

## Atomic Absorption

作者:

Jijun Yao

Renkang Yang

Jianmin Chen

PerkinElmer, Inc.  
Shelton, CT 06484 USA

## 采用石墨炉原子吸收 光谱法测定不同乳制品 中的铅

### 前言

牛奶是人类最基本的食物组成之一，无论其是以原始的形态出现还是以各种乳制品出现。2008年婴儿配方奶粉被污染的丑闻一旦在中国公开后，国家加大了公众对污染可能性的意识，并加强了监管

乳制品的严格性。中国现在面临的要求是，无论是国内还是国外，都需要改善食品安全。众所周知，铅是有毒的元素，会损害神经系统，对年幼的儿童会产生众多不利的影 响，这也是自70年代以来它一直是备受关注的原 因。

根据世界卫生组织 (WHO) 标准，铅在饮用水中允许的上限为10 ug/kg (ppb)。以下深入审查毒理学文献中显示，中国对于婴儿配方奶粉 (ppb湿重) 中铅含量上限为20 ug/kg (使用牛奶作为原料，取适量准备投入使用的产品，将奶粉溶解为液体奶以后测定)，对于新鲜牛奶中铅的限量为50 ug/kg。

历年以来，对于铅的分析，石墨炉原子吸收光谱法 (GF-AAS) 都是主流的方法之一。目前，中国监管部门认可的进行铅分析的标准方法中，石墨炉原子吸收光谱法被认定为食品检测的强制仲裁方法。为了更好地保护消费者，所用的分析方法应该具备灵敏度高，效率高而且成本低等特点，以便监测工作能更有效地完成。石墨炉作为一种成熟的技术，通俗易懂，而且在常规实验室中使用较为频繁，因此非常适合用于此项检测。样品制备对于整个实验分析来说起着至关重要的作用，而且也是整个过程中最为耗时的一个部分。

通常来说,牛奶是成乳液或带有水流基体的乳脂球胶体状态。原奶的详细成分会因动物种类的不同而有差别,但是它们都包含有乳糖,脂肪,蛋白质,矿物质以及维生素等。正是由于这些复杂基体的存在,在测定样品前,通常建议对牛奶样品进行微波消解或者加热酸消化处理,以达到完全分解牛奶样品的目的。然而,这种做法将消耗很多的时间,而且当样品溶液中的铅含量在ug/kg时,对于整个前处理过程的质量控制要求非常严格,相比简单的稀释来说,对于试剂空白的要求及环境的要求也更为严格。

为了克服这些问题,此实验建立了一种简单的采用直接稀释的方法用于样品的制备,然后采用石墨炉原子吸收光谱法进行自动分析。这种方法最大限度减少了样品制备的时间,并减少了潜在污染的来源,而且保证的分析的速度。

## 实验条件

### 仪器

采用带有火焰和纵向塞曼石墨炉的珀金埃尔默PinAAcle 900 T型原子吸收光谱仪(见图1)用于不同牛奶样品中铅含量的测定。PinAAcle 900T采用横向加热的方式与纵向塞曼相配合,使整个石墨管的管长方向上温度分布均匀且恒定。这完全实现了恒温平台石墨炉技术(STPF)在石墨炉分析中的应用,当分析悬浮液样品时,我们可以采用水溶液的标准曲线来校准样品中的复杂基体并获得准确可靠的结果。且记忆效应及潜在干扰的减少可以提高样品的吸收信号。



图 1. 带有AS900石墨炉自动进样器的 PinAAcle 900T 原子吸收光谱仪

仪器配有AS 900自动进样器,实验使用珀金埃尔默铅空心阴极灯(货号: N3050157)作为光源。在所有的测量过程中均使用到标配的石墨管(货号: B0504033)和1.2 ml的聚丙烯自动进样器样品杯(货号: B0510997)。仪器采用WinLab 32软件进行控制,该软件时在微软Windows 7操作系统下运行的。PinAAcle 900T仪器设置参数总结见表1:

表 1. PinAAcle 900T仪器参数设置

参数	值
波长:	283.3 nm
狭缝:	0.7 nm
灯电流:	10 mA
信号测量:	峰面积
测量类型:	AA-BG
测量时间:	5 s
重复次数:	3
校准点:	4, 10, 15, 20 $\mu\text{g/L}$
进样体积:	16 $\mu\text{L}$

### 样品采集

本实验一共调查了6种不同乳制品的15个样品,代表了中国商品化牛奶的主要类型,包括奶粉,脱脂奶粉,全脂奶,低脂奶,儿童牛奶和酸奶。所有的样品均是从原始包装中采集到密封洁净的聚乙烯袋中,分别标注好并送往实验室冷藏保存,直到分析。

### 样品制备

所有溶液的配制均使用的是从MiliQ-Element系统(Millipore, Milford, MA, USA)中出来的超纯去离子水(DI)。优级纯或更高级别的硝酸(69-70%)和双氧水(30%)(晶锐化工有限公司,江苏,中国)。无金属的聚丙烯瓶和吸管,在使用前用约5%的稀硝酸进行预清洗并用去离子水冲洗干净。

对于接下来的石墨炉原子吸收分析,使用非离子型活性剂Triton X-100,用0.5%的硝酸将其稀释成0.1%的浓度,作为日后实验中的稀释剂和空白。

准确称取1 g液体奶或固体奶粉样品, 并转移到15毫升锥形聚丙烯管中(货号: B0193233), 随后将其稀释定容到10毫升, 并剧烈震荡几分钟, 以确保均匀性。将制备好的悬浮液立即置于自动进样器中准备分析。这些悬浮液的稳定期能至少超过2天。这种快速稀释测定的方法即使是对于非常有挑战性的全脂奶粉也可以保证稳定时间, 这对于日常的异常核查已足够。空白也是采用一样的程序来进行制备, 除非另有说明, 所有的样品在常规的分析基础上都制备了平行样。

脱脂奶粉和强化型婴儿配方奶粉在制作过程中蛋白含量特征被作了相应的修改, 相比其它任何的奶粉中的蛋白质含量都高, 加入硝酸后容易凝固造成非均匀的悬浮液。因此在这些情况下, 奶粉样品可以分散在0.2-0.5%的Triton X-100溶液中, 短短的10分钟超声有利于将奶粉分散且稳定几个小时, 石墨炉分析结果也较为满意。

为了验证方法的可靠性, 在试验中我们还使用了ICP-MS进行结果的比对, 同时还采用Multiwave 3000高压微波消解系统(PerkinElmer, Inc., Shelton, CT)用于样品的完全消解, 消解过程中使用的是硝酸和双氧水的混合体系。

## 校准

牛奶样品中的铅含量均非常低, 因此所有使用的试剂都必须是优级纯以上的。因此, 本实验中使用的是珀金埃尔默优级纯单元素标准(货号N9303748, 2%硝酸基质中的铅)和基体改进剂(10%硝酸钡货号: B0190635和1%硝酸镁货号: B0190634)。校准曲线采用20 ug/kg的铅标液作为储备液, 通过AS900自动进样器自动进行梯度浓度的配备。

## 方法验证

石墨炉原子吸收测定的程序通过加标回收实验及由美国国家标准与技术研究院(NIST)提供的NIST1549非脱脂奶粉标物及中国计量科学研究院(SRM)的GBW08509a脱脂牛奶标物的测定来进行验证。这两个商品化冻干的标物可被视为任何乳制品的样品。

此外, 这些结果同时也采用传统的消解程序处理样品, 用NexION 300X ICP-MS(PerkinElmer, Inc., Shelton, CT)进行测定来比对。完全消解是采用Multiwave 3000微波消解系统来进行处理的。对于ICP-MS测定的仪器的运行参数参考的是日常建立的程序。

## 结果与讨论

石墨炉的升温程序经过了仔细的优化以确保最小的基体干扰及保证待测元素不会有损失, 详细的升温程序见表2: 由于存在样品基体干扰的风险, 因此在升温程序中附加了一个干燥步骤, 使用干燥的压缩空气作为特殊气体以去除样品中的炭, 一个批次中超过50个样品, 仅仅有一个样品存在炭渣残留的情况。PinAAcle 900 T光谱仪中彩色摄像头对于检查进样针到石墨炉的位置具有非常大的优势, 石墨管中的平台, 在优化干燥和灰化步骤以除去未消解奶基质时, 能很好地确保样品不会发生爆沸和溅射。(第4页图2)

表 2. 使用 THGA 石墨管在PinAAcle 900T上直接测量牛奶样品中铅的升温程序。

步骤	温度. (°C)	爬升时间 (sec)	保持时间 (sec)	内气流量	读数步骤	气体类型
1	干燥	130	5	30	250	普通
2	干燥	150	15	30	250	普通
3	干燥	450	15	15	50	干燥空气
4	灰化	600	10	20	250	普通
5	原子化	1600	0	3	0	X 普通
6	除残	2500	1	5	250	普通



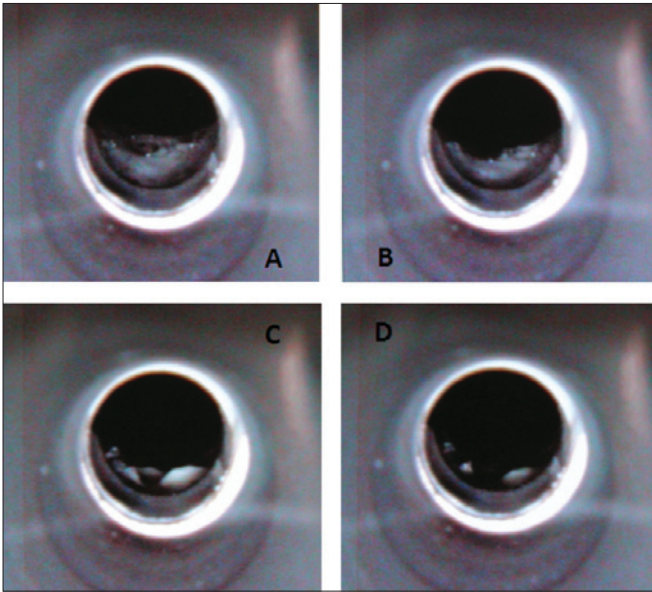


图2. TubeView彩色摄像头中, 石墨管中复杂未消解牛奶样品干燥步骤

因此, 这个可以更简单和快速地进行石墨炉升温程序方法开发。

对于铅的测定, 当使用专利THGA设计的STPF技术时, 能确保温度的均一性, 高的原子化效率, 并有效降低基体干扰, 因此牛奶样品可不经完全消解即可测定。测定过程中, 每个样品溶液平行测定3次, 采用峰面积积分的方式来获取数据。图3给出了各种溶液峰形图的叠加图。STPF技术的独特优势如下: 即使峰不会在完全相同的时间出峰, 采用峰面积进行计算仍可以获得一致的准确结果。为了验证方法的准确性, 实验中还对NIST 1549无脂奶粉和

NIM GBW0859 a标物进行测定。直接法对两个标物的测定值与标准给出的参考值高度吻合, 结果见表3, 证明了该方法的高精度。同时, 对GBW08509a还进行了加标回收实验, 加入的单标铅分别为储备液浓度的5-, 100和200%, 同样实现了定量回收, 结果见表3:

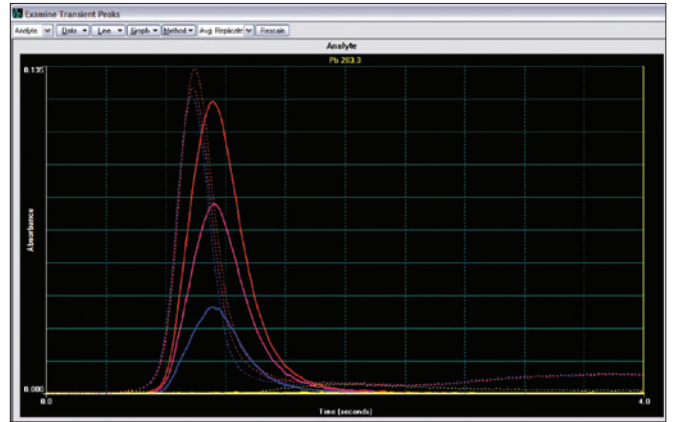


图3.脱脂奶粉中铅的吸收信号及背景信号叠加图。图中蓝色的实线是脱脂奶粉的信号, 图中的紫色实线是样品加标信号峰, 红色的实线是25 ug/kg的标准信号峰, 底部黄色的实线是试剂空白信号。图中的虚线是相应的背景信号。

表3. NIST 1549和GBW08509 a直接测定结果 (ug/kg)

样品	参考值	回收值	期望值	测定值 平均值	回收率 (%)
NIST® 1549	19 ±3	0	19	19	101
GBW08509a	24 ±6	0	24	23	95
GBW08509a	24 ±6	12	36	35	96
GBW08509a	24 ±6	24	48	48	99
GBW08509a	24 ±6	48	72	71	98

方法检出限 (MDLs), 定义的乳制品样品的浓度单位为 ug/kg (ppb), 通过测定试剂空白的吸光度值, 统计数据得出相对标准偏差, 三倍的标准偏差即为方法的检出限, 用于表征方法的灵敏度。这个方法使用的样品体积为16微升, 10倍的稀释因子, 则MDL为0.25 ug/kg (ppb), 这个是此方法比较大的一个优势。因此, 对原始乳制品样品进行测定的MDL相比以前传统的方法 (大约20 ug/kg) 能低两个数量级左右, 表明该方法非常适用于测定乳制品中的铅含量。

为了对采用这种简单的石墨炉原子吸收光谱法测定数据进行比对, 所有收集的乳制品均采用传统的微波消解进行完全消化, 然后采用ICP-MS对其中的铅进行测定, 第5页中表4对每个乳制品中的铅含量进行了汇总。

表 4. 采用直接GFAAS和常规ICP-MS对市售乳制品中铅含量测定结果 (测定值为平均值  $\pm$  SD  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

No. SRMs/ 样品	参考值	测量结果	
		GFAAS	ICP-MS
1 GBW08509a (脱脂奶粉)	24 $\pm$ 6	23.3 $\pm$ 0.7	23.9 $\pm$ 1.7
2 GBW10017 (奶粉)	70 $\pm$ 20	23.9 $\pm$ 2.7	25.7 $\pm$ 8.7
3 NIST*1549 (无脂奶粉)	19 $\pm$ 3	19.1 $\pm$ 1.3	19.3 $\pm$ 6.5
4 奶粉	-	40.2 $\pm$ 1.8	42.1 $\pm$ 1.9
5 脱脂奶粉	-	25.7 $\pm$ 1.3	23.3 $\pm$ 6.1
6 全脂牛奶 (品牌 1)	-	4.46 $\pm$ 0.32	4.57 $\pm$ 0.60
7 全脂牛奶 (品牌 2)	-	2.75 $\pm$ 0.07	2.73 $\pm$ 0.09
8 全脂牛奶 (品牌 3)	-	6.13 $\pm$ 0.07	6.78 $\pm$ 0.49
9 全脂牛奶 (品牌 4)	-	5.65 $\pm$ 0.11	5.85 $\pm$ 0.37
10 低脂牛奶 (品牌 1)	-	2.34 $\pm$ 0.09	2.39 $\pm$ 0.38
11 低脂牛奶 (品牌 2)	-	0.53 $\pm$ 0.02	0.58 $\pm$ 0.21
12 儿童饮用牛奶 (品牌 1)	-	1.70 $\pm$ 0.09	1.73 $\pm$ 0.22
13 儿童饮用牛奶 (品牌 2)	-	0.22 $\pm$ 0.01	0.54 $\pm$ 0.15
14 饮用酸奶 (品牌 1)	-	1.89 $\pm$ 0.16	2.02 $\pm$ 0.18
15 饮用酸奶 (品牌 2)	-	1.36 $\pm$ 0.02	1.61 $\pm$ 0.33

需要重点强调的是在两个独立的测试方法之间没有显著的差异, 这也进一步说明了整个方法的准确性。然后, 采用传统方法消解后的样品在ICP-MS上测定时相对标准偏差 (RSD) 较大, 这很可能是由于在样品的前处理过程中由于样品稀释引入的误差。虽然ICP-MS比GFAAS的灵敏度更高, 但是如果铅的含量过于低同样也会给测定带来很大的不确定性。以上的结果表明, 当测定乳制品样品时, 不需要对样品进行完全消化, 这样的话既较少了样品制备的时间, 也可快速经济地获取样品结果。

如图4所示, 在由中华人民共和国国家总局颁发的国家质量监督检验检疫总局 (AQSIQ) 的SRMs测试中, 此项研究中用到的GBW10017奶粉标物, 用GFAAS直接法测定值为 $23.9 \pm 2.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ ; 而用ICP-MS测定消解后的样品值为 $25.7 \pm 8.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ , 这两个值都显著低于参考值 ( $70 \pm 20 \mu\text{g}/\text{kg}$ )。其它实验室购买这种标物时也同样存在这个问题。基于这么高的偏差值 ( $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ , 29%的误差), 对于AQSIQ发布的GBW10017 SRM中铅的实际认证结果还需要进一步的调查和确定。

为了能更直观地比较两种方法, 在图4中还对铅的浓度和分析精度进行了绘制, 同时也在图中标注出了误差大小。结果非常明显地证明了采用简单处理-石墨炉直接精确分析铅的含量有着非常大的优势, 即使原始的乳制品中铅的含量非常低 (在 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的含量), 需要很好控制试剂空白, 环境及处理过程的条件下也能很轻松完成测定。即使对于经验丰富的专业人员, 样品需要大量地稀释, 也是具有很大挑战性的, 而且消解过程非常耗时, 耗费劳动力, GBW10017测定值与参考值不吻合也是一个很好的证明。

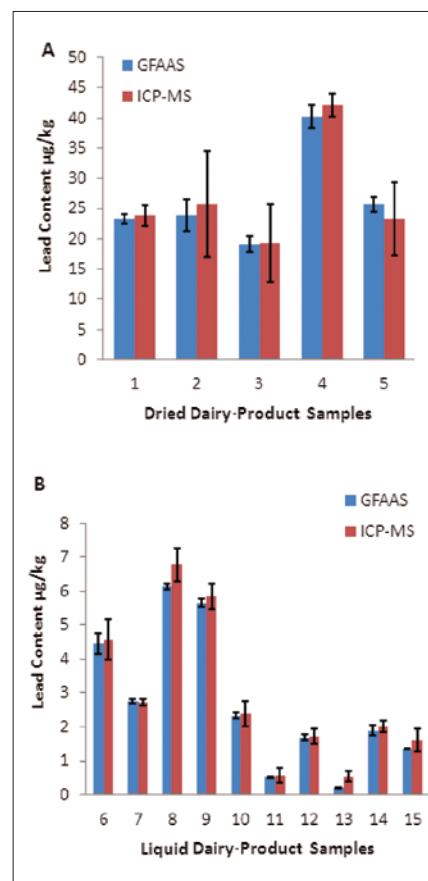


图 4. 通过两种方法测定的不同乳制品中的铅含量对比  
A) 干燥奶样品  
B) 液体奶样品。

## 结论

综上所述,快速样品稀释并采用PinAAcle 900 T全自动石墨炉原子吸收法能成功应用到各种乳制品中铅准确定量的实验中。样品处理程序的减少,最大程度上降低了样品损失及污染的可能性。先进的THGA技术能使化学干扰降到最低,方法检出限远低于Pb测定时可能碰到的正常范围。这种方法也适用于分析含有脂肪和复杂基体的样品。

ICP-MS能够进行多元素测定,而且灵敏度非常高。但是,对于初期购买设备的投入较大,而且对于简单的单元素分析测定GFAAS是个更好的方法选择。GFAAS不仅选择性好,灵敏度高,而且便于操作,能承受高基体的干扰。如果在加上简单的样品制备,此方法无疑更适合于保护人类健康对乳制品中几个有毒元素含量的日常监测。

## References

1. Hilary Arnold Godwin, 2001. The biological chemistry of lead. Current opinion in chemical biology 5, 223-227.
2. GB2762-2005 Maximum levels of contaminants in foods. China National standard.
3. GB5009.12-2010 Determination of lead in foods. China National food safety standard.

珀金埃尔默企业管理(上海)有限公司  
地址:上海张江高科技园区张衡路1670号  
邮编:201203  
电话:021-60645888  
传真:021-60645999  
[www.perkinelmer.com.cn](http://www.perkinelmer.com.cn)



要获取全球办事处的完整列表,请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2014, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。