



食品中

痕量元素分析技术新进展

珀金埃尔默仪器(上海)有限公司

北京办事处 姚继军

1 前言

自二十世纪七十年代早期,人们广泛而系统地研究了食品中很多元素对人体健康的影响,例如调查了接触含甲基汞的鱼的高危人群的反应,研究了铅对敏感人群及儿童的影响,讨论了发展中国家补充饮食中铁的作用等。

经过三十多年的发展,痕量元素分析技术有了长足的发展,所使用的仪器主要是微波消解装置、原子吸收光谱仪(AAS)、电感耦合等离子体原子发射光谱仪(ICP-OES)、电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)等,本文结合食品中痕量元素分析的需求重点介绍这些技术自九十年代至今的发展现状。

2 食品中痕量元素分析的样品处理

在大多数食品分析中,样品准备时间常常超出分析时间的20倍,例如,生物材料的消解根据消解程序的不同,大约需要2-24小时,而石墨炉AAS法测定每个元素只需3分钟时间,如果进行多元素分析,需要更长的样品制备时间,但用ICP-OES和ICP-MS可以同样用大约3分钟的时间分析完样品,因而为了进一步提高每天分析样品的数量,必须具备更快的样品制备速度。

微波消解装置解决了食品分析工作中溶样这一“瓶颈”问题,可以与AAS、ICP-OES和ICP-MS配套使用,可用来消解各种难消解的有机和无机样品。微波消解装置的主要技术指标是工作压力,用石英容器时最大承受压力为120bar,控制压力为80bar,工作温度可以达到300℃,使用聚四氟乙烯容器时最大承受压力为120bar,控制压力可以达到60bar,工作温度可以达到260℃。可以同时处理16个样品,一般处理样品25分钟,冷却15分钟,40分钟左右即可完成一个样品处理周期。具有多重安全保障(安全盘片过压释放,高强度塑料外壳保护,反应容器外转盘特别保护,双重安全门,可视转盘监控)。每只样品杯实时分别测温,任何一个杯超温,即反馈降低温度;样品杯同时进行压力监测,即时调控微波功率。非脉冲微波功率处理样品,功率均匀。提供近百个常用样品处理程序和方法,机内微机控制操作,可显示微波工作曲线及每一样品杯实时温度。可外接打印机。

3 AAS的最新进展

原子吸收光谱(AAS)是食品分析的主要检测技术之一,它可以采用电热原子化(石墨炉),火焰原子化或氢化物发生等方式。这些方

法使得一个元素在痕量水平可以被准确测定。AAS的主要缺点是它在本质上是一种单元素分析技术。无论如何努力试图将其改造成为多元素同时分析或顺序分析,其结果都证明是得不偿失的,多灯同时预热使得仪器运行费用呈指数上升,杂散光大大增加,仪器稳定性下降,而其分析速度的却几乎没有什么改善,更不能与ICP-OES和ICP-MS的分析速度相提并论。

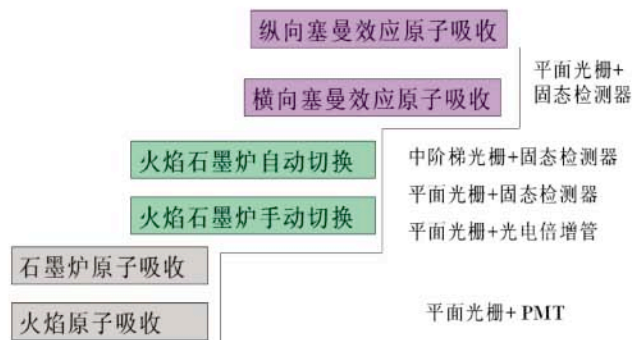


图1 原子吸收光谱仪(AAS)技术发展示意图

自九十年代至今AAS最大的发展主要表现在四个方面:

第一,普遍采用了CCD固态检测器,光电倍增管(PMT)已经被主流AAS厂家所淘汰。

第二,自动化程度大大提高,可以实现火焰和石墨炉一体机并自动切换,切换后光路自动准直。

第三,仪器的控制软件功能空前强大,不仅可以全面控制仪器的所有参数,全面监控安全连锁,而且对所有的分析任务软件都可以推荐最佳的操作参数,即使是从来没有用过AAS的人也同样可以获得准确的结果。火焰AAS还出现了触摸屏式的设计,整个仪器操作与洗衣机等日常家电的操作正日趋接近。

第四,近十年来AAS技术进步的最大亮点是纵向磁场塞曼效应AAS的诞生,正逐步取代横向磁场塞曼效应AAS这一较老的设计。

实验研究和理论上的分析指出,在AAS的原子化过程中,样品中基体物质产生的背景吸收光谱具有波长特性、时间特性和空间特性。目前常规的干扰校正方法在此三点问题上存在难以解决的技术问题,其中一些甚至无法解决,例如结构背景的校正。实践证明利用塞曼效应是唯一能够较好解决这些问题的干扰校正方法,在实际测量中取得了令人满意的效果。

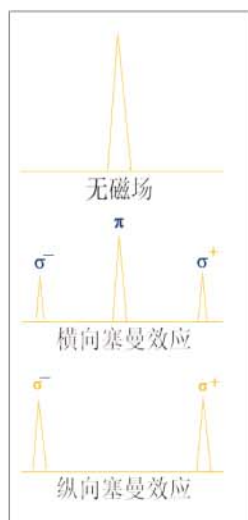


图2 横向塞曼效应与纵向塞曼效应的谱线磁致分裂示意图 (正常塞曼)

当垂直于磁场方向观测时称为横向塞曼效应, 平行于磁场方向观测时称为纵向塞曼效应。没有磁场时谱线不产生分裂, 得到信号为原子吸收 + 背景吸收; 有磁场时, 横向塞曼效应产生 π 和 σ , 需要采用偏振镜把 π 分离掉, 而纵向塞曼效应仅有 σ 成分, 不需要偏振镜, 光强比横向塞曼效应提高50%。此时得到信号为背景吸收。两种信号相减即可获得真正的待分析原子吸收信号。

正常塞曼效应只有在原子的外层电子数为两个, 而且这两个电子的自旋方向恰好相反, 总自旋和总自旋磁矩均为零时才会发生, 如IIA和IIB族的Be, Mg, Ca, Sr, Ba, Zn, Cd和Hg。其它元素在磁场中都发生反常塞曼效应, 其谱线磁致分裂的行为要复杂得多。

4 ICP-OES 的最新进展

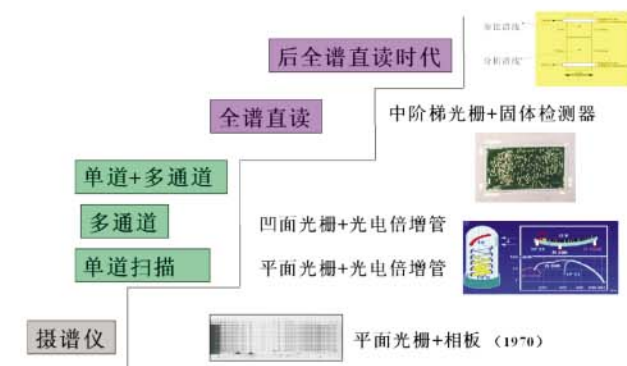


图3 电感耦合等离子体原子发射光谱仪 (ICP-OES) 技术发展示意图

随着技术的发展, ICP-OES测定方法得到普及, 消解的样品可直接进入高温等离子体(典型的ICP温度为5000至7000K), 通过多色仪观测发射线同时进行分析, 这一技术的优点在于: 能进行约70多个元素的分析, 每个元素都有很高的灵敏度, 其检出限通常为ppb (ng/mL), 标准曲线的线性范围在6个数量级以上, 并且干扰非常小。

自九十年代初推出的全谱直读ICP-OES是一个革命性的飞跃, 使ICP-OES具有了同时获得谱线及其背景信息的能力, 即一条谱线全部信息的直接读取, 而这恰恰是传统的单道扫描与固定多通道ICP-OES所不具备的能力, 因而能否同时测背景成了划分全谱直读仪器与传统仪器的分界线。

但全谱直读ICP-OES并不意味着这个技术已经走到了尽头, 相反经过十年多的实际应用, 发现了其不足依然存在, 其不足主要表现在如下几个方面, 改进也主要针对这几个方面进行:

第一, 强光与弱光同时测量带来的问题。在ICP高温激发出来的众多谱线中, 400nm–800nm范围的可见光的强度要远远大于紫外区的谱线, 对这些谱线同时测量所带来的问题是检测器上有些像素点长时间强光照射而快速老化损坏, 而紫外区的分析谱线却由于曝光不足而无法使用。事实上, 分析谱线在400nm以上的只有Li (670.784、610.362、460.286、413.256nm)、K (766.490、404.721、769.896nm)、Rb (780.023、420.185nm)、Cs (455.531、459.320nm)、Cl (725.670、782.139nm)、Br (635.070nm) 这六个元素, Na (589.592、330.237、588.995、330.298nm) 有两条330nm的谱线可供选择。由于碱金属元素很活泼, 在火焰中即可原子化形成我们在高中课本上就已经学到的焰色反应, 但更高的温度对分析反而不利, 高温可以使碱金属电离, 而一旦电离, 碱金属离子的外层电子结构与惰性气体的外层电子结构完全一样, 因而几乎不可能激发出其离子谱线, 所以从检出限来看, Li、Na、K、Rb、Cs用ICP-OES分析往往与火焰AAS相近甚至不如火焰AAS。从现有的文献来看, 很少有人用ICP-OES来分析Cl和Br, 尽管可以获得ppm量级的检出限, 但分析需要较长时间的清洗, Cl、Br在雾化室中的残留明显要比其他元素长, 导致两个样品之间需要极长的清洗时间 (有时5-10分钟), 甚至过载或严重记忆效应, 严重影响其它元素的分析。这两个元素通常单独分析或采用其他分析方式, 在等离子体中Cl、Br是极为活泼的元素, 它们在样品基体中的表现与水标准中的极为不同, 样品基体稍有不同即严重影响到元素的发射强度, 通常的内标也无法起到基体校正作用, 甚至标准加入法有时也会得到错误的结果。用ICP-OES分析Cl、Br得到的结果通常不能与其他成熟的分析方法较好吻合 (如离子色谱、X射线荧光或离子选择电极法)。不仅是ICP-OES, 测定实际样品时, ICP-MS同样也有这个问题。

综合这些情况, 采用的改进措施一般有两个, 一个是购买只有紫外区分光系统的ICP-OES和一台火焰AAS, 费用更为实惠, 两台仪器都可以获得最佳的性能。二是在ICP-OES中采用两套分光系统和两个检测器, 将可见光和紫外光分别进行处理, 实现仪器的最优化。

第二, 有用的信息与垃圾信息同时测量带来的问题。ICP火焰的光谱主要是由工作气体 (一般为氩气) 产生的光谱、分子谱带及连续光谱三部分所组成。当通入试液时, 还要出现试样中含有的元素的光谱。由于干燥氩气所产生的ICP光谱具有下述特征: (1) 在400-450纳米波段内有一组极强的氩线, 其中较强的谱线是Ar I 420.068nm以及Ar I 415.859nm; (2) 在300-500纳米范围内有较强的连续光谱; (3) 当氩气纯度不高时 (含有 N_2 、 H_2O 、 CO_2 等) 则光谱中将出现一系列分子谱带, 如OH、NH、CH、CN和NO谱带等。由潮湿氩气所形成的ICP光谱, 在300-350纳米波段, 有较强的分子谱带。当ICP中通入氮气时, 火焰形状及颜色都会改变, 在光谱中出现较强的氮原子线。把空气引入ICP火焰时, 不仅产生较强的OH带 (可能为空气中水份产生), 而且有很强的NO光谱出现。当试样中含有碳氢化合物时, 在ICP光谱中会出现一系列 C_2 分子谱带, 也有很强的氟带光谱。在ICP光源中, 连续光谱背景较强, 产生连续光谱背景的因素有黑体辐射、韧致辐射及复合辐射三种。高浓度的碱土元素, 如钙、镁, 也能产生较强的散射光, 叠加到连续光谱背景上。如此之多的无用或垃圾信息就如互联网上的垃圾信

息一样,将有用的信息反而淹没了。目前最好的改进方法是采用专门设计的检测器有选择性地读取待分析元素的信息,将上述这些垃圾信息过滤掉,从而使操作者在最短的时间内获得最需要的分析结果,并保护检测器,避免垃圾信息的照射而老化损坏。

第三,分光系统中三棱镜的分辨率不均匀带来的问题。这个问题在紫外区尤为明显,因为在可见光区的谱线很少,干扰也较少,对分辨率的要求也较小,而绝大部分元素的谱线都集中在200nm—400nm这个范围,目前最好的方法是在这一波长范围内采用中阶梯光栅和平面光栅两个光栅进行交叉色散,比中阶梯光栅加三棱镜有了显著的改善。

第四,有机样品、无机样品、高盐样品、含HF酸样品、含NaOH样品同时分析带来的问题。对于ICP-OES的用户而言,需要分析的样品是多种多样的,这就需要具有适应性强的进样系统,并尽量减小雾化器、雾室与炬管之间的距离以减小记忆效应。目前常用正交雾化器并在雾化器喷嘴装有耐腐蚀的宝石喷嘴,而雾室采用耐腐蚀的Ryton材料制成,可直接进行50% HCl 、 HNO_3 、 H_2SO_4 、20% HF 及30% NaOH 样品的分析。

第五,主量、微量成分与痕量、超痕量成分同时分析带来的问题。目前最为成功的是采用双向观测的ICP-OES。采用轴向观测的检出限比侧向观测可改善达10倍。在大量基体存在时,绝大多数元素的检出限会得到明显改善,这对分析痕量元素十分有利,双向观测技术使用户可以在一次分析中同时获得两种观测方式的优点,无论是轴向观测还是侧向观测,其观测的位置全部由计算机自动优化,不仅提高了灵敏度而且扩大了线性范围,大大增加了分析的灵活性,提高了分析性能。

第六,仪器的先进性与实际操作的易用性带来的问题。现代ICP-OES已经越来越多地用于生产性工厂用于质量控制,而不像以前主要集中于大学和研究所,操作者的素质当然也不及专业的研究人员。这个问题主要是通过操作软件的中文化、仪器软件硬件说明书的中文化、仪器维护的多媒体化来解决。

第七,仪器的高稳定性与波长漂移带来的问题。传统全谱直读ICP光谱仪为了将全部几万条谱线集中在几平方厘米的检测器上,要求仪器必须有极高的热稳定性,仪器冷开机时一般需要约1个多小时的恒温过程,狭缝高度必须很小,使ICP最重要的紫外区域光强减弱,而且很难避开样品基体以及Ar、N等发射的高强度谱线,大大缩短了检测器的寿命。

目前最为成功的方法是采用双单色仪光学系统和带参比的双检测器。它将全谱直读ICP光谱仪传统的棱镜光栅交叉色散方式分别在两个单色仪中进行。通过调节入射光进入棱镜的角度使待测谱线所在光谱级次通过中间狭缝进入第二个单色仪,将光谱中待分析谱线及附近一段光谱投射到CCD检测器上。由于交叉色散分别在两个单色仪中进行,而且每次投射到CCD检测器上仅是一段光谱,所以完全避免了传统全谱直读ICP光谱仪需要长时间预热、入射光狭缝很小、检测器寿命短等方面的不足。实际测定时可按分析要求在任何时间得到任意谱线。由于光通量大,光强比传统ICP发射光谱仪大得多,分析速度非常快。

5 ICP-MS 的最新进展

ICP-MS应用于食品科学有着广泛的前景,因为它不仅可以测定全部金属元素的浓度,还可以给出同位素的信息。这种同位素测量能力使同位素稀释分析(IDA)技术得到应用,并可采用稳定的非放射性同位素进行示踪研究。

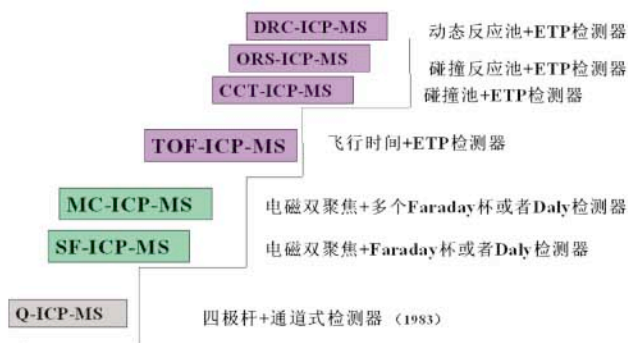


图4 电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 技术发展示意图

食品与健康相关的分析在美国自反恐战争以来受到了空前的重视,美国CDC从PerkinElmer公司一次性订购36台ICP-MS,整个合同金额价值大约9百万美金。这是分析仪器界有史以来金额最大的一次性仪器采购合同。这些仪器将被用于联邦政府及各地区的健康安全实验室,以增强这些实验室应对突发事件的能力。这些可能的突发事件包括:生化恐怖袭击、传染性疾病的爆发以及其他对公众健康有危害的突发情况。除了可以分析化学样品和生物样品,美国各州的公众健康实验室还可以测量人血液和尿液中的铅、汞等有毒物质的含量,这一过程被称之为生物监测。这样的信息可以使人们对接触这些有毒物质的危害性有进一步的认识,同时有助于找到保护人们健康的最佳途径。

ICP-MS的发展与ICP-OES有很多相似之处,在进样系统部分几乎是一样的。目前ICP-MS最引人注目的发展是动态反应池技术。动态反应池(DRC)是内有一个四极杆系统的反应池。与中阶梯分光ICP-OES相似,DRC-ICP-MS具有双四极杆质量分析器,即ICP-MS-MS,DRC部分进行化学反应并与主四极杆同步扫描实现离子初步选择和过滤,大大延长了ICP-MS主四极杆质量分析器的寿命,提高了ICP-MS的性能和灵活度。

DRC本身具有离子选择过滤的功能。而在传统的碰撞池中使用的是六极杆或八极杆,只起离子透镜的作用,产生的任何离子都可以通过,在池中通入大量 H_2 或 He 通过碰撞降低某些离子能量,然后加反向电场加以甄别,但在降低 ArO^+ 和 $^{40}\text{Ar}^+$ 能量的同时,也相应降低了K、Ca等的能量,在甄别中被消除,使得测量几乎成为不可能。

6 食品中痕量元素形态分析的最新进展

对于食品中痕量元素的重要性和被重金属污染的环境两方面的重视引发了关于肠胃对痕量元素吸收程度的探索。元素的吸收随着其存在的形式显著变化,其中元素的状态、毒性与元素的种类密切相关。人们已经认识到分离这些元素是必要的,即分离并定量测量真实样品中痕量无机、有机、金属有机物质的化学形式。

在已经发表的形态分析论文中,研究最多的是砷,约占三分之一,然后依次是铬、汞、碲、硒、锡、铅、铜、锰、钒、铂、镍和溴等。单独使用原子谱仪器并不能得到关于痕量元素存在于化学物质中的形式、组成分布的信息,另外,对样品进行频繁测量的方法破坏了基体,进而破坏了被分析物的原始特征。为了获得有关的数据,就要求“软”的分离分析法以便于保持痕量元素物质的完整性。

在研究痕量金属时会遇到的物种形式类型如下:

- (i) 金属的氧化态,例如As(III)的毒性远大于As(V);
- (ii) 通过金属碳共价键形成的金属有机化合物,如四乙铅;
- (iii) 元素与一个或多个稳定化合物松散结合,但没有形成能够鉴定出来的新化合物,例如食用纤维成分对某些痕量元素的生物利用的影响;
- (iv) 被化学键合的痕量元素络合物,例如与样品中某一特定组分络合形成的络合物,肾脏和肝脏中金属蛋白质中镉、铜、锌就是这方面的例子。

形态分析研究的分析方法中,分析食品中痕量金属含量的程序主要包括下几个步骤:

- (i)在不破坏被测物的情况下浸煮;
- (ii)分离和预浓缩(如果必要);
- (iii)测量。

目前,用高效液相色谱(HPLC)与ICP-MS联用是最为常用的形态分析手段,占形态分析研究的70%以上,此外还有毛细管电泳、超临界色谱和气相色谱等各种分离方法与ICP-OES或者ICP-MS联用的研究,如下图所示。

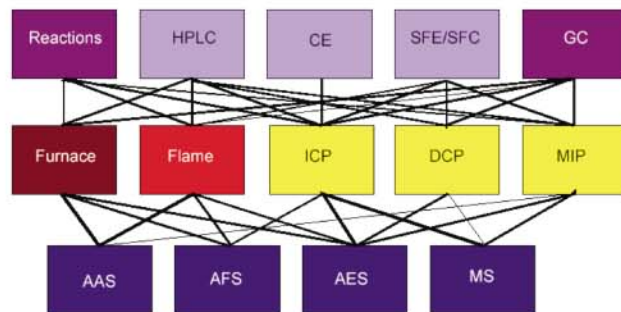


图5 形态分析技术示意图

7 结论

食品安全随着人们对健康的重视已经越来越深入人心,其要求也越来越高,并以美国EPA的一系列法规进行了明确的规定,同时食品中痕量元素的检测技术还关系到食品的贸易,甚至成为技术壁垒的手段之一。因而在我国广泛采用与国外同样的测试技术和分析方法已经成为了人们的共识。

在食品中痕量元素的分析中,所使用的仪器有AAS、ICP-OES、ICP-MS等,其样品处理需要微波消解装置。无论是何种仪器,其发展的趋势都是越来越好的检出限和稳定性,越来越容易使用,分析的速度越来越快,获得的信息却越来越丰富。人们不再满足于知道元素的总量,还要知道元素所存在的形态以及每一个形态的含量。随着对仪器的需求越来越多,仪器的功能也会相应越来越强大,而日益增多的批量化生产会使仪器的制造成本降低,应用更加广泛。