

文章编号: 0254-5357(2012)05-0872-05

鸡蛋膜固相萃取-石墨炉原子吸收光谱法测定水样中的微量铅

刘金, 彭元, 陈红梅, 程先忠*

(武汉工业学院化学与环境工程学院, 湖北 武汉 430023)

摘要: 鸡蛋膜是由蛋白质组成的一种纤维状的生物膜。本研究利用扫描电镜和红外光谱对鸡蛋膜的结构进行分析表征,证实其具有网状结构,表面存在着—OH、—COOH、—NH₂等官能团,能与一些金属离子产生吸附和交换作用。在 pH=6 的条件下,用蛋膜作吸附剂分离富集水样中的微量铅,5 mL 3% 的硝酸进行洗脱,然后采用石墨炉原子吸收光谱法进行测定。实验中对吸附分离介质、溶液流速、蛋膜用量、洗脱剂浓度及共存离子的影响等条件进行了优化和讨论。在最佳的实验条件下,蛋膜对铅的富集倍数为 30,方法检出限(3 σ)为 0.017 ng/mL,相对标准偏差(RSD, $n=11$)为 3.45%,加标回收率为 96.0%~104.2%。与现行的分离富集方法相比,建立的方法具有简单、无毒、成本低的优点,用于实际水样中铅的分析能够获得满意的结果。

关键词: 环境水样; 铅; 鸡蛋膜; 固相萃取; 石墨炉原子吸收光谱法

中图分类号: O657.31; O614.433

文献标识码: A

Solid Phase Extraction of Lead Using Eggshell Membrane in Water Samples Prior to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometric Determination

LIU Jin, PENG Yuan, CHEN Hong-mei, CHENG Xian-zhong*

(School of Chemical and Environmental Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract: A chicken eggshell membrane (ESM) is composed of many protein fibers, and available in large quantities as a by-product of the food industry. According to a study by Scanning Electron Microscope (SEM) and Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectrometry, the ESM with an intricate lattice network of stable and water-insoluble fibers, and special functional groups such as hydroxyl (—OH), carboxyl (—COOH), aminol (—NH₂), showed an excellent potential for adsorption and exchange of metal ions. In this paper, the ESM was applied to separate and enrich Pb(II) from a water sample under a pH of 6. The trace lead eluted by 5 mL 3% HNO₃ was determined by using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS). Important parameters, such as the sample pH, sample flow rate, concentration and volume of eluent, and interference of coexisting ions were comprehensively studied and optimized. Under the optimized conditions, an enrichment factor of 30 was obtained. The method detection limit for lead was 0.017 ng/mL (3 σ) and the relative standard deviation (RSD, $n=11$) was 3.45%. The recoveries of lead in the spiked environmental water samples ranged from 96.0% to 104.2%. The proposed method was applied to the determination of trace lead in environmental and drinking water samples with satisfactory results, which demonstrates that the ESM method can be a simple, low-cost, environmentally-friendly SPE adsorbent for lead pretreatment and enrichment from real water samples.

Key words: water sample; lead; chicken eggshell membrane; solid phase extraction; Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

收稿日期: 2012-04-25; 接受日期: 2012-05-03

基金项目: 湖北省自然科学基金重点项目(2008CDA100)

作者简介: 刘金, 硕士研究生, 从事微量元素分析。E-mail: 2006liujin1@sina.com。

通讯作者: 程先忠, 教授, 从事分析化学研究。E-mail: xzcheng@whpu.edu.cn。

随着工业化的发展,汽车尾气和各种工矿废物的不断排放,导致土壤和水源中重金属元素含量增加。铅是有害元素之一,它对人体蛋白质上的巯基有高度的亲和力,产生生化作用使蛋白质变性。人长期摄入少量铅,会引起慢性中毒,如贫血症、神经机能失调和胃伤害等,对儿童还会造成大脑的损伤^[1]。世界卫生组织规定生活饮用水中铅的限量为低于 10 ng/mL^[2],我国制订的标准为 50 ng/mL^[3],因此对水体中微量铅的监控和测定显得非常重要。

目前国内外测定微量铅的方法有原子吸收光谱(AAS)^[4-5]、原子荧光光谱(AFS)^[6]、电感耦合等离子体发射光谱(ICP-AES)^[7-8]和质谱(ICP-MS)^[9-10]等。用上述仪器直接对样品中铅进行测定会受到以下因素的制约:①对于复杂样品,往往要受到基体杂质的影响;②对于微量或痕量铅的测定,会受到仪器灵敏度的限制。为了保证测定结果的准确度,通常在样品测定之前需要分离富集预处理。固相萃取法具有无污染、富集倍数高、解吸速度快等特点,已作为一种首推的分离方法得到广泛应用^[11]。文献相继报道了硫磺^[12]、碳纳米管^[13]、磁性纳米材料^[14]、石墨烯^[15]、离子印迹聚合物^[16-18]等材料在固相萃取分离中的应用。这些材料有的比较昂贵,如碳纳米管、石墨烯;有些需要通过化学方法合成,如磁性纳米材料和离子印迹材料,会增加对环境的污染。近几年来,寻找价廉、不污染环境的固相萃取材料已引起科技工作者的关注。生物鸡蛋膜(ESM)是一种人们日常生活的副产品,容易获得,是无毒可降解的天然聚合物^[19]。盛绍基等^[20-21]报道了蛋膜片在野外快速富集痕量金-微珠比色法测定岩石矿物中金的应用。Zhang等^[22]和Zou等^[23]采用蛋膜固相萃取分离水中的微量砷和铬,分别用原子荧光光谱和石墨炉原子吸收光谱(GFAAS)进行测定,显著提高了方法的灵敏度,消除了干扰元素的影响。本文研究小组探讨了在强酸性介质中,用蛋膜微柱吸附金和银,实现了ICP-MS法和GFAAS法测定岩石矿物中的微量金和银^[24-25],方法灵敏度金为0.92 ng/mL,银为0.027 μg/mL。基于已有的研究成果,本文利用生物鸡蛋膜作为固相萃取吸附材料分离富集环境水样,建立了一种GFAAS测定水样中微量铅的方法。

1 实验部分

1.1 仪器和主要试剂

TAS-990 原子吸收分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);奥利龙 Model 868 pH 计(美国奥立

龙仪器有限公司)。

铅(II)标准溶液:1 mg/mL(原国家标准物质研究中心研制)。

铅标准工作溶液,吸取1 mg/mL 铅(II)标准溶液,用1%(体积分数,下同)的HNO₃逐级稀释,配制至1 μg/mL和100 ng/mL。

NaOH、HCl、HNO₃等均为优级纯试剂;实验室用水为双重蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 蛋膜的制备

从学生食堂收集鸡蛋壳,用自来水洗净外表面污渍,然后将蛋壳浸泡于10%的醋酸3 h,去除蛋壳。收集分离的蛋膜,用自来水冲洗,并用蒸馏水洗涤3~5次,在50℃烘箱中烘干、研磨至2 mm 粒度,将制备好的蛋膜贮存于棕色小瓶中,于暗处保存,备用。

1.2.2 吸附实验

称取100~200 mg 蛋膜粉,装入聚乙烯锥形管交换柱中(用300 μL 移液管枪头制成),锥形管的上下两端塞有少量脱脂棉,以防止蛋膜粉流失,并连接在短颈漏斗下端。使用前先用0.8 mol/L HNO₃处理蛋膜,并用蒸馏水洗至中性,然后用相对应的交换介质溶液平衡交换柱,备用。

移取1 mL的100 ng/mL 铅(II)标准工作溶液于50 mL小烧杯中,加入50 mL去离子水,用10 g/L NaOH溶液和1%的HNO₃调节pH至6.0,控制好一定的流速倒入上面平衡好的交换柱中,交换完毕用5 mL 3%的HNO₃洗脱吸附的铅,然后用GFASS法进行测定。仪器工作条件为:波长283.3 nm,灯电流5.0 mA,光谱带宽1.4 nm。石墨炉加热程序列于表1。交换柱经稀HNO₃及蒸馏水再生后,可以重复利用。

表1 石墨炉原子化升温程序

Table 1 The temperature program of graphite furnace atomizer

程序	工作条件	程序	工作条件
干燥温度 (保持时间)	80~140℃ (40 s)	原子化温度 (保持时间)	2000℃ (4 s)
灰化温度 (保持时间)	800℃ (20 s)	净化温度 (保持时间)	2400℃ (4 s)

2 结果与讨论

2.1 蛋膜的结构和物理化学性能

实验中将蛋膜粉碎至-2 mm,通过电子扫描电镜(SEM)观察到蛋膜是由纤维状蛋白构成的复杂网状结构。如图1所示,纤维管的直径为2~5 μm,比表面积为1.294 m²/g,孔体积为0.0063 cm³/g。

蛋膜的网状结构具有很好的透气性和吸附性质,有利于目标吸附物与蛋膜的物质进行交换^[26]。另外蛋膜中的蛋白质主要是角蛋白和多糖类相结合的复合蛋白质,在其纤维上存在着许多羟基(—OH)、氨基(—NH₂)、羰基(—C=O)、酰胺(—CO—NH₂)等基团,这些基团在不同的pH值条件下可以带上正电荷或负电荷,会与Pb(II)发生静电吸附作用,而对金属离子产生吸附作用;或者按软硬酸碱理论,蛋膜上的基团与金属离子发生化学吸附作用^[27]。由蛋膜的红外光谱图(图2)可以观察到蛋膜上不同基团的振动,3441 cm⁻¹左右的宽峰是羟基—OH与氨基N—H的伸缩振动吸收峰重叠形成的多重吸收峰,2962 cm⁻¹是蛋膜的甲基以及次甲基的C—H伸缩振动峰,1632 cm⁻¹是由蛋膜的酰胺I(C=O)和酰胺II(N—H)的变形振动峰。

2.2 交换介质的影响

蛋膜上的官能团受溶液pH的影响,在微酸性或碱性条件下,会发生质子的离解,而带负电荷与正电荷的金属离子相结合。因此,选择合适的溶液介质对Pb(II)在蛋膜上的吸附有重要影响。实验中按照吸附实验方法进行操作,考察了在pH为1~8的溶液中蛋膜对Pb(II)回收率的影响。结果如图3所示,当溶液介质的pH为5.5~6.5时,Pb(II)的回收率在96%以上。因此实验选用pH=6的溶液作为交换介质。

2.3 样品流速的影响

溶液流速影响Pb(II)与蛋膜的吸附交换,从而影响回收率。本实验考察了溶液流速在0.5~5.0 mL/min范围内,不同流速对Pb(II)回收率的影响。如图4所示,当流速在0.5~2.0 mL/min时,Pb(II)的回收率均在97%以上;而流速大于2 mL/min时,Pb(II)回收率随着流速的增加而降低。因此本实验选择样品溶液的流速为2.0 mL/min。

2.4 洗脱剂浓度的选择

按上述实验方法,在pH=6,流速为2 mL/min时,考察了1%~6%的HNO₃洗脱Pb(II)的影响。结果表明,在流速一定的情况下,5 mL 1%~6%的HNO₃能够完全将蛋膜上的Pb(II)洗脱下来。结合仪器测定时使用的酸度,实验选择5 mL 3%的HNO₃作为洗脱剂。因为测定介质酸度低,有利于原子吸收光谱仪的保护,防止仪器受到腐蚀。

2.5 蛋膜用量的选择

分别称取80~180 mg鸡蛋膜填充在交换柱中,移取1 mL的1 μg/mL Pb(II)标准溶液于50 mL小烧杯中,加入50 mL去离子水,用10 g/L NaOH溶液

或1%的HNO₃调节pH至6,先用pH=6的介质溶液平衡交换柱,然后进行交换。交换完毕用5 mL 3%的HNO₃洗脱吸附的铅,再用GFAAS测定。由图5可知蛋膜用量为150 mg时铅的回收率最佳。

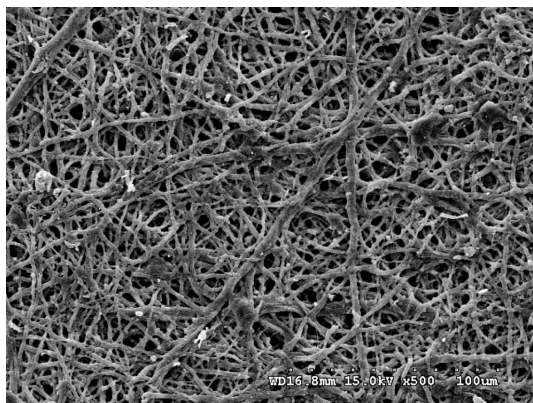


图1 蛋膜的扫描电镜图
Fig. 1 SEM image of the eggshell membrane

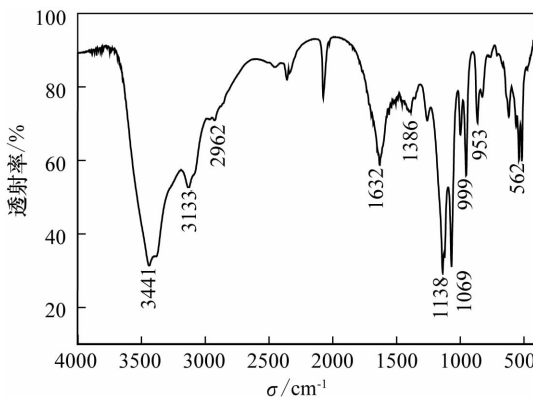


图2 蛋膜的红外光谱
Fig. 2 Infrared spectrum of the eggshell membrane

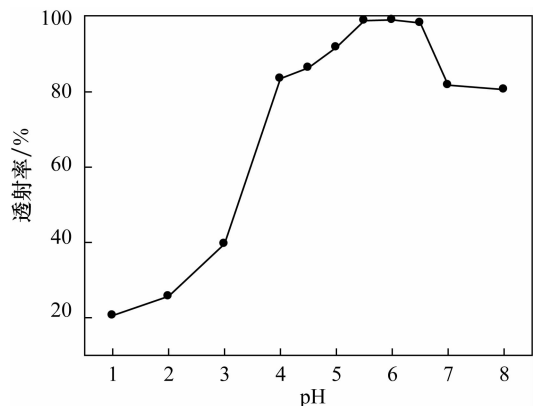


图3 溶液的pH值对Pb回收率的影响
Fig. 3 Effect of pH on the recovery of Pb with eggshell membrane

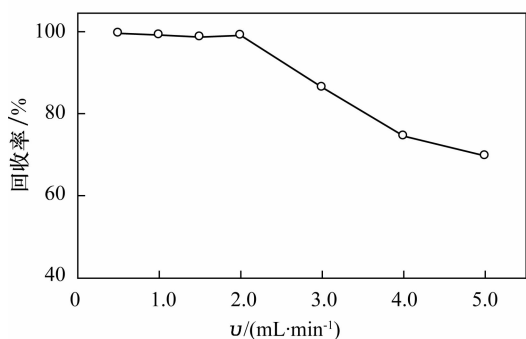


图4 样品流速的影响

Fig. 4 Effect of sample flow rate on the recovery of Pb with eggshell membrane

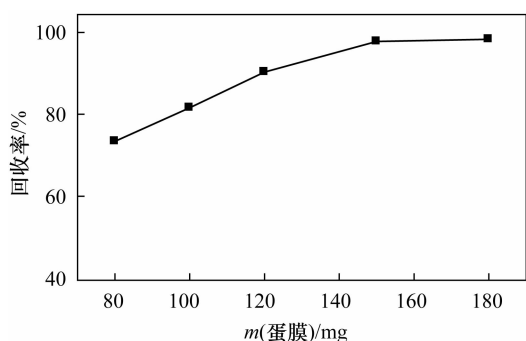


图5 蛋膜用量的影响

Fig. 5 Effect of the amount of ESM on the recovery of Pb

2.6 试样体积的影响

在 pH = 6 的介质溶液中,加入 1 mL 100 ng/mL 的 Pb(II) 标准溶液,调节溶液体积为 50、75、100、125、150、200 mL,进行吸附试验。实验发现溶液体积小于 150 mL 时,Pb(II) 可以被定量吸附;体积增大,吸附率有所下降。根据最大吸附体积为 150 mL,洗脱体积为 5 mL,计算本方法的富集倍数为 30 倍。

2.7 共存离子的影响

在优化的实验条件下,研究了几种常见金属离子对吸附性能的影响。按照上述实验方法,将不同量的金属离子和阴离子加入到 20 mL 5 ng/mL 的 Pb(II) 标准溶液中,按照实验方法进行分离富集,洗脱后用 GFAAS 进行测定,在误差不大于 5% 的情况下,各种离子的最大允许量为 K⁺、Na⁺ (5000 倍,下同);Ca²⁺、Mg²⁺ (1500);Fe³⁺、Al³⁺ (300);SO₄²⁻、NO₃⁻ (2000);Cl⁻ (1000);Co²⁺ (100);Cu²⁺、Zn²⁺、Ni²⁺ (50)。从以上结果可以看出碱金属、碱土金属元素和常见的阴离子基本上不影响铅的分离和富集。过渡金属元素允许量为 50 ~ 100 倍。可见,本法具有较强的抗干扰能力。

2.8 柱子使用次数

为了考察蛋膜的稳定性和再生能力,将微柱进行反复吸附和洗脱。结果表明,用 20 mL 1 mol/L HNO₃ 进行再生,并用蒸馏水洗至中性,吸附脱附循环使用 10 次以后(更高次数未做),Pb(II) 的回收率没有明显降低。

2.9 方法检出限和精密度

取 11 份含铅 5 ng/mL 的样品溶液,在优化的条件下,按照上述实验方法进行分析,得到该方法的相对标准偏差为 3.45%,具有较好的精密度,能用于溶液中 Pb(II) 的测定。根据国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)的规定,经过蛋膜交换柱富集后,本法对铅的检出限(3 σ)为 0.017 ng/mL。

3 水样分析

采集长江的流水、武汉东湖水和自来水,贮藏于塑料瓶中,加入 1% 的 HNO₃ 酸化,如有沉淀或不溶物用 45 μ m 微膜进行过滤,水样保存于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中。按标准加入法吸取 Pb(II) 标准溶液按实验步骤进行分离富集,洗脱后用 GFAAS 进行测定,结果列于表 2。水中的铅含量很低,符合水质标准。

表 2 水样中铅的测定

Table 2 Determination of Pb in environment water samples

样品	$\rho(\text{Pb})/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$		回收率 R/%
	标准加入量	测定值	
长江水	0	4.31 \pm 0.25	-
	5.0	9.52 \pm 0.38	104.2
	10.0	14.27 \pm 0.29	99.6
东湖水	0	2.17	-
	1.0	3.20 \pm 0.18	103.0
	2.0	4.15 \pm 0.07	99.0
自来水	0	0.83	-
	0.5	1.31 \pm 0.032	96.0
	1.0	1.85 \pm 0.017	102.0

注:测定值为(平均值 \pm 标准偏差),测定次数 $n=3$ 。

4 结语

本文采用鸡蛋膜固相萃取-石墨炉原子吸收光谱法测定水样中的微量铅,方法检出限低,准确灵敏可靠。用蛋膜作吸附材料,富集倍数可达 30 倍,能有效富集水中纳克级的铅,并能与绝大多数共存元素分离,可以有效地排除干扰,确保方法的准确性;与其他固相萃取法相比,吸附柱无需复杂的制备过程或昂贵的材料,具有简单易得、环保、价廉的特点。方法准确,灵敏度可靠,可以满足水样中微量铅的定量分析要求。

5 参考文献

- [1] Arora M, Kiran B, Rani S, Rani A, Kaur B, Mittal N. Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources[J]. *Food Chemistry*, 2008, 111(4): 811–815.
- [2] World Health Organization. Guidelines for Drinking-Water Quality (Fourth Edition) [M]. 2011.
- [3] GB 5749—2006, 生活饮用水卫生标准[S].
- [4] Liu X J, Fan Z F. Determination of trace Pb in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after single-drop microextraction [J]. *Atomic Spectroscopy*, 2007, 28(6): 215–219.
- [5] 杨小丽, 王迪民, 汤志勇. 石墨炉原子吸收光谱法测定磷矿石中微量铅和铬[J]. 岩矿测试, 2010, 29(1): 51–54.
- [6] 赵延庆. 微型氢化物发生-原子荧光光度法测定调味品中痕量铅[J]. 岩矿测试, 2008, 27(4): 319–320.
- [7] 黎香荣, 韦万兴, 崔翔, 罗明贵, 陈永欣, 马丽方. 电感耦合等离子体发射光谱法测定磷矿石中微量有毒元素铅砷镉[J]. 岩矿测试, 2009, 28(4): 370–372.
- [8] 王小强, 侯晓磊, 杨惠玲. 电感耦合等离子体发射光谱法同时测定铅锌矿中银铜铅锌[J]. 岩矿测试, 2011, 30(5): 576–579.
- [9] 李湘, 余晶晶, 李冰, 呼世斌, 曹心德, 戴家银. 电感耦合等离子体质谱法测定染铅猪仔的血铅、尿铅含量[J]. 分析实验室, 2011, 30(8): 88–91.
- [10] Lam J C, Chan K K, Yip Y C, Tong W F, Sin D W. Accurate determination of lead in Chinese herbs using isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry (ID-ICP-MS) [J]. *Food Chemistry*, 2010, 121(2): 552–560.
- [11] Poole F C. New trends in solid-phase extraction [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2003, 22(6): 362–373.
- [12] Parham H, Pourreza N, Rahbar N. Solid phase extraction of lead and cadmium using solid sulfur as a new metal extractor prior to determination by flame atomic absorption spectrometry [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 163(2–3): 588–592.
- [13] Tuzen M, Saygi K O, Soylak M. Solid phase extraction of heavy metal ions in environmental samples on multiwalled carbon nanotubes [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 152(2): 632–639.
- [14] Jiang H M, Yan Z P, Zhao Y, Hu X, Lian H Z. Zincon-immobilized silica-coated magnetic Fe₃O₄ nanoparticles for solid-phase extraction and determination of trace lead in natural and drinking waters by graphite furnace atomic absorption spectrometry [J]. *Talanta*, 2012, 94: 251–256.
- [15] Wang Y K, Gao S T, Zang X H, Li J C, Ma J J. Graphene-based solid-phase extraction combined with flame atomic absorption spectrometry for a sensitive determination of trace amounts of lead in environmental water and vegetable samples [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 716: 112–118.
- [16] Zhu L Y, Zhu Z L, Zhang R H, Hong J, Qiu Y L. Synthesis and adsorption performance of lead ion-imprinted micro-beads with combination of two functional monomers [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, 23(12): 1955–1961.
- [17] Khajeh M, Heidari Z S, Sanchooli E. Synthesis, characterization and removal of lead from water samples using lead-ion imprinted polymer [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2011, 166(3): 1158–1163.
- [18] Esen C, Andac M, Bereli N, Say R, Henden E, Denizli A. Highly selective ion-imprinted particles for solid-phase extraction of Pb²⁺ ions [J]. *Materials Science and Engineering C*, 2009, 29(8): 2464–2470.
- [19] Torres F G, Troncoso O P, Piaggio F, Hijar A. Structure-property relationships of a biopolymer network: The eggshell membrane [J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, 65(6): 3687–3693.
- [20] 盛绍基, 戚文玲, 杨祥, 熊立新, 靳兰兰, 查晓峰. 野外现场多元素快速分析方法的研究和应用 I. 分析技术及金的测定[J]. 岩矿测试, 2002, 21(2): 81–92.
- [21] 盛绍基, 戚文玲, 李品光, 周校鹏. 痕量金的微珠析出比色法[J]. 分析化学, 1988, 16(2): 153–155.
- [22] Zhang Y J, Wang W D, Li L, Huang Y M, Cao J. Eggshell membrane-based solid-phase extraction combined with hydride generation atomic fluorescence spectrometry for trace arsenic(V) in environmental water samples [J]. *Talanta*, 2010, 80(5): 1907–1912.
- [23] Zou A M, Chen X W, Chen M L, Wang J H. Sequential injection reductive bio-sorption of Cr(VI) on the surface of egg-shell membrane and chromium speciation with detection by electrothermal atomic absorption spectrometry [J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2008, 23(5): 412–415.
- [24] Cheng X Z, Liu J, Yang X L, Chen H M, Wang Y R. Eggshell membrane microcolumn solid-phase extraction and determination of trace gold in geological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Atomic Spectroscopy*, 2011, 30(6): 175–181.
- [25] Cheng X Z, Shao K, Shen S Y, Hu S H, Qiu H O. Determination of trace silver in polymetallic ore samples by flame atomic absorption spectrometry after solid-phase extraction using a microcolumn comprising eggshell membrane [J]. *Geostandards and Geoanalytical Research*, 2011, 35(4): 461–469.
- [26] Tsai W T, Yang J M, Lai C W, Cheng Y H, Lin C C, Yeh C W. Characterization and adsorption properties of eggshells and eggshell membrane [J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97(3): 488–493.
- [27] Pearson R G. Hard and soft acids and bases [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1963, 85(22): 3533–3539.