$ 。

表 4 CNAS T0508 和 T0744 鱼粉样品干灰化、微波消解和混合消解法测定结果

Tab.4 The determination result of CNAS T0508 and T0744 fishmeal by dry-ashing, microwave digestion and mixed digestion

样品 Samples	前处理方法 Method	测定值 Result (mg/kg)	平均值 Average value (mg/kg)	参考值 Standard value (mg/kg)	相对偏差 Relative deviation (%)
T0508	干灰化法 Dry-ashing	3.98	3.84	7.18	46.51
		3.71			
	微波消解法 Microwave digestion	0.25	0.25		
T0744	干灰化法 Dry-ashing	7.26	7.16	2.94	0.32
		7.05			
	微波消解法 Microwave digestion	0.20	0.20		
	混合消解法 Mixed digestion	2.86	2.92		0.83
		2.98			

3 结论

分别采用干灰化、微波消解和微波-干灰化混合消解法对 3 个国产鱼粉样品、2 个 CNAS 能力验证鱼粉样品进行前处理, 利用氢化物-原子荧光分光光度法测定总砷含量, 微波-干灰化消解法克服了干灰化易损失、微波消解不能使有机砷转化为砷离子的缺点, 能减少前处理过程中 As 因高温或消解不完全导致的损失, 使鱼粉中各种形态的 As 完全转化为无机砷离子。该方法灵敏、准确、重现性好, 与常用的微波消解、干灰化消解和湿法消解 3 种消解方式相比较, 不仅能将鱼粉中的 As 完全转化为无机砷离子, 而且比湿法消解节省了约 20 ml 浓酸的用量, 避免了消解过夜, 节省至少约 5 h 的前处理时间, 更加环保、安全, 是测定鱼粉中的总砷含量理想的前处理方法, 也可以用于 As 形态比较复杂的样品中总砷的测定。

参 考 文 献

An JB, Shen NM, Zhang YW, *et al.* The comparison of 3

pretreatment methods for total arsenic determination by with atomic fluorescence spectrometry in food. Chinese Journal of Food Hygiene, 2015, 27(5): 520-524 [安建博, 沈讷敏, 张玮玮, 等. 原子荧光法测定食品中总砷的 3 种前处理方法比较. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(5): 520-524]

Bai AM, Li Y, Fan ZX. The hazardous effects of arsenic on human health. Studies of Trace Elements and Health, 2007, 24(1): 61-62 [白爱梅, 李跃, 范中学. 砷对人体健康的危害. 微量元素与健康研究, 2007, 24(1): 61-62]

Fu YQ, Wang YT, Xu Q, *et al.* The effect of conditions of wet digestion of shrimp meal on determination of total arsenic content. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2010, 29(S1): 435-437 [傅余强, 王妍婷, 徐琴, 等. 湿法消解虾粉的条件对总砷含量测定的影响. 分析实验室, 2010, 29(S1): 435-437]

General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine, Standardization Administration of the People's Republic of China. Determination of total arsenic in feed(GB/T 13079-2006), 2006 [国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化委员会. 饲料中总砷的测定(GB/T 13079-2006), 2006]

- Jia T. Determination of arsenic in fish meal by atomic fluorescence spectrometry. *Feed and Husbandry*, 2013(3): 36-38[贾涛. 原子荧光法检测鱼粉中砷的含量. *饲料与畜牧*, 2013(3): 36-38]
- Hughes MF. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicology Letters*, 2002, 133(1): 1-16
- Kang JQ, Jin YL. Study progress of adverse effects of arsenic on health. *Journal of Hygiene Research*, 2004, 33(3): 372-375[康家琦, 金银龙. 砷对健康危害的研究进展. *卫生研究*, 2004, 33(3): 372-375]
- Li ZX, Cai HM, Sun WH, *et al.* Optimization of digestion method of arsenic in fish meal. *Feed Research*, 2011(12): 39-42[李朝霞, 才洪美, 孙卫华, 等. 鱼粉中砷消解方法的优化. *饲料研究*, 2011(12): 39-42]
- Liu MM, Chen Q. Effects of different digestion methods on determination of total arsenic in fish meal by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2013, 23(4): 1041-1042[刘敏敏, 陈俏. 不同消化方法对氢化物发生-原子荧光法测定鱼粉中总砷的影响. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23(4): 1041-1042]
- Nishimura T, Hamanogaoka M, Sakakibara N, *et al.* Determination method for total arsenic and partial-digestion method with nitric acid for inorganic arsenic speciation in several varieties of rice. *Journal of Food Hygiene Safety Sciences*, 2010, 51(4): 178-181
- Qi P, Zeng T. Affection of digestion methods on the determination of As in shrimp by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Studies of Trace Elements and Health*, 2011, 28(6): 30-32[戚平, 曾涛. 消解方式对氢化物原子荧光法测定虾粉中总砷的影响. *微量元素与健康研究*, 2011, 28(6): 30-32]
- Song HQ, Hao YB, Wu YC, *et al.* Comparison of wet, microwave digestion and dry ash pretreatment methods for the determination of total arsenic in seafood by atomic fluorescence spectrometer. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2010, 29(4): 367-372 [宋洪强, 郝云彬, 吴益春, 等. 原子荧光光度法中湿法消解、微波消解、干灰化前处理法测定水产品中总砷含量的比较. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2010, 29(4): 367-372]
- Tang ZH. Trace element arsenic and health. *Guangdong Trace Elements Science*, 2003, 10(3): 10-13[唐志华. 微量元素砷与人体健康. *广东微量元素科学*, 2003, 10(3): 10-13]
- Tisler T, Zagorc-Koncan J. Acute and chronic toxicity of arsenic to some aquatic organisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2002, 69(3): 421-429
- Wang DH, Cai CP, Wu W, *et al.* Monitoring and risk of heavy metals in imported fish meal. *Inspection and Quarantine Science*, 2004, 14(6): 32-33 [王丹红, 蔡春平, 吴文, 等. 进口鱼粉中重金属的监测与风险分析. *检验检疫科学*, 2004, 14(6): 32-33]
- Wang K, Wei XH, Wang KY, *et al.* Research on the determination of total arsenic content in shrimp power. *Chemical Analysis and Meterage*, 2010, 19(2): 42-44[王锬, 卫晓红, 王开宇, 等. 虾粉中总砷测定方法的探讨. *化学分析计量*, 2010, 19(2): 42-44]
- Yang WL, Pang SX, Wang C, *et al.* Arsenic concentrations in water, sediment, and aquatic animals from the Pearl River estuaries and its distribution characteristics and ecological risk evaluation. *Ecology and Environmental Sciences*, 2013, 22(4): 650-656 [杨婉玲, 庞世勋, 王超, 等. 珠江口水、沉积物及生物体 As 含量分布特征及生态风险评价. *生态环境学报*, 2013, 22(4): 650-656]
- Zhu CS, Liang XZ. Arsenic toxicology and its effects on human Health. *Journal of Environment Health*, 2009, 26(6): 562-563[朱参胜, 梁晓聪. 砷的毒理及其对人体健康的影响. *环境与健康杂志*, 2009, 26(6): 562-563]

(编辑 陈严)

Determination of Total Arsenic in Fishmeal Using Microwave-Dry Ashing Mixed Digestion Coupling with Atomic Fluorescence Spectrophotometry

LIU Hui^{1,2}, LI Yingdong³, ZHANG Fengping^{1,2}①, LIU Yaomin^{1,2}

(1. *Sichuan Willtest Technology Co. Ltd., Chengdu 610041*; 2. *Key Laboratory of Aquatic, Livestock, Poultry Nutrition and Healthy Culturing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tongwei Co. Ltd., Chengdu 610041*; 3. *Kunming Tongwei Feed Stuff Co. Ltd, Kunming 650217*)

Abstract Fishmeal is an important animal protein feed that is rich in protein and vitamins and is a major raw material of animal feed. Arsenic is an essential element for animal growth but is also a cumulative toxic element. Arsenic poses a great threat to animals when its concentration exceeds a certain limit. Serious environmental pollution has caused an increase in the level of arsenic in the environment, and thus, the content of arsenic has increased in fish. This can directly affect the quality of fishmeal, with unfavorable effects on food safety. Therefore, it is crucial to accurately determine the content of total arsenic in feed stuffs. The accurate determination of total arsenic in samples depends on pre-treatment methods. At present, the major pre-treatment methods for arsenic include dry-ashing, wet digestion, and microwave digestion, but none of these methods can completely convert the speciation of arsenic to arsenic ion. Dry-ashing leads to the loss of arsenic due to high temperature and spatter. Wet digestion and microwave digestion do not convert complex forms of arsenic to arsenic ion because of temperature, acid type, and dosage. A novel method was established for the quantitative determination of total arsenic in fishmeal by atomic fluorescence spectrophotometry after microwave dry-ashing mixed digestion. Fishmeal was digested in a microwave, ashed, and the arsenic content was detected by atomic fluorescence spectrophotometry. Recovery was in the range 96.8%~103.6%, the relative standard deviation was 2.4%, and the detection limit was 0.1 µg/L. Results of China National Accreditation Service for Conformity Assessment proficiency testing were in accordance with the median. The results indicated that microwave dry-ashing mixed digestion can reduce the loss associated with the high-temperature of ashing and incomplete microwave digestion, and convert different forms arsenic into arsenic ion. This effective, sensitive, and reproducible method can be used to determine total arsenic levels in fishmeal and other complex samples containing arsenic forms.

Key words Microwave-dry ashing mixed digestion; Atomic fluorescence spectrophotometry; Total arsenic; Fishmeal

① Corresponding author: ZHANG Fengping, E-mail: fengpingzhang@163.com