

文章编号: 0254 - 5357(2014)01 - 0034 - 06

微波消解 - 电感耦合等离子体质谱法测定生物样品中微量硒的方法研究

冯永明¹, 邢应香^{1*}, 刘洪青¹, 章勇²

(1. 安徽省地质实验研究所, 安徽 合肥 230001;

2. 赛默飞世尔科技(上海)有限公司, 上海 201206)

摘要: 生物样品中微量元素硒的分析检测, 经典方法是湿法消解 - 氢化物发生原子荧光光谱法(HG - AFS)。湿法消解处理生物样品需使用大量试剂, 并且消解时间长, 样品背景值高; HG - AFS的分辨率较低, 已经不能满足微量硒的分析需求。解决生物样品的消解过程缓慢、试剂用量大的问题是提高样品中微量元素硒的检出限和分辨率的前提。本文采用湿法消解和微波消解两种消解体系处理样品, 对两种方法制备的溶液分别采用HG - AFS和电感耦合等离子体质谱法(ICP - MS)进行测定, 通过对比试验确定了微波消解ICP - MS方法可以实现生物样品中微量硒的准确测定。对比试验表明: 采用高压密闭微波消解前处理样品技术可以大大缩短消解时间, 减少试剂用量, 降低了样品背景值; 利用ICP - MS直接进行测定, 方法检出限为0.01 $\mu\text{g/g}$, 精密度(RSD, $n = 12$)小于4%, 低于HG - AFS的检出限(0.03 $\mu\text{g/g}$)和精密度($< 10\%$)。微波消解ICP - MS方法操作简单快捷, 降低了方法检出限, 提高了样品分析的准确度和精密度。

关键词: 生物样品; 微量硒; 湿法消解; 微波消解; 氢化物发生原子荧光光谱法; 电感耦合等离子体质谱法
中图分类号: O613.52; O657.31; O657.63 **文献标识码:** B

硒是人体必需的15种微量元素之一, 体内良好的含硒状态能减少肿瘤的发生率^[1-3], 因此硒是预防肿瘤的营养元素^[4]。随着生物体内微量元素硒的含量对生物影响的研究越来越深入, 对准确测定生物样品中微量元素硒的方法研究日益紧迫, 对其测定准确性和检出限的要求也越来越高。

生物样品含有大量的有机物质, 在测定工作中首先要完全破坏有机物, 其中的硒含量也远远低于土壤、岩石等地质样品。传统的样品前处理方法主要是针对土壤、岩石等地质样品, 明显不能适用于生物样品。硒是类金属元素, 由于在样品消解过程中硒易生成挥发性化合物, 在样品消解方法的选择上需考虑硒元素的这个特性, 避免样品中硒的挥发损失。目前生物样品的前处理方法通常采用硝酸缓慢低温消解的湿法消解, 由于湿法消解需要大量使用硝酸低温消解有机物, 对有机质高的油脂类样品更难消解^[5-7], 需反复加酸, 必要时加过氧化氢, 造成

样品前处理流程长、试剂用量大, 使得样品试剂空白很难控制。而实际操作时反复加酸加热消解, 缓慢的前处理过程很难保证易挥发性的硒没有损失, 造成测定结果不稳定。因此解决生物样品中的有机物快速简便消解, 同时避免硒的挥发损失是提高生物样品中微量元素硒检测能力的前提。随着密闭高压和微波技术的结合, 微波消解仪使生物样品的前处理过程变得简便快捷^[8-9], 消解效果也明显提高, 同时由于是密闭消解, 可以避免易挥发元素的损失, 提高样品前处理的效率和质量。

氢化物发生原子荧光光谱法(HG - AFS)是经典的测定地质样品中硒的方法, 经过多年的实际应用, 已经能够满足常规土壤、岩石等样品中含量相对较高的硒的分析需求^[10]。对于生物样品, 硒的含量显著低于地质样品, 而且其中的有机质残留使HG - AFS测定时存在仪器漂移不稳定的问题, HG - AFS的分辨率较低, 已经不能满足微量硒的分析需

收稿日期: 2013 - 07 - 01; 接受日期: 2013 - 09 - 17

作者简介: 冯永明, 工程师, 精细化工专业。E-mail: fengyongm@sina.com。

通讯作者: 邢应香, 助理工程师, 化学专业。E-mail: yingxiangxing@163.com。

求。本文分别采用湿法消解和微波消解两种方法对样品进行前处理,在样品溶液的测定工作中分别采用 HG-AFS^[11] 和电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)^[12-15] 进行比对试验,主要对样品的消解时间和试剂用量方面进行优化选择,确定建立适用于批量分析多种生物样品中微量元素硒的测定方法,以解决目前常用的湿法消解存在的处理时间长、试剂用量大而且无法控制用量统一的问题,同时解决在敞开的试验环境下长时间消解造成的污染问题。

1 实验部分

1.1 仪器及工作条件

X-Series II 型电感耦合等离子体质谱仪(美国 Thermo 公司)。主要工作参数见表 1。

表 1 ICP-MS 仪器工作条件

Table 1 Working parameters of the ICP-MS instrument

工作参数	设定条件	工作参数	设定条件
功率	1350 W	测量方式	跳峰
冷却气(Ar)流量	13.0 L/min	扫描次数	50
辅助气(Ar)流量	0.7 L/min	停留时间/通道	10 ms
雾化气(Ar)流量	0.8 L/min	每个质量通道数	3
采样锥(Ni)孔径	1.0 mm	总采集时间	20 s
截取锥(Ni)孔径	0.7 mm	固定工作频率	27.12 MHz

XGY-1011A 型原子荧光光谱仪(中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所研制)。配有特制的空心阴极灯。

ETHOS TOUCH 型微波消解仪(意大利 Milestone 公司)。主要工作参数:固定工作频率 2450 MHz,电压 220 V,功率 2.5 kW。

1.2 硒标准溶液和主要试剂

硒标准储备溶液: $\rho(\text{Se}) = 100.0 \mu\text{g/mL}$, GBW (E)080136(深圳市森维贸易有限公司)。

硒标准过渡溶液 A: $\rho(\text{Se}) = 2.0 \mu\text{g/mL}$, 分取标准过渡溶液 A 配制标准过渡溶液 B [$\rho(\text{Se}) = 0.10 \mu\text{g/mL}$]。

分取标准过渡溶液 B 配制 ICP-MS 标准工作溶液 0.005、0.010、0.050 $\mu\text{g/mL}$ 。

分取标准过渡溶液 B 配制 HG-AFS 标准工作溶液 0.0125、0.025、0.050、0.100 $\mu\text{g/mL}$ 。

硝酸(超纯)、高氯酸(优级纯)、盐酸(超纯):均为苏州晶瑞公司产品。

双氧水(超纯,上海国药集团化学试剂有限公司)。

水(电导率大于 $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$, 中国艾科浦颐洋企业发展有限公司)。

1.3 样品前处理

选取国家标准物质 GBW 10010 ~ GBW 10016, 分别采用经典的湿法消解方法(硝酸-高氯酸消解)和高压密闭微波消解法进行前处理。对两组样品分别采用 HG-AFS^[11] 和 ICP-MS^[12-15] 进行测定。

1.3.1 硝酸-高氯酸湿法消解

准确称取 0.5000 g 标准物质 GBW 10010 ~ GBW 10016 分别放入 50 mL 玻璃烧杯中,加入 30 mL 浓硝酸,盖上表面皿,在控温电热板上低温升至 150℃ 消解有机物,待深棕色浓烟完全冒尽,溶液消解至无色后升高控温电热板温度至 270℃,待溶液体积蒸至 5 mL 后取下冷却,转移至 50 mL 容量瓶中,水定容后摇匀。分取 5 mL 溶液到 10 mL 比色管中用水定容至刻度,摇匀后上 ICP-MS 直接测定硒的含量;将剩余的溶液转移到 50 mL 玻璃烧杯中,加入 3 mL 高氯酸,盖上表面皿,置于控温电热板上,低温升至 270℃ 溶矿,待高氯酸冒浓白烟后控制体积在 5 mL 以下,取下加 10 mL 50% 盐酸定容至 25 mL,摇匀、冷却,待溶液澄清后用 HG-AFS 测定硒的含量。取 10 个空白烧杯,与样品同时处理,测定空白值。

1.3.2 高压密闭微波消解

准确称取 0.5000 g 标准物质 GBW 10010 ~ GBW 10016, 分别放入微波消解仪内罐中。加入 10 mL 浓硝酸,将内罐装入外罐,拧紧转子确保样品密封,放入微波消解仪中按表 2 的步骤进行消解。

表 2 微波消解程序

Table 2 Procedure of the microwave digestion

步骤	消解时间 t/min	消解功率 P/W	消解温度 $\theta/^\circ\text{C}$
1	5	1000	140
2	10	1000	190
3	15	1000	200
4	20	-	-

待微波消解仪内温度传感器显示内罐温度低于 40℃ 后再打开内罐,将消解好的溶液转移到 50 mL 容量瓶中,水定容后摇匀。分取 5 mL 溶液到 10 mL 比色管中,水定容至刻度,摇匀后用 ICP-MS 直接测定硒的含量;将剩余的溶液转移到 50 mL 玻璃烧杯中,加入 3 mL 高氯酸,盖上表面皿,置于控温电热板上,低温升至 270℃ 溶矿,待高氯酸冒浓白烟后控制体积在 5 mL 以下,取下加 10 mL 50% 盐酸定容至 25 mL,

摇匀、冷却,待溶液澄清后用 HG - AFS 测定硒含量。取 10 个空白空罐,与样品同时处理,测定空白值。

2 结果与讨论

2.1 HG - AFS 测定两种消解方法制备溶液中的硒

经硝酸 - 高氯酸湿法消解和高压密闭微波消解两种方法制备的样品溶液,用 HG - AFS 进行测定的结果对比见表 3。测定结果表明:高压密闭微波消解的样品由于有机物消解得很干净,上机过程中没有大量的有机泡沫,对仪器和测定结果都没有影响,测定值与标准值吻合较好;湿法消解的样品测定时存在仪器测定结果不稳定的问题。

表 3 HG - AFS 测定两种消解方法制备溶液中的硒

Table 3 Analytical results of Se in solutions prepared with two pretreatment methods by HG-AFS

标准物质 编号	$w(\text{Se})/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$		标准值
	湿法消解样品 测定值	微波消解样品 测定值	
GBW 10010	0.055	0.058	0.062
GBW 10011	0.049	0.049	0.053
GBW 10012	0.015	0.018	0.021
GBW 10014	0.178	0.186	0.200
GBW 10015	0.080	0.087	0.092
GBW 10016	0.085	0.092	0.098

两种消解方法制备的样品,用 HG - AFS 测定的空白值见表 4。由于高压密闭微波消解的样品制备过程中所用的试剂很少,样品空白也很低;而硝酸 - 高氯酸湿法消解的样品由于试剂用量大,用量很难统一,造成空白偏高和不稳定,严重影响结果的可靠性。

表 4 HG - AFS 测定微波消解和湿法消解的样品空白值

Table 4 The blank values of Se in solutions prepared with two pretreatment methods by HG-AFS

样品编号	$w(\text{Se})/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	
	湿法消解样品测定值	微波消解样品测定值
BL1	0.0127	0.0011
BL2	0.0108	0.0012
BL3	0.0096	0.0014
BL4	0.0116	0.0012
BL5	0.0097	0.0017
BL6	0.0092	0.0010
BL7	0.0091	0.0015
BL8	0.0109	0.0010
BL9	0.0116	0.0018
BL10	0.0100	0.0014
BL11	0.0110	0.0016
BL12	0.0123	0.0015

2.2 ICP - MS 测定两种消解方法制备溶液中的硒

经硝酸 - 高氯酸湿法消解和高压密闭微波消解两种方法制备的样品溶液,稀释后用 ICP - MS 进行测定的结果对比见表 5。测定结果表明:微波消解的样品测定结果明显好于湿法消解的样品,并且仪器在测定微波消解的样品时也明显比测定湿法消解的样品稳定。对于含量较低的样品,两组测定结果相差都较大,主要是酸度和空白都较高造成的。但 ICP - MS 的测定结果还是明显优于 HG - AFS 的测定结果。

表 5 ICP - MS 测定两种消解方法制备溶液中的硒

Table 5 Analytical results of Se in solutions prepared with two pretreatment methods by ICP-MS

标准物质 编号	$w(\text{Se})/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$		标准值
	湿法消解样品测定值	微波消解样品测定值	
GBW 10010	0.067	0.060	0.062
GBW 10011	0.059	0.052	0.053
GBW 10012	0.025	0.019	0.021
GBW 10014	0.232	0.192	0.200
GBW 10015	0.099	0.089	0.092
GBW 10016	0.105	0.093	0.098

两种消解方法 ICP - MS 测定的空白值(见表 6)有较大差异。微波消解处理的空白值测定值很低而且测定结果较稳定;而湿法消解处理的空白值测定值较高,测定结果也很不稳定。这主要是微波消解法处理样品时定量加入少量硝酸进行消解,避免了湿法消解反复加硝酸消解造成的试剂用量大而且不一致所带来的试剂空白。同时,微波消解处理的时间大大短于湿法消解,消解过程中的环境影响减少到最低,降低了样品空白值。

表 6 ICP - MS 测定微波消解和湿法消解的样品空白值

Table 6 The blank values of Se in solutions prepared with two pretreatment methods by ICP-MS

样品编号	$w(\text{Se})/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	
	湿法消解样品测定值	微波消解样品测定值
BL1	0.0107	0.0009
BL2	0.0108	0.0009
BL3	0.0096	0.0009
BL4	0.0116	0.0012
BL5	0.0097	0.0011
BL6	0.0092	0.0009
BL7	0.0091	0.0012
BL8	0.0109	0.0010
BL9	0.0116	0.0013
BL10	0.0112	0.0010
BL11	0.0120	0.0010
BL12	0.0123	0.0014

2.3 生物样品中硒的测定方法选择

通过上述 4 组不同消解方法和测定方法的实验,结果表明:在前处理过程中,由于运用了微波消解技术,使生物样品的消解过程由原来的硝酸湿法消解需 3~5 天的时间^[11]缩短到现在的 1 h 左右,大大提高了工作效率,降低了劳动强度,更适合于批量样品的快速分析;另外所加的酸量也由原来的几十毫升减少到现在的 10 mL,在降低消耗的同时也明显降低了空白背景值,减少了试剂空白的干扰,使样品的检出限降低。因此,本文选择微波消解技术制备生物样品。

在选择测定仪器时,进行了 HG-AFS 测定和 ICP-MS 测定^[14]的比较。由于 HG-AFS 测定需要将消解好的样品溶液进一步进行高氯酸冒烟,盐酸提取后才能测定,相当于增加了样品的前处理时间,加大了工作强度。同时,在测定过程中由于样品中硒的含量远远低于地质样品,测定结果的稳定性和准确性都较差,尤其是低含量的样品,偏差较大。而 ICP-MS 测定是在 CCT 模式下将消解好的样品溶液经稀释定容后直接测定,简化了样品处理过程,相应地减少了测定误差和样品空白值,测定结果的稳定性和准确性都优于 HG-AFS。因此本文选择用 ICP-MS 的 CCT 模式测定生物样品中的硒。

2.4 方法检出限

用已选择的微波消解-ICP-MS 体系处理 12 个平行空白样品,测定其中的硒,按检出限计算公式 $LOD = 3\sigma/K$ (σ 为 12 次测定的标准偏差, K 为标准曲线斜率) 计算出方法检出限为 0.01 $\mu\text{g/g}$ 。该方法检出限能够满足生物样品中硒的分析需求。用 HG-AFS 体系处理 12 个平行空白样品,测定空白样品中的硒的方法检出限为 0.03 $\mu\text{g/g}$ 。显然,ICP-MS 的检出限比 HG-AFS 的检出限低。

2.5 方法准确度和精密度

准确称取标准物质 GBW 10010~GBW 10016 各 0.5000 g,采用微波消解-ICP-MS 体系测定 12 次,取其平均值,测定结果见表 7。实验发现,GBW 10010、GBW 10011、GBW 10012 由于含盐量少,整体而言,大多数元素含量较低,测定时基体干扰很小,内标变化很小,硒含量虽然较低,但精密度(RSD)仍然可以小于 4%;而 GBW 10014、GBW 10015、GBW 10016 的基体干扰明显大于 GBW 10010、GBW 10011、GBW 10012,这是由于样品中有部分元素含量较高,在 CCT 模式下,这些基体干扰已经被消除,因此,尽管内标有较大变化,但硒的测定结果很稳定可靠,精密度(RSD)小于 4%。

表 7 标准物质的测定结果

Table 7 Analytical results of Se in the standard materials

标准物质 编号	$w(\text{Se})/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$		相对偏差/%	RSD/%
	平均测定值	标准值		
GBW 10010	0.065	0.062	0.26	1.1
GBW 10011	0.057	0.053	-0.24	1.2
GBW 10012	0.019	0.021	0.29	2.4
GBW 10014	0.213	0.200	0.16	2.4
GBW 10015	0.087	0.092	-0.48	3.1
GBW 10016	0.101	0.0980	0.18	1.0

2.6 实际样品分析

应用确定的高压密闭微波消解 ICP-MS 方法,对送检的近 400 件水稻籽实、脱水蔬菜和茶叶样品进行了分析,给出的实验测试结果用户反馈良好,表 8 列出了其中 10 件样品的测试结果。

表 8 实际样品的分析结果

Table 8 Analytical results of Se in real samples

实际样品	$w(\text{Se})/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	实际样品	$w(\text{Se})/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$
水稻籽实 1	0.035	脱水蔬菜 2	0.256
水稻籽实 2	0.046	脱水蔬菜 3	0.241
水稻籽实 3	0.058	茶叶 1	0.085
水稻籽实 4	0.064	茶叶 2	0.074
脱水蔬菜 1	0.187	茶叶 3	0.068

3 结语

对于硒含量相对较低的生物样品,本文通过采用湿法消解和微波消解两种消解体系, HG-AFS 和 ICP-MS 两种测定技术进行对比试验,确定采用微波消解 ICP-MS 方法实现了微量硒的准确测定。微波消解 ICP-MS 方法的检出限为 0.01 $\mu\text{g/g}$,精密度(RSD, $n=12$) 小于 4%,而 HG-AFS 方法的检出限为 0.03 $\mu\text{g/g}$,精密度(RSD) 小于 10%,微波消解 ICP-MS 方法明显降低了检出限,提高了测定精密度。

本文应用微波消解技术处理有机物,解决了过去生物样品需大量消耗硝酸等试剂反复进行消解所造成的前处理时间长、分析成本高和背景值高的问题,满足了 ICP-MS 测定样品对待测溶液的酸度和低空白值的要求,可以解决应用湿法消解-HG-AFS 测定方法的检出限受到制约、精密度和准确度都较差的问题。

由于生物样品种类繁多,各种样品的特性千差万别,很难用一种方法涵盖所有类型的样品,在试验中发现富含油脂类的样品如脂肪、花生等,微波消解

过程中有高压罐压力过高造成泄压的现象,消解效果不理想,需再次消解,在测定过程中这类样品空白值明显偏高,有待进一步的试验解决。运用 ICP-MS 测定生物样品时发现生物样品的基体非常复杂,样品含盐量差异很大,在测定是需注意内标的变化,对不同种类样品要分别测定,以减少测定误差。

4 参考文献

- [1] 徐辉碧,刘琼,黄开勋,杨祥良. 硒预防肿瘤研究的进展[C]//第三届安徽省科技论坛暨安徽省第二届微量元素科学研讨会论文集. 2004.
- [2] 李永明,孙玉新,刘德辉. 施硒对药用菊花主要有效成分和花中硒含量的影响[J]. 土壤, 2010, 42(4): 618-623.
- [3] 李金英,石磊,鲁盛会,郭冬发. 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)及其联用技术研究发展[J]. 中国无机分析化学, 2012, 2(2): 1-5.
- [4] 廖金凤. 土壤环境中的硒对人和动物健康的影响[J]. 广东微量元素科学, 2002, 9(3): 20-21.
- [5] 杨俊衡. 微波消解试样-原子荧光光谱法测定土壤中硒碲[J]. 理化检验(化学分册), 2008(3): 240-242.
- [6] 葛清海,陈后兴,谢明辉. 硒的资源——用途与分离提取技术研究现状[J]. 四川有色金属, 2005(3): 7-15.
- [7] 张维宇,张土秀,倪天增. 程序控温石墨消解-原子荧光光谱法测定土壤中的硒[J]. 中国无机分析化学, 2011, 1(4): 36-39.
- [8] 刘灿平,方亚. 微波消解技术在元素分析方面的应用[J]. 安徽预防医学杂志, 2003, 9(4): 252-253.
- [9] 孙德忠,安子怡,许春雪,王苏明,王亚平. 四种前处理方法对电感耦合等离子体质谱测定植物样品中27种微量元素的影响[J]. 岩矿测试, 2012, 31(6): 961-966.
- [10] 万益群,余泉然. 原子荧光光谱法测定当归补血汤中的微量Se[J]. 分析试验室, 2008, 27(2): 48-50.
- [11] 张平,姜成. 原子荧光光谱法测定富硒大米中总硒含量的方法探讨[J]. 微量元素与健康研究, 2011, 28(1): 28-30.
- [12] 冯先进,屈太原. 电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)最新应用进展[J]. 中国无机分析化学, 2011, 1(2): 47-49.
- [13] 曹淑琴,陈杭亭,曾宪津. 电感耦合等离子体质谱方法在生物样品分析中的应用[J]. 分析化学, 2001, 29(5): 592-600.
- [14] 王允雨,聂荣春,降林华,段宁,徐初阳,罗乐. 微波消解 ICP-MS 测定尿样中硒及其他重金属元素[J]. 光谱实验室, 2012, 29(1): 320-323.
- [15] Dufailly V, Noël L, Guérin T. Determination of chromium, iron and selenium in foodstuffs of animal origin by collision cell technology, inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), after closed vessel microwave digestion [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 565(2): 214-221.

Determination of Trace Selenium in Biological Samples by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry with Microwave Digestion

FENG Yong-ming¹, XING Ying-xiang^{1*}, LIU Hong-qing¹, ZHANG Yong²

(1. Anhui Research Institute of Geological Experiment, Hefei 230001, China

2. ThermoFisher Scientific (Shanghai) Corporation, Shanghai 201206, China)

Abstract: Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry (HG-AFS) with wet digestion is classical method to determine the trace element selenium in biological samples. The analytical requirements cannot be met by low resolution HG-AFS and wet digestion processing and carries the additional disadvantages of high quantities of reagent consumption, lengthy processing time and production of high background values. Accelerating digestion processing time and reducing the amount of reagent consumption have been considered as prerequisites for increasing detection limit and resolution of selenium. In this article, samples were analyzed by HG-AFS and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) after two different sample pretreatments of wet digestion and microwave digestion. The method of ICP-MS with microwave digestion was established through these contrast tests. The results indicate that microwave digestion can reduce digestion time, decrease reagent consumption and lower background in high-pressure sealed conditions. Detection limits of HG-AFS and ICP-MS are 0.03 $\mu\text{g/g}$ and 0.01 $\mu\text{g/g}$, respectively. In addition, according to the determination for national standard reference samples, relative standard deviations of HG-AFS and ICP-MS are less than 10% and 4%, respectively. Obviously, low detection limits and improved accuracy and precision can be acquired by direct analysis with ICP-MS. The established method is simple to operate and can be conducted for the rapid determination of trace selenium in various biological samples.

Key words: biological samples; trace selenium; wet digestion; microwave digestion; Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry; Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry