

海藻中砷含量的研究 I. 银盐分光光度法*

孙 颀 韩丽君 姜清香

(中国科学院海洋研究所)

我国的海藻资源异常丰富,种类多,分布广。海藻中含有多种营养物质,包括海藻多糖、多酚、活性碘、多种维生素、氨基酸等;同时也含有一定数量的重金属元素,其中砷元素与人类健康和生命活动有着至为密切的关系,是毒性金属研究的代表性物质。海藻中砷的含量、分布和形态直接关系到各种海藻的利用价值和方法。

我国国内对海藻中砷的研究较少,而国际上自本世纪初就开始了此项研究。1919年, Cornec 首次对海藻灰分进行定性的光谱分析,发现其中含有砷(Cornec, 1919)。以后的大量文献对海藻中的砷及其测定方法进行了较为详细的研究报道,目前研究人员普遍认为,海藻中的砷以有机态和无机态并存,其中有机砷化合物占绝大多数,毒性较小(Whyte *et al.*, 1983; Edmonds *et al.*, 1993; Phillips *et al.*, 1985)。目前国际上测定海藻中砷的方法主要有中子活化法(Lunde, 1973)、原子吸收分光光度法(AAS)(Maher, 1982, 1983; Yasui *et al.*, 1978)、感应耦合等离子体-原子发射分光光度法联用(ICP-AES)(Shinagawa *et al.*, 1983)等,这些方法不仅需要大型仪器,而且样品的前处理过程比较复杂,操作亦难以掌握。

作者应用比较简便、灵敏的银盐分光光度法,使用国产仪器,以海带、鼠尾藻等样品进行实验研究,结果表明,本法非常适合于海藻中砷的测定,具有较高的实用价值。

一、材料和方法

(一) 样品的采集和前处理

实验所用的新鲜海藻于1996年3至8月采集。海带采集于青岛的湖岛,鼠尾藻(马尾藻属的一种)逐月采于青岛太平角。所采样品用于净海水洗二至三遍,除去杂质及附生物,用吸水纸吸干水分,然后取样,海带在不同部位取样,鼠尾藻取整株样品。取样后加约100 mL的蒸馏水用组织捣碎机匀浆约2 min,密封,于冰箱中备用。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第2945号。

收稿日期:1996年10月7日。

(二) 海藻中砷的测定

1. 原理

(1) 总砷的测定:样品经酸法消化后,其中的有机砷转化为无机砷,再以碘化钾、氯化亚锡将五价砷还原为三价砷,然后与锌粒和酸产生的新生态氢生成砷化氢,经银盐(Silver diethyldithiocarbamate-pyridine,二乙基二硫代氨基甲酸银,作为砷的显色剂)溶液吸收后形成红色胶态物,与标准系列比较定量。

(2) 无机砷的测定:样品经酸浸泡提取,其中的游离五价砷经碘化钾还原为三价砷,与样品中原有的三价砷一起,在浓度在 8mol/L 以上的酸性介质中被乙酸丁酯所萃取,再将乙酸丁酯中的三价砷反萃取于水中,用银盐分光光度法测定其含量。

(3) 有机砷的测定:利用差减法,有机砷=总砷-无机砷。

2. 试剂

(1) 7mol/L 盐酸:量取 292mL 盐酸,加水稀释至 500mL。

(2) 9mol/L 盐酸:量取 375mL 盐酸,加水稀释至 500mL。

(3) 硝酸-高氯酸混合液(4:1):量取 80mL 硝酸,加 20mL 高氯酸,混匀。

(4) 15%碘化钾溶液:贮存于棕色瓶中。

(5) 50%碘化钾溶液:贮存于棕色瓶中。

(6) 乙酸丁酯。

(7) 酸性氯化亚锡溶液:称取 40g 氯化亚锡($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)加盐酸溶解,并稀释至 100mL,加入数颗金属锡粒。

(8) 10%乙酸铅溶液。

(9) 乙酸铅棉花:用 10%乙酸铅溶液浸透脱脂棉后,压除多余溶液,并使疏松,放入干燥箱中,经 80℃干燥后贮存于玻璃瓶中。

(10) 无砷锌粒。

(11) 20%氢氧化钠溶液。

(12) 10%硫酸:量取 5.7mL 硫酸加于 80mL 水中,冷后再加水稀释至 100mL。

(13) 二乙基二硫代氨基甲酸银-三乙醇胺-三氯甲烷溶液:称取 0.25g 二乙基二硫代氨基甲酸银 $[(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NCS}_2\text{Ag}]$ 置于乳钵中,加少量三氯甲烷研磨,移入 100mL 量筒中,加入 1.8mL 三乙醇胺,再用三氯甲烷分次洗涤乳钵,洗液一并移入量筒中,再用三氯甲烷稀释至 100mL,放置过夜。滤入棕色瓶中贮存。

(14) 砷标准溶液:精密称取 0.1320g 在干燥器中干燥过的三氧化二砷(As_2O_3),加 5mL 20%氢氧化钠溶液,溶解后加 25mL 10%硫酸,移入 1000mL 容量瓶中,加新煮沸冷却的水稀释至刻度,贮存于棕色玻塞瓶中。此溶液每毫升相当于 0.1mg 砷。

(15) 砷标准使用液:吸取 1.0mL 砷标准溶液,置于 100mL 容量瓶中,加 1mL 10%硫酸,加水稀释至刻度,此溶液每毫升相当于 1μg 砷。

3. 仪器

(1) 721 型分光光度计。

(2) 抽滤装置:真空泵、抽滤瓶、砂芯漏斗。

(3) 测砷装置:见图 1。

a. 100mL 锥形瓶:管口为 19 号标准口。

b. 导气管:管口为 19 号标准口,与锥形瓶密合时不应漏气。管的另一端管径为 1.0mm。

c. 吸收管:10mL 刻度离心管,作吸收用。

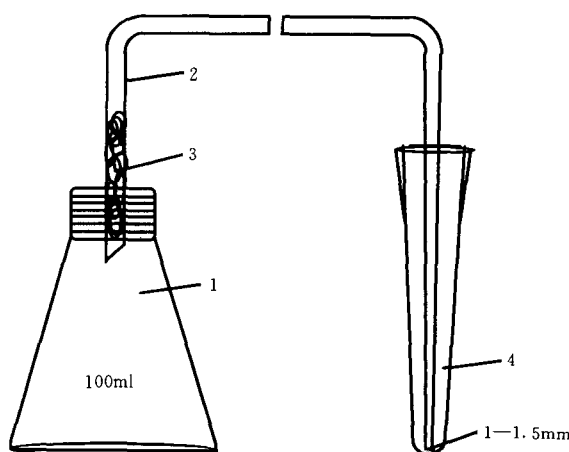


图 1 测砷装置

1. 100mL 锥形瓶; 2. 导气管; 3. 乙酸铅棉花; 4. 10mL 刻度离心管

4. 操作方法

(1) 标准曲线的绘制:吸取 0.0、2.0、6.0、10.0、14.0、18.0、22.0、26.0mL 砷标准使用液(相当于 0、2、6、10、14、18、22、26 μ g 砷),分别置于 100mL 锥形瓶中,加水至 40mL,再加 10mL 1:1 硫酸。

于瓶中各加 3mL 15% 碘化钾溶液、0.5mL 酸性氯化亚锡溶液,混匀,静置 15min。各加入 3g 锌粒,立即分别塞上装有乙酸铅棉花的导气管,并使管尖端插入盛有 4mL 银盐溶液的离心管中的液面下,在常温下反应 45min 后取下离心管,加三氯甲烷补足 4mL。用 1cm 比色杯,以零管调节零点,于波长 520nm 处测吸光度,绘制标准曲线比较。

(2) 总砷的测定:取 10g 鲜重样品材料,置于 250mL 定氮瓶中,加数粒玻璃珠(防暴沸)、15—25mL 硝酸-高氯酸混合液,放置片刻,小火缓缓加热,待作用缓和,放冷。沿瓶壁加入 10mL 硫酸,再加热,至瓶中液体开始变成棕色时,不断沿瓶壁滴加硝酸-高氯酸混合液至有机质分解完全。加大火力,至产生白烟,溶液应澄明无色或微带黄色,放冷。在操作过程中应注意防止爆炸。

加 20mL 水煮沸,除去残余的硝酸至产生白烟为止,如此处理两次,放冷。将冷后的溶液移入 100mL 容量瓶中,用水洗涤定氮瓶,洗液并入容量瓶中,放冷,加水至刻度,摇匀。定容后的溶液每 10mL 相当于 1g 样品,相当于加入硫酸量 1mL。

取与消化样品相同量的硝酸-高氯酸混合液和硫酸,按同一方法做试剂空白试验。

吸取一定量的消化后的定容溶液(视样品含砷量大小而定)及同量的试剂空白液,分

别置于 100mL 锥形瓶中,补加硫酸至总量为 5mL,加水至 50mL。按标准试验测定。

(3) 无机砷的测定:取 10g 鲜重样品材料,置于 50mL 烧杯中,加 1mL 50% 碘化钾溶液和 25mL 7mol/L 盐酸,轻轻摇匀浸泡,室温下放置 4h。将样品溶液经砂芯漏斗抽滤,用 5mL 7mol/L 盐酸洗涤锥形瓶和滤器,于样品溶液中加入 2mL 硫酸,提高酸度至近 9mol/L。

将上述样品溶液移入 250mL 分液漏斗中,加 30mL 乙酸丁酯,轻轻摇动 120 次,静置分层,分出盐酸于另一分液漏斗中,加 30mL 乙酸丁酯第二次萃取。合并乙酸丁酯萃取液,加 15mL 9mol/L 盐酸,摇动洗涤乙酸丁酯,静置分层,分出盐酸。在乙酸丁酯提取液中加入 20mL 水,摇动 120 次,静置分层,分出水溶液于 100mL 容量瓶中,再用 20mL,10mL 水重复萃取二次,合并三次水溶液,定容至 100mL。定容后的溶液每 10mL 相当于 1g 样品。

取与制备溶液、分离所用相同量的 7mol/L 盐酸、水、乙酸丁酯,按同一方法做试剂空白试验。

吸取一定量的定容溶液及同量的试剂空白液,分别置于 100mL 锥形瓶中,补加 5mL 硫酸,加水至 50mL。按标准试验测定。

5. 计算

海藻样品中砷含量的计算,可按公式:

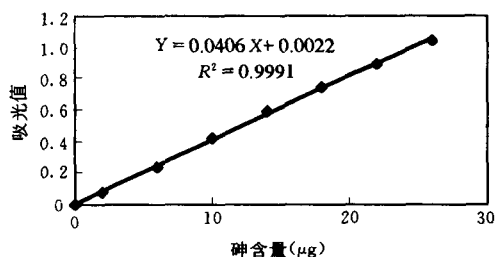
$$X = \frac{(A_1 - A_2) \times 1000}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 1000}$$

式中 X 为样品中砷的含量($\times 10^{-6}$, 鲜重); A_1 为测定用样品定容液中砷的含量

(μg); A_2 为试剂空白液中砷的含量(μg); 图 2 银盐分光光度法测定砷含量的标准曲线(20℃)

m 为样品总质量(g); V_1 为样品定容液的

总体积(mL); V_2 为测定用样品定容液的体积(mL)。



二、结果与讨论

1. 标准试验

数据见表 1,以吸光值对砷量作出标准曲线见图 2。线性相关系数 $R^2=0.9991$,结果稳定。

表 1 标准曲线数据(20℃)

砷量(μg)	0.0	2.0	6.0	10.0	14.0	18.0	22.0	26.0
吸光值	0.000	0.084	0.240	0.408	0.568	0.735	0.892	1.044

2. 银盐分光光度法精密度测定

取 20mL 砷标准使用液(相当于 20 μg 砷),按标准试验进行测定,6 次测得砷的含量,计算所得精密度值见表 2。标准差为 0.088。

表 2 银盐分光光度法精密度值

次 数	测 得 值	误 差
1	19.973	0.009
2	19.890	-0.074
3	20.040	0.076
4	20.076	0.112
5	19.844	0.120
6	19.962	-0.002
平均值=19.964		标准差(S. D.)=0.088

3. 银盐分光光度法回收率测定

取 10、20、30、……100mL 砷标准使用液(相当于 10、20、30、……100 μ g 砷)各两份,分别按“总砷的测定”和“无机砷的测定”方法进行消化和浸泡、提取,按标准试验测定砷含量,计算的回收率见表 3。回收率平均值均 $>99\%$,标准差分别为 0.012 和 0.030。

表 3 银盐分光光度法回收率值

加入砷量 (μ g)	消化方法		浸泡提取方法	
	测得砷量(μ g)	回收率(%)	测得砷量(μ g)	回收率(%)
10.0	9.788	97.88	9.572	95.72
20.0	19.674	98.37	19.698	98.49
30.0	29.853	99.51	29.283	97.61
40.0	40.130	100.32	41.208	103.02
50.0	49.795	99.59	47.725	95.45
60.0	58.240	97.07	62.712	104.52
70.0	68.270	97.53	71.239	101.77
80.0	79.160	99.95	79.168	98.96
90.0	90.050	100.06	89.622	99.58
100.0	99.840	99.84	97.430	97.43
N=10	平均值=0.9901	S. D. =0.012	平均值=0.9926	S. D. =0.030

4. 海带中砷的总含量和分布

鲜海带分为 1 号、2 号、3 号三条,于 1996 年 5 月 24、30、31 日分别采于青岛湖岛,长度分别为 503、486、230cm。在不同部位取样,如图 3 所示,测定结果见表 4。

表 4 海带不同部位的砷含量

样品部位	海带 1 号总砷含量 ($\times 10^{-6}$, 鲜重)	海带 2 号总砷含量 ($\times 10^{-6}$, 鲜重)	海带 3 号总砷含量 ($\times 10^{-6}$, 鲜重)
外缘 1 号	9.531	11.244	14.548
外缘 2 号	6.399	9.776	11.440
外缘 3 号	5.910	6.289	7.133
外缘 4 号	5.469	5.188	4.123
中部 1 号	9.654	18.340	15.747
中部 2 号	9.348	15.894	12.492
中部 3 号	8.210	12.419	9.482
中部 4 号	7.880	11.000	4.344
尖 部	5.176	4.686	3.291
平均值	7.508	10.537	9.178

从表 4 中可以看出,新鲜海带中砷的分布有一个明显特征,叶中部砷含量高于叶部外缘,并呈一定比例。另外无论是叶中部还是外缘,越靠近根部砷含量越高,而尖部最低。Kumagai and Fukushima(1981)也发现了这种规律,认为海带分生组织中的砷含量更高,说明有些砷化合物也许与分生组织中的新陈代谢有关。

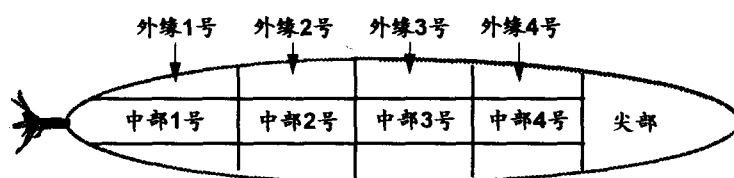


图 3 海带样品的分析位置

5. 鼠尾藻的总砷、无机砷含量及季节变化

在青岛太平角逐月采集整株鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)进行测定,数据见表 5。

表 5 青岛鼠尾藻砷含量的季节变化

采 集 时 间	1996. 3. 13	1996. 4. 4	1996. 5. 16	1996. 6. 20	1996. 7. 21	1996. 8. 15
总砷($\times 10^{-6}$, 鲜重)	1.970	5.029	11.244	16.138	15.159	12.712
无机砷($\times 10^{-6}$, 鲜重)*	0.234	0.696	3.182	4.014	3.599	2.326
无机砷/总砷(%)	11.88	13.84	28.30	24.87	23.74	18.30

* 室温下浸泡 4h。

从表 5 中可看出,季节变化与海藻的生长周期紧密相关,在生长期的最初阶段,正是植物组织形成的时期,砷含量最低,这也与国外文献相吻合(Stoeppler *et al.*, 1986)。

实验结果表明,用银盐分光光度法测定海藻中的砷,比较灵敏、准确、简便,而且干扰

少,不需要大型仪器,因而在海藻化学研究工作中具有较高的实用价值。

参 考 文 献

- Cornec, E., 1919, Spectrographic studies of the ash of marine plants, *Comp. Rend. Acad. Sci. Paris.*, **168**: 513—514.
- Edmonds, J. S. and K. A. Francesconi, 1993, Arsenic in seafoods: human health aspects and regulations, *Mar. Pollut. Bull.*, **26**: 665—674.
- Kumagai, M. and Y. Fukushima, 1981, Distribution of arsenic in the frond of some Konbu, *Laminariaceae algae*, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **47**: 251—254.
- Lunde, G., 1973, Separation and analysis of organic-bound and inorganic arsenic in marine organisms, *J. Sci. Fd. Agr.*, **24**: 1021—1027.
- Maher, W. A., 1982, Determination of total arsenic by use of a Zinc column arsenic generator, *Talanta*, **29**: 532—534.
- Maher, W. A., 1983, Inorganic arsenic in marine organisms, *Mar. Pollut. Bull.*, **14**: 308—310.
- Phillips, D. J. H. and M. H. Depledge, 1985, Metabolic pathways involving arsenic in marine organisms: a unifying hypothesis, *Mar. Environ. Res.*, **17**: 1—12.
- Shinagawa, A., K. Shiomi, H. Yamanaka *et al.*, 1983, Selective determination of inorganic arsenic (Ⅲ), (Ⅴ) and organic arsenic in marine organisms, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **49**: 75—78.
- Stoepler, M. *et al.*, 1986, Arsenic in seawater and brown algae of the Baltic and the North Sea, *Mar. Chem.*, **18**: 321—334.
- Whyte, J. N. C. and J. R. Englar, 1983, Analysis of inorganic and organic-bound arsenic in marine brown algae, *Bot. Mar.*, **26**: 159—164.
- Yasui, A., C. Tsutsumi and S. Toda, 1978, Selective determination of inorganic arsenic (Ⅲ), (Ⅴ), and organic arsenic in biological materials by solvent extraction-atomic absorption spectrophotometry, *Agric. Biol. Chem.*, **42**: 2139—2145.

STUDY ON CONTENTS OF ARSENIC IN SEAWEEDS

I. SILVER SALT SPECTROSCOPY *

Sun Biao, Han Lijun, Lou Qingxiang
(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

Silver salt spectroscopy of seaweeds samples collected from the Qingdao coast from March to August, 1996 showed that mature *Laminaria japonica* contains about 10.0 $\mu\text{g/g}$ fresh weight of total arsenic; that arsenic content varies greatly within the same frond; that at the center tending to be higher than that at the marginal part. At the frond base, arsenic contents are about three times those at the top. This distribution characteristic relates to the plant metabolism. The more active metabolism some parts of seaweed have, the more arsenic they accumulate. Arsenic contents in *Sargassum thunbergii* from the Qingdao coast showed clear temporal variations, lowest at the initial stage, highest at maturity. The inorganic percentage in total arsenic showed similar variations. It proved that arsenic contents in seaweed were closely related to its growth cycle. Silver salt spectroscopy is a simple and accurate method of arsenic analysis. On account of its high sensitivity and recovery, it can be regarded as an effective method for determining arsenic in seaweeds.

* Contribution No. 2945 from Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.