

doi:10.3969/j.issn.2097-0013.2023.04.015

生物样品无机前处理方法研究进展

肖细炼¹, 魏立¹, 邵鑫¹, 刘金¹, 陈燕波¹, 陈海涛², 杨红梅¹

XIAO Xi-Lian¹, WEI Li¹, SHAO Xin¹, LIU Jin¹, CHEN Yan-Bo¹, CHEN Hai-Tao², YANG Hong-Mei¹

1. 中国地质调查局武汉地质调查中心(中南地质科技创新中心), 湖北 武汉 430205;

2. 中国地质调查局长沙自然资源综合调查中心, 湖南 长沙 410699

1. Wuhan Center, China Geological Survey (Geosciences Innovation Center of Central South China), Wuhan 430205, Hubei, China;

2. Changsha General Survey of Natural Resources Center, China Geological Survey, Changsha 410699, Hunan, China

摘要:生物样品元素分析是生态地球化学、环境化学、农业土壤和医学等学科领域研究的重要手段。生物样品具有组成复杂,有机质含量高、基体干扰较大、部分无机元素含量低的特点,其无机前处理技术是生物样品无机元素分析的最关键步骤,必须选择科学、合理、高效的前处理方法进行消解,以保证消解后的溶液适用于对应的无机元素分析。本文针对生物样品的特殊性,对生物样品不同的无机前处理方法的国内外研究进展进行了综述,重点对各方法的优缺点、影响因素及适用的无机元素分析进行了系统论述,认为当前各无机前处理方法都存在一定的缺陷,需要根据待测元素的性质、实验成本、分析效率、结果准确等因素综合选择最优的前处理方法。未来开发更多、更高效的生物样品原位分析技术是弥补目前各无机前处理方法缺陷的重要手段。

关键词:生物样品;无机前处理方法;干法灰化;敞开湿法消解;高压密闭消解;微波消解

中图分类号:O653; O658

文献标识码:A

文章编号:2097-0013(2023)04-0746-10

Xiao X L, Wei L, Shao X, Liu J, Chen Y B, Chen H T and Yang H M. 2023. Research Progress in Inorganic Pretreatment of Biological Samples. *South China Geology*, 39(4):746-755.

Abstract: Element analysis of biological samples is an important means of research in fields such as ecological geochemistry, environmental chemistry, agricultural soil, and medicine. Biological samples have the characteristics of complex composition, high organic matter content, significant matrix interference, and low content of some inorganic elements. The inorganic pre-treatment technology is the most crucial step in the analysis of inorganic elements in biological samples, and scientific, reasonable, and efficient pre-treatment methods must be selected for digestion to ensure that the digested solution is suitable for the corresponding inorganic element analysis. In this paper, we reviewed the research progress of different inorganic pre-treatment methods for biological samples both domestically and internationally, focusing on the advantages and disadvantages, influencing factors, and applicable inorganic element analysis of each method. It is believed that all current inorganic pre-treatment methods have certain shortcomings, and it is necessary to consider the properties, the experimental costs, the analytical efficiency, the accuracy of the results, and other factors to choose the optimal preprocessing method. In the future, the development of more and more efficient techniques for in situ analysis of biological samples is an important means to make up for the shortcomings of the current in-

收稿日期:2023-7-22;修回日期:2023-9-11

基金项目:中国地质调查局地质调查项目(DD20221777)

第一作者:肖细炼(1984—),男,高级工程师,硕士,主要从事地球化学分析方面的研究工作,E-mail: xiaoxilianezhou@126.com

organic pre-treatment methods.

Key words: biological samples; inorganic pretreatment method; dry ashing; open wet digestion; high pressure closed digestion; microwave digestion

自20世纪90年代以来,随着工农业技术的快速发展,环境污染问题日趋严重,大量的有毒有害物质进入岩石圈、土壤圈、水圈与生物圈,并随着生物富集、迁移转化进入生物体内,对生物,特别是人类造成大量的伤害。环境问题已成为当今世界重要的议题,其重要性、紧迫性已经被人类越来越深刻地认识到。

21世纪以来,在我国开展的新一轮国土资源大调查中,生态地球化学调查是其中重要内容之一,生物样品分析是生态地球化学调查评价的重要组成部分(尹明和李家熙,2011)。对生物样品中多种主量及微量无机元素的分析测定可以判断土壤环境污染程度、农作物适应性和土壤质量,以及预警食品卫生安全,为环境科学及绿色农业提供科学依据(于兆水等,2014a),同时为进一步追索元素在岩石圈、土壤圈、水圈与生物圈中的迁移转化及其产生的生态效应提供了重要手段。

生物样品包括植物样品(如植物的根、茎、叶、果实等)和动物样品(如头发、指甲、血浆等),其组成复杂,有机质含量高,主要含有C、H、O、N等组成有机物的有机元素和一些P、K、Ca、S等无机营养元素,基体干扰较大,其余的大多数元素含量都较低,一般低于样品的背景值。科学、合理、高效的生物样品前处理方法是准确测定生物样品有益有害元素的重要保证(梁立娜等,2003)。生物样品前处理方法包括有机前处理方法和无机前处理方法,目前,大多数研究领域主要将生物样品的无机元素含量作为污染程度的判定依据,因此,对生物样品进行无机前处理消解方法研究最多。生物样品无机前处理技术是其无机元素分析的最关键步骤,必须选择科学、合理、有效的前处理方法进行消解,以保证消解后的溶液适用于对应的无机元素分析。本文针对生物样品的特殊性,对生物样品不同的无机前处理方法的国内外研究进展进行了综述,重点对各方法的优缺点、影响因素及适用的无机元素分析进行了系统论述。

1 生物样品无机前处理方法

目前,虽然出现过少量文献报道的固相和液相微萃取等有机前处理技术应用于生物样品中微量元素分析测定(Comitè and Reis, 2003; Malekpour et al., 2009),但是该技术局限性较强,很难应用于大部分生物样品的无机元素分析。对生物样品进行完全分解后再用于无机元素分析的无机前处理方法仍是主流。一个理想的分解方法必须具备以下条件(尹明和李家熙,2011):(1)待测组分必须定量转入溶液;(2)因试样分解而引入的杂质将不干扰待测组分的测定,更不能引入待测组分;(3)试样分解后的溶液可供测定的组分越多越好,即一次溶(熔)样,可以测定多种组分;(4)分解方法于其后续的分析技术能有机配合;(5)不仅能使待测组分完全分解,而且在试样分解的同时对待测元素能进行分离;(6)分解方法简单、快捷;(7)环境污染较小;(8)溶(熔)样后的测定结果可以重现。常见的生物样品无机前处理方法主要有干法灰化(王小平,2005;陈海杰等,2015;肖细炼等,2017)、敞开湿法消解(郑磊等,2020;张晓梅和潘兴富,2022)、高压密闭消解(范博伦等,2017;张皓等,2022)、微波消解(乔爱香等,2010;端爱玲等,2021)等4种,其中敞开湿法消解和高压密闭消解都属于湿法消解的范畴,其区别主要是压力、容器的密封环境以及消解试剂的配比不同,其他的无机前处理方法也基本都由这4种方法改进得来。

1.1 干法灰化

干法灰化是通过高温灼烧分解试样中的有机物,使有机物脱水、炭化、分解、氧化,灼烧后剩余灰分颜色为白色或浅灰色,成分主要为耐高温盐类或金属氧化物,该方法可以减少因试剂用量大而造成试剂浪费和环境污染的问题,由于试剂用量少,所以空白值低,可以有效富集待测非挥发元素,但是对于易挥发性元素如As、Hg、Se、Bi、Te、Pb、B等则

不适用,容易造成该类元素挥发损失而导致结果偏低。目前,该方法已应用在多种生物样品无机前处理中(王小平,2005,陈海杰等,2015;肖细炼等,2017)。该方法主要存在灰化温度、灰化时间、助灰化剂和称样量等4种影响因素。

1.1.1 灰化温度和灰化时间

生物样品的灰化是一个高温去除有机物的过程,因此,灰化温度和灰化时间是非常重要的前处理条件,温度过高或过低、时间过长或过短都会对样品无机元素的分析测定造成很大影响。一般根据待测元素来选择合适的灰化温度和时间,温度大概在350℃~650℃之间,时间一般为1~4h。温度过高或时间过长,则大部分待测元素均挥发,将导致测定值严重偏低;温度太低或时间短,则样品未完全分解,测定值也会偏低。因此,必须了解待测元素的挥发温度,样品的灰化温度不能超过该温度,同时通过试验选择合适的灰化时间。

陈海杰等(2015)采用干法灰化-原子荧光光谱法测定植物样品中痕量锗,研究了灰化温度和灰化时间对植物样品的影响,结果表明采用程序化升温模式,2h将温度缓慢升至灰化温度,样品灰化效果较好,灼烧温度在500℃以下时,测定值偏低,这是由于样品灰化不完全所致;在500℃以上时,样品能够灰化完全,结果保持恒定,并且与标准值一致;但是进一步实验表明,当温度高于700℃时,圆白菜、菠菜等蔬菜样品容易粘结于石英坩埚的底部,致使坩埚腐蚀,将降低坩埚的使用寿命,因此确定了适宜的灰化温度为600℃。当灰化时间小于3h时,测定值偏低,因为样品灰化不完全,灰分中有明显的黑色物质存在;灼烧3h以上时测定值趋于恒定,但考虑到时间过长,坩埚在高温下使用寿命会降低,并且也降低了样品分析效率,因此,确定了4h为适宜的灰化时间。肖细炼等(2017)也在干法灰化实验中考察灰化温度和灰化时间对植物样品中氟的影响,在保证样品灰化完全,避免氟损失,同时尽可能减少了坩埚的损伤的前提下,通过条件优化实验确定了适宜的灰化温度和灰化时间分别为550℃和2h。王小平(2005)研究了不同分解方法对ICP-AES测定植物样品中元素含量的影响,文中对干法灰化的灰化温度和灰化时间进行了详细的

阐述,当灰化温度过高时易造成As、Hg、Se等易挥发元素的损失;当马弗炉升温时,最好在280℃左右停留一段时间,让空气自由进入,避免植物样品因碳化速率过快而造成元素损失;对于较难分解的西红柿叶而言,过短的灰化时间不能将有机物完全分解,导致许多元素的测定值远低于实际值。

1.1.2 助灰化剂

干法灰化法提高回收率的措施除了可根据被测组分的性质采取适宜的灰化温度外,也可加入适量的助灰化剂,防止被测组分的挥发损失和坩埚吸留。常见的助灰化剂有:MgO、MgCO₃、Mg(NO₃)₂、NaOH、Ca(OH)₂、HNO₃、H₂SO₄等。加入MgO或MgCO₃或Mg(NO₃)₂可使磷元素、硫元素、砷元素转化为磷酸镁、硫酸镁、砷酸镁,防止它们损失;同时Mg(NO₃)₂有双重作用,其可分解为NO₂和MgO,前者促进氧化,后者可稀释灰分,减少灰分与坩埚壁的总接触面积,从而减少沾留。例如:As、Cu、Ag等在常规灰化时会有严重损失,如果加入Mg(NO₃)₂后,则能得到满意的测定结果。加入NaOH或Ca(OH)₂可使卤素转化为难挥发的碘化钠或氟化钙;HNO₃起氧化作用,加速有机物的破坏,因而可适当降低灰化温度,减少挥发损失。加入H₂SO₄能使挥发性较大的氯酸盐(例如氯化铅、氯化镉等)转化为挥发性较小的硫酸盐,起到基体改良剂的作用,例如H₂SO₄的加入使灰化温度升高到980℃,而铅、镉等待测元素未发现明显的损失。

龚琦等(2003)提出了在松香样品中添加混合助剂MgCO₃+Mg(NO₃)₂进行干法灰化预处理,可使砷的回收率大大提高,比单独用Mg(NO₃)₂的效果更好,且用该方法消解试样比硝酸+高氯酸的湿法消解更彻底,灰化残渣只需稀释溶解便可用于测量。而用硝酸+高氯酸消解试样后,在除去剩余酸的过程中容易造成砷的损失。覃建东等(2007)研究了干法消解测定桑叶中总氟化物,在样品灰化过程中加入了3.0g镁氧化物助灰化剂,小火炭化,在400℃下灰化2h,定容后测得的氟化物比不加助灰化剂要高,提高了回收率,为准确判断桑叶受污染程度提供了依据。

1.1.3 称样量

生物样品中的大多数元素含量都较低,一般都

低于样品的背景值。根据待测元素性质,干法灰化的样品称样量一般为1 g左右(成玉梅等,2004,2005;杨剑虹等,2007)。对于更低含量的元素(例如Au、Ag等元素),可以加大称样量,以提高方法的灵敏度、精密度和准确度。

韩格非等(2022)在国标扩散比色法的基础上研究了镁盐固定灰化-超声浸提-氟离子选择电极测定植物样品中的氟,将本方法应用于200余件植物籽粒、叶片、根茎等植物样品的检测,针对不同的植物样品,称样量会有所不同,范围0.2000~2.0000 g,加入硝酸镁+氢氧化钠固定样品中的氟,低温升至550~600 °C直至灰化完全,加标回收率在95%~106%之间,满足分析要求。双龙(2022)建立了高温灰化-酸溶去除生物样品中的复杂有机组分,离子选择性电极法测定生态地球化学评价生物样品中痕量氟的方法,称取1.0000 g试样,经5 mL硝酸镁溶液固定,电热板蒸干和炭化,在600 °C灼烧1.5 h,采用盐酸(1+10)提取,与现有的分析方法相比,大大提高了工作效率,该方法不仅适用于植物样品,也适用于人体毛发、血液、尿液、唾液等生物样品中氟含量的测定。葛江洪和于兆水(2019)研究了高温灰化-离子选择性电极法测定植物样品中微量氟,考察了称样量对测试溶液中氟离子的浓度影响关系,当称样量过少,特别是样品中氟的实际含量较低时,溶液中氟离子浓度可能会低于其选择性电极的线性范围,电极响应时间变长,加上搅拌速度带来的点位波动等因素,将严重影响测定结果的准确性;当称样量大于1.0000 g后,测定值趋于恒定,回收率近100%,最终确定适宜称样量为2.0000 g。施意华等(2012)研究了电感耦合等离子体质谱法测定铜矿区20种植物中的金、银,由于植物中金和银的含量极低,使其难以准确定量,因此,该方法选择称取10.00 g植物样品,然后置于马弗炉中,从低温升至350 °C并保温30 min,再升至650 °C保温至样品灰化完全,然后加入10 mL(1+1)王水提取,利用电感耦合等离子体质谱仪测定。该方法准确测定了铜矿区多种植物中的痕量金、银,为植物地球化学找矿研究提供了重要的技术支撑。

1.2 敞开湿法消解

敞开湿法消解是指用各种无机酸在敞开容器

下加热分解试样,破坏样品中的有机物或还原性物质的方法,又叫敞开酸溶分解法。因为酸较易提纯,不会因溶样而引入除氢离子以外的其他阳离子;在试样分解的同时,某些干扰元素因挥发而除去(Malekpour et al., 2009)。与碱熔法相比,敞开湿法消解具有使用设备简单、对器皿腐蚀小、分解温度低、操作相对简单、适用性强等优点,故该方法一直是处理地质、环境、生物等样品常用的分解方法,应用广泛。敞开湿法消解的不足在于其分解能力低于碱熔分解法和高压密闭消解法,对某些矿物的分解能力较差,所以需要的分解时间较长;某些组分在分解过程中可能因挥发而逸失;消解液中的某些成分可能会与个别元素结合形成沉淀;由于加入酸的类别较多和量较大,样品受试剂污染的可能性比干法灰化大,同时对环境的污染也较大。

敞开湿法消解主要是将硝酸、高氯酸、盐酸等强氧化性无机酸以一定的配比混合,对样品中的有机物进行分解,因此,它的关键影响因素是各种消解试剂的配比,主要根据不同样品及对应的分析元素来选择。近年来,敞开湿法消解在生物样品无机前处理方面应用较为广泛。

郑磊等(2020)建立了采用硝酸水浴消解-电感耦合等离子体质谱法测定指甲和头发中13种金属元素的分析方法,在湿法消解基础上增加水浴加热,使样品受热均匀,缩短消解时间,可以较好的减少易汽化元素的损失,使该方法具有回收率高、重复性好、成本低、操作简单高效等优点,适合长期开展大批量指甲和头发样品中多种金属元素的测定,为研究这些金属元素对人体健康影响提供了技术支持。张晓梅和潘兴富(2022)研究了湿法消解-原子荧光光谱法测定全血中硒,血样经硝酸-高氯酸混合酸消解后,用硼氢化钠将硒还原成硒化氢,由氩气载入原子化器,产生的原子荧光强度与试液中硒元素含量在一定范围内呈正比,外标法定量,为原子荧光光谱法检测全血中硒的标准制定提供了参考。陈海杰等(2020)采用硝酸-高氯酸以15:2的体积比混合,对植物样品中的硒进行测定,建立了抑制植物样品消解过程中硒挥发的方法,研究结果表明消解过程中硒的挥发可能是样品中存在的氯(Cl)等引起,实验发现,通过加入Ca²⁺可以抑制硒

在消解过程的挥发,即使加热至干,硒也不会挥发损失。在此基础上,通过氢化物发生-原子荧光光谱法(HG-AFS)可以准确测定植物样品中痕量硒,显著降低了操作难度,提高了方法的准确度和可靠性。吕莉等(2019)采用硝酸-高氯酸以1:1的体积比混合,建立了电热板混酸消解-氢化物发生-原子荧光光谱法检测鸡蛋中硒含量的分析方法,对消解液的混合比例进行了优化,选用硝酸-高氯酸比例为1:1时,硒的回收率比其他比例要好,并且发现在实验过程中必须严格控制电热板温度,避免在加热过程中硒元素形成氢化物而逸出,从而造成硒的损失。并利用该法对普通鸡蛋、土鸡蛋和乌鸡蛋中的硒含量进行了检测分析,结果显示,土鸡蛋和乌鸡蛋中的硒含量显著高于普通鸡蛋,也为人们进行鸡蛋消费选择提供了理论依据。

双氧水(过氧化氢)与无机酸混合在处理生物样品方面也有应用。杨晓霞等(2021)采用硝酸-过氧化氢(5:3混合)敞口消解/电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定了植物样品中砷,选取了玉米秸秆与籽粒、小麦秸秆与籽粒、烟草等5种不同的植物样品,加入硝酸作为消解用的强酸,而添加过氧化氢主要是为了促进有机物分解,可以得到清凉的消解液,同时后期通过升温,赶走残余的硝酸,消解液中硝酸浓度降低,有利于保护后端的ICP-MS采样锥和截取锥。方法的准确度和精密度较高,砷的加标回收率较好,建立的方法可满足植物样品中砷的测定需求。赵永强等(2012)采用硝酸-过氧化氢(10:3混合)对木耳样品进行消解,用火焰原子吸收法测定了消解液中的锌、镁、铁、锰等4种微量元素含量,方法精密度良好,测定结果准确、可靠。

敞开湿法消解所采用的无机酸的种类及各混合酸的配比主要是根据待测样品的消解难易程度决定。对于易消解样品(如树叶、头发等),可以单独使用硝酸,或者使用硝酸比例较大,其他酸加入量较少;而对于含木质成分较高的根、茎等硬质难消解样品,除了加入一定量的硝酸以外,还可提高高氯酸或者过氧化氢等强氧化性试剂的比例,增强氧化分解能力,可以更好地将待测生物样品消解完全。

1.3 高压密闭消解

高压密闭消解是指样品在密闭的高压消解罐

中,加入消解试剂(一般是无机酸),由于压力增加,提高了酸的沸点,因而增强了酸的分解能力,进而达到更有效分解样品有机物的目的。

高压密闭消解的容器包括内罐和外罐,内罐可以采用铂、聚四氟乙烯或聚丙烯制成,由于铂太贵,成本太高,故用得少,而聚四氟乙烯或聚丙烯因为耐腐蚀,有良好的化学稳定性、热稳定性和耐压性,易加工成型,因此作为内罐密封溶样器应用相当普遍(尹明和李家熙,2011)。外罐一般采用不锈钢外套,其具有不易生锈、密封性好等优点。

高压密闭消解的优点首先是增强了分解能力,样品和试剂在高压密闭空间反复回流,易挥发的组分可以较好地保留在溶液中,大量难消解的元素可完全消解;与敞开湿法消解相比,由于称样量减少,故酸的用量也随之减少,因此,节约了分析成本和试剂污染,且空白值低;另外,由于密封性好,避免了空气氧化,因此,对FeO等某些组分的测定非常有利,提高了该类组分的检出率。

高压密闭消解的缺点也较多:(1)聚四氟乙烯或聚丙烯容器易带静电,因此,粒度较细的试样在称样后装入容器时容易造成试样飞散,一般通常在称样前用去离子水润湿容器可以有效解决该问题;(2)由于消解容器工作时处于高温高压状态,所以样品处理过程比较危险,对于生物试样,有机质含量较高,消解试剂慎用高氯酸,以防爆炸,对于那些含木质成分较高的根、茎等硬质难消解样品,可以用双氧水替代高氯酸,增强样品分解能力;(3)溶样时无法观察样品的分解情况;(4)样品分解耗时长,一般长达12 h以上,且装罐和开罐费体力,效率低下,消解罐昂贵,分析成本较高。

张皓等(2022)建立了密闭消解-电感耦合等离子体发射光谱法测定植物中硫含量的方法,以硝酸和过氧化氢为消解溶剂,利用聚丙烯离心管密闭消解样品,不需要反复赶酸,提高了消解效率,降低了检测成本,并且通过与微波消解方法进行对比,发现采用聚丙烯离心管密闭消解法明显具有经济成本和时间成本优势,适合大批量植物样品中硫含量的测定。范博伦等(2017)采用密闭消解-氢化物发生-原子荧光光谱法测定植物中硒,以硝酸-过氧化氢(2+1)混合液于130℃密闭消解4 h,以10 g/L硼

氢氧化钠溶液作为还原剂,对混酸体系配比、消解时间、消解温度等实验前处理及仪器测定条件进行了优化,建立了一种简单、高效的硒测定方法,分析结果令人满意,且一次可消解的样品量多,实用性强。李艳华等(2020)采用高压密闭方式,以5 mL MOS级硝酸对植物样品进行消解,建立了氢化物发生-原子荧光光谱法测定植物样品中汞的方法,该方法同国标方法《GB5009.17-2014 食品安全国家标准食品中总汞及有机汞的测定》(国家卫生和计划生育委员会,2016)相比,大大降低了汞的检出限,提高了灵敏度和精密度。该方法具有酸用量少、空白值低、消解完全、污染小的优势,且大大降低了对环境的气体排放量。李艳香等(2010)建立了以 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 高压密闭消解、2%(体积分数)乙醇为基体改进剂准确测定植物样品中痕量As、Se、Sb和Te的方法,研究发现乙醇介质的加入提高了难电离元素的电离度,对As、Se、Sb和Te具有明显的增强效应,随着乙醇浓度的增加,元素的ICP-MS信号强度增加,并在2%时达到最大,之后呈降低趋势,当乙醇浓度大于6%时,出现信号的抑制。王祝等(2017)采用高压密闭消解处理动物样品鸡蛋,然后采用ICP-AES和ICP-MS两种仪器方法互补测定消解后的溶液中16种元素,ICP-AES用于测定含量高的主量和微量元素,ICP-MS则用于含量低的痕量和超痕量元素分析,方法RSD小于8%,加标回收率在95.3%~105%之间,测定结果准确可靠。孙德忠等(2012)研究了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,研究表明:在高压密闭消解的消解体系中加入氢氟酸能有效提高铍、稀土、钇、钽、铈、铀等元素的回收率,但是消解后的溶液必须要赶尽氢氟酸,否则会损伤ICP-AES和ICP-MS仪器,同时也会造成ICP-MS仪器的质谱干扰。然而,在电热板上赶氢氟酸的过程中,也会造成硼和汞等易挥发元素的损失,因此,应根据生物样品的测定元素选择合适的消解试剂。

1.4 微波消解

微波消解技术是近年来迅速发展起来的新兴样品预处理技术,相比其他成熟的试样消解方法还很年轻。微波是指频率在300~300000 MHz的高频

电磁波,而微波消解溶样通常使用1450 MHz的工作频率。传统的普通加热是以热传导和热辐射方式,从外向里对容器和样品加热,而微波消解是通过偶极子旋转和离子传导两种方式,里外同时加热,样品和试剂在微波产生交变磁场作用下,极性分子随磁场交替排列,引起分子的高速振荡,从而产生键的振动、撕裂和粒子之间的相互摩擦、碰撞,致使温度迅速升高,促使消解试剂与样品更好的接触和反应,从而使样品迅速被分解。同时与样品接触的酸产生的热对流会搅动并清除样品表面已溶解的表面层,使样品与酸接触界面不断更新,也会加速样品的分解(尹明和李家熙,2011)。

微波消解具有快速溶样、减少样品量和试剂量、空白值低、自动化操作、降低分析成本、提高工作效率和防止易挥发元素挥发损失等优点(田宝珍等,2000;张霖琳等,2009)。但是,其缺点与高压密闭消解类似,比如,对于生物试样,有机质含量较高,故在高温高压状态下,样品处理过程比较危险,消解试剂慎用高氯酸,以防爆炸,可以用双氧水替代高氯酸。

微波消解溶样不仅广泛应用于岩石、矿物、土壤和沉积物的分解,同时也被成功用于生物样品的分解,在地质、农业、环境、医学等学科领域得到广泛的应用。张霖琳等(2009)建立了微波消解-ICP-MS测定人体血浆中30种痕量元素的方法,其中人体血浆样品采用 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 消解试剂进行微波消解,而不采用其他的消解试剂,如 H_2SO_4 、 HCl 和 HClO_4 等,主要是为了克服此类消解试剂严重干扰ICP-MS测定,选用双内标元素铑(Rh)和铈(Re)进行校正,有效补偿了基体效应和信号漂移,提高了分析结果的精密度和准确度。田宝珍等(2000)建立了微波消解技术直接用于新鲜生物样品消解-石墨炉原子吸收光谱(GFAAS)测定的方法;鲜样与干样不同,含有大量水分,相当于稀释了消解液,降低了消解液的浓度,因此,消解时的条件与干样有区别;文中探讨了鲜样直接微波消解的规律,优化了实验前处理条件及微波消解程序设置,结果表明鲜样直接微波消解并进行元素分析是可行的,可以得到消解完全的溶液,结果准确可靠。刘伟等(2020)研究建立了稀氨水-微波消解-电感耦合等离子体

质谱法测定生态地球化学生物样品中碘的方法;通过用稀氨水代替硝酸对样品进行消解,较好地解决了测定结果不稳定及记忆效应严重问题;采用离线内标加入法,有效地消除了检测过程中因操作因素等引起的误差和基体效应干扰。展向娟等(2013)采用聚四氟乙烯微波消解罐(口径4 cm,高10 cm)内置石英内插管(口径1 cm,高6 cm)法消解样品,称样于石英内插管中,研究发现称样0.1000 g样品只需加入1.5 mL浓 HNO_3 即可得到理想的消解溶液,用更少的消解试剂消解样品后直接定容测定,无须在电热板上二次赶酸,从而避免了As、Se、Hg、Sb等易挥发元素的损失。李刚等(2010)建立了用 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 作消解试剂,高压微波消解样品,ICP-MS测定农业地质植物样品中11种微量元素的方法,优化了微波消解仪和ICP-MS的最佳工作参数,有效解决了植物样品的分解和残留有机物干扰问题,该方法可应用于植物的果实、根、茎、叶等不同类型的样品的测定,特别适用于ICP-AES仪器难以测定的元素(如Pb、Cd、Mo、Ge等)。韩张雄等(2016)针对植物样品中氟元素含量低的特点,采用微波消解处理样品,避免了氟元素损失的问题,消解后的溶液采用氟离子选择性电极进行检测,同时加入适量的总离子强度缓冲溶液(TISAB)增强了氟离子的强度,通过调节溶液pH值掩蔽了其他元素(如Al、Fe等)干扰问题,实现了快速、准确测定植物样品中氟的含量。

1.5 其他无机前处理方法

生物样品无机前处理方法除了以上常见的干法灰化、敞开湿法消解、高压密闭消解、微波消解等4种方法以外,还包括一些在这4种方法基础上加以拓展、改进、延伸的一些特殊方法。这主要是因为某些待测元素具有特殊性(如Si、Al属两性元素),如果采用以上4种常见方法进行直接消解,这些元素可能没有完全溶出或者有些元素挥发损失,造成测定结果不理想,改进后的方法就可以针对特殊的待测元素测得准确可靠的结果。这些特殊方法的改进往往从以下几个方面进行。

(1)对消解容器或消解装置的改进,使方法简单、高效,测定数据更准确。比如,藏吉良等(2012)采用风冷回流消解装置、 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 消解体系对植

物样品进行回流消解,测定植物样品中46种元素。该方法与传统的敞开湿法消解不同之处在于将自制加装风冷管的多个锥形瓶置于电热板上150℃消解,在45 cm×65 cm面积的电热板上,一次对45个锥形瓶回流装置同时进行加热,不需要严格规定消解时间,保证回流加热微沸消解至消解完全即可,提高了样品前处理效率。马生凤等(2007)针对Hg元素易挥发的特点,创造性地研究了大试管和红外加热的多孔控温消解炉装置消解植物样品的大管回流法,虽然高压密闭消解或微波消解也能处理易挥发元素样品,但是该方法具有创新性、成本较低、操作简便,无需钢套或微波等抗压装置,只需要带孔的红外电热消解炉和16个管径3.5 cm、高30 cm的特制玻璃试管即可,适用于高温下易挥发元素样品消解。

(2)增加一些前处理步骤,如碱熔、萃取等,提高方法的回收率。比如,孙德忠等(2008)先对生物样品进行干法灰化,灰化后的灰分再进行偏硼酸锂碱熔,然后用ICP-AES测定生物样品中的Si、Al等元素。因为Si、Al都属两性元素,常规的干灰化-酸溶、敞开湿法消解、高压密闭消解都难以消解完全,造成结果偏低(王小平等,2006)。如果直接用碱熔试剂碱熔生物样品,则大量的有机物因无法溶于碱导致其包裹的元素无法释放,因而也无法进行准确地元素分析。孙德忠等(2008)的方法具有较高的灵敏度、精密度和准确度,适用多种类型的生物样品中Si、Al等元素的测定。肖细炼等(2017)也是将干法灰化与NaOH碱熔灰分相结合对植物样品进行前处理,然后用离子选择性电极测定样品中的氟含量,方法检出限低、精密度和准确度较好,在环境化学和生态地球化学领域具有重要应用价值。郑聪等(2011)在现有的碘含量测定方法基础上,通过在前处理中增加提取方式,建立了测定海带、裙带菜、发菜、海苔、紫菜、石莼等食用藻类植物中碘含量的电感耦合等离子体-质谱法。将藻类植物样品采用质量分数25%四甲基氢氧化铵(TMAH)在密闭玻璃瓶中于90℃条件下提取3 h,取上清液进行ICP-MS碘元素测定,方法操作简单、检出限低、结果准确,实用性强。

另外,随着仪器分析技术的不断发展,分析化

学学科中的一些固体进样原位分析技术也不断应用于生物样品分析检测中,这些技术相比干法灰化、敞开湿法消解、高压密闭消解、微波消解等方法而言,可以直接固体进样分析,不需要使用酸或碱等对环境污染的试剂消解试样,具有简单、高效、绿色环保等优点。比如,于兆水等(2014b)建立了高压粉末制样波长色散X射线荧光光谱法(WD-XRF)测定生物样品中23种主次量元素(Al、Ca、Cl、K、Mg、Na、P、S、Si、Ba、Br、Co、Cr、Cu、Fe、Mn、Ni、Pb、Rb、Sr、Ti、V、Zn),该方法在高压1760 MPa压力下直接压制各种类型的生物样品,所制成的样品表面光滑、致密,较好地解决了传统低压(压力220~440 MPa)压制的样片表面粗糙、疏松、粉末容易脱落、对XRF仪器样品室污染严重、影响仪器长期稳定性的难题,分析结果重现性得以大幅改善,降低了方法检出限,提高了方法精密度和准确度。张彩霞等(2012)基于大米、小麦、玉米等23种国家生物成分系列标准物质,探讨了X射线荧光光谱法在常见生物样品中常量和微量元素测定的应用,该方法采用30吨压力的粉末压片制样,选用的生物成分标准样品基本覆盖了生物样品中各元素的含量范围,方法检出限基本能保证测定结果的有限性,能够满足生物样品中常量和微量元素分析要求,但是该方法主要针对样品种类和元素含量与标准物质相接近的生物样品,因此,该方法具有一定的局限性。黄汝锦等(2005)建立了一种采用固体热解塞曼原子吸收光谱快速测定中药和生物样品中痕量汞的方法,样品不需要消解即可直接测定,单个样品的分析时间不超过4 min,并且由于塞曼效应校正,使分析结果准确可靠。以上报道的固体进样原位分析技术确实在生物样品分析检测中发挥了有效作用,但是也存在一些缺点,比如,(1)高压制样设备价格昂贵,成本较高,目前在国内外使用的还不多,常见的低压制样设备所能压制的生物样品种类有限;(2)一些特定的痕量分析元素(例如稀土元素)目前由于仪器设备局限性原因还很难进行原位分析测定;(3)固体进样原子吸收光谱仪器每次只能进行单元素分析,分析生物样品多元素效率较低下。因此,希望未来能开发出更多、更高效的原位分析技术解决当前生物样品无机前处理方法的技术难题。

2 结论与展望

生物样品分析是生态地球化学评价的重要组成部分,选择科学、合理、高效的生物样品前处理方法是准确测定生物样品有益有害元素的重要保证。本文针对生物样品的特殊性,对生物样品不同的无机前处理方法的国内外研究进展进行了综述,重点对各方法的优缺点、影响因素及适用的无机元素分析进行了系统论述。当前各无机前处理方法都存在一定的缺陷,目前主要是根据待测元素的性质、实验成本、分析效率、结果准确等因素综合选择最优的前处理方法,但是都会使用到酸或者碱等对环境污染的试剂。当今世界,环境污染问题日趋严重,生态环境问题的重要性、紧迫性已经被人类越来越深刻地认识到,未来亟需研究开发出更多、更高效的生物样品原位分析技术来避免当前样品分析过程存在的各种潜在环境风险。

参考文献:

- 陈海杰,马娜,陈卫明,顾雪,张鹏鹏,张灵火,白金峰,于兆水.2020.抑制植物样品消解过程中硒挥发的方法[J].分析化学,48(9):1268-1272.
- 陈海杰,于兆水,白金峰,李庆霞,刘亚轩,薄玮,张勤.2015.干法灰化-原子荧光光谱法测定植物样品中痕量锆[J].光谱学与光谱分析,35(4):1048-1051.
- 成玉梅,康业斌,韩建国.2004.瓷坩埚干灰化植物样对微量元素检出量的影响[J].广东微量元素科学,11(3):52-55.
- 成玉梅,孙鲜明,康业斌.2005.灰化温度对测定植物样微量元素含量的影响[J].食品科学,26(2):165-169.
- 端爱玲,王思远,董艳红,张树雄,杨树俊,韩张雄.2021.微波消解-电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法测定植物样品中的磷、硫[J].中国无机分析化学,11(6):126-130.
- 范博伦,马真真,田欢,鲍征宇,周杨,张宏宇.2017.密闭消解-氢化物发生-原子荧光光谱法测定植物中硒[J].理化检验(化学分册),53(8):905-908.
- 葛江洪,于兆水.2019.高温灰化-离子选择性电极法测定植物样品中微量氟[J].化学工程师,(3):24-26.
- 龚琦,袁爱萍,黄玉龙,吴健玲,李德玉,韦小玲.2003.松香试样的预处理及痕量砷的测定方法研究[J].光谱学与

- 光谱分析,23(4):789-792.
- 国家卫生和计划生育委员会.2016.GB 5009.17-2014 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定[S].北京:中国标准出版社.
- 韩格非,贺开富,赵平,徐建伟.2022.镁盐固定灰化-超声浸提-氟离子选择电极测定植物样品中的氟[J].江西化工,(2):60-63.
- 韩张雄,马娅妮,刘琦,王曦婕,雒虹.2016.微波消解-离子选择电极法测定植物样品中氟离子的实验条件优化[J].岩矿测试,35(4):397-401.
- 黄汝锦,庄时厦,魏金峰,张淑琼,沈金灿,王小如.2005.固体热解塞曼原子吸收光谱法用于中药和生物样品中痕量汞的快速测定[J].光谱学与光谱分析,25(10):1708-1710.
- 李刚,高明远,诸堃.2010.微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定植物样品中微量元素[J].岩矿测试,29(1):17-22.
- 李艳华,刘军,李鹏程,陈浩凤,辛涛,于亚辉.2020.高压密闭消解-氢化物发生原子荧光光谱法测定植物样品中的汞[J].当代化工,49(11):2588-2591.
- 李艳香,梁婷,汤行,刘先国,胡兆初,胡圣虹.2010.乙醇基体改进ICP-MS法直接测定植物中的痕量As、Se、Sb和Te[J].分析试验室,29(5):29-32.
- 梁立娜,李中阳,陈登云,何滨,江桂斌.2003.ICP-MS技术测定生物样品中重金属的前处理方法研究[J].环境化学,22(1):99-100.
- 刘伟,沈桂华,黄瑜,彭天赐,张文娟.2020.稀氨水-微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定生态地球化学生物样品中的碘[J].矿产与地质,34(2):386-390.
- 吕莉,李源,井美娇,马梦丹,彭玥晗,秦顺义,李留安.2019.氢化物发生-原子荧光光谱法测定三种鸡蛋中硒含量的研究[J].光谱学与光谱分析,39(2):607-611.
- 马生凤,孙德忠,巩爱华,孙红宾.2007.大管回流消解ICP-MS测定植物样品中的Hg及其他痕量元素[J].矿物岩石地球化学通报,26(2):136-140.
- 乔爱香,曹磊,江冶,赵斌,汤志云.2010.干法灰化和微波消解-电感耦合等离子体发射光谱法测定植物样品中22个主次量元素[J].岩矿测试,29(1):29-33.
- 施意华,杨仲平,宋慈安,邱丽,胡圣虹.2012.电感耦合等离子体质谱法测定铜矿区20种植物中的金银[J].光谱学与光谱分析,32(5):1387-1390.
- 双龙.2022.高温灰化-酸溶-离子选择性电极法测定生态地球化学评价生物样品中的痕量氟[J].化学试剂,44(10):1500-1505.
- 孙德忠,安子怡,许春雪,王苏明,王亚平.2012.四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,31(6):961-966.
- 孙德忠,何红蓼,温宏利,马生凤,巩爱华,殷绍泉.2008.干灰化结合偏硼酸锂碱熔灰分ICP-AES测定生物样品中的硅铝等元素[J].光谱学与光谱分析,28(1):195-199.
- 覃建东,谢朝怀,郭健,覃荣,余学川,刘远芝.2007.干法消解测定桑叶中总氟化物[J].分析试验室,26(z1):31-33.
- 田宝珍,曹福苍,雷鹏举,曲久辉.2000.微波消解制样技术用于生物样品微量分析的研究[J].食品与发酵工业,26(3):15-20.
- 王祝,苏思强,邵蓓,万静,李永林,李明礼.2017.高压密闭消解-电感耦合等离子体原子发射光谱/质谱法测定鸡蛋中16种元素的含量[J].理化检验(化学分册),53(4):474-478.
- 王小平,高伟健,项苏留.2006.植物样品消解后残留颗粒物元素组成研究[J].光谱学与光谱分析,26(2):348-352.
- 王小平.2005.不同分解方法对ICP-AES测定植物样品中元素含量的影响[J].光谱学与光谱分析,25(4):563-566.
- 肖细炼,刘彬,陈燕波,王迪民,张勤.2017.干法灰化-碱熔-离子选择性电极法测定植物样品中氟[J].理化检验(化学分册),53(8):968-971.
- 杨剑虹,李宗澧,胡艳燕.2007.植物样品干法灰化Vc助溶对原子吸收测定的影响[J].西南大学学报(自然科学版),29(1):53-55.
- 杨晓霞,史文,郭伟,邹俊,李亚丽,汪洪.2021.硝酸-过氧化氢敞口消解/电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定植物样品中砷[J].中国无机分析化学,11(3):6-11.
- 尹明,李家熙.2011.岩石矿物分析(第四版)[M].北京:地质出版社.
- 于兆水,陈海杰,张雪梅,张勤.2014a.微波消解-高分辨电感耦合等离子体质谱测定生物样品中55种元素[J].物探化探计算技术,36(6):757-762.
- 于兆水,张勤,李小莉,樊守忠,潘晏山,李国会.2014b.高压粉末制样波长色散X射线荧光光谱法测定生物样品中23种元素[J].岩矿测试,33(6):844-848.
- 藏吉良,李志伟,赵伟,刘延霞,严洁.2012.风冷回流消解-电感耦合等离子体质谱法同时测定植物样品中46个元素[J].岩矿测试,31(2):247-252.
- 展向娟,张尼,刘亮,丁志英,魏增.2013.微波消解ICP-MS快速测定生物样品中的多种元素[J].分析试验室,32(1):106-110.
- 张皓,李源,吴亮,赵方舟,刘剑,易文杰,陈洁,郭子

- 强.2022.密闭消解-电感耦合等离子体发射光谱法测定植物中的硫[J].化学分析计量,31(7):53-57.
- 张彩霞,孙忠,叶建圣.2012.基于X射线荧光光谱法测定常见生物样品中常量和微量元素[J].岩矿测试,31(2):272-276.
- 张霖琳,邢小茹,吴国平,魏复盛.2009.微波消解-ICP-MS测定人体血浆中30种痕量元素[J].光谱学与光谱分析,29(4):1115-1118.
- 张晓梅,潘兴富.2022.湿法消解-原子荧光光谱法测定全血中硒[J].中国无机分析化学,12(3):156-160.
- 赵永强,孙晓薇,胡岗,刘志高,陈建刚.2012.火焰原子吸收法测定木耳中锌、镁、铁、锰的含量[J].湖北农业科学,51(9):1872-1873.
- 郑聪,王金花,高峰,付光亮,冯骞.2011.电感耦合等离子体-质谱法测定食用藻类植物中碘含量[J].食品科学,32(8):202-205.
- 郑磊,张森,丁亮.2020.指甲和头发中13种金属的湿法水浴消解-电感耦合等离子体质谱测定法[J].环境与健康杂志,37(1):66-69.
- Comitre A L D, Reis B F. 2003.liquid-liquid extraction procedure exploiting multicommutation in flow system for the determination of molybdenum in plants[J]. Analytica Chimica Acta, 479:185-190.
- Malekpour A, Hajjaligol S, Taher M A. 2009.Study on solid-phase extraction and flame atomic absorption spectrometry for the selective determination of cadmium in water and plant samples with modified clinoptilolite[J]. Journal of Hazardous Materials, 172:229-233.