

文章编号: 1674 - 5566(2011)03 - 0462 - 06

柠檬酸和琥珀酸提取牡蛎匀浆液中镉的研究

吴晓萍¹, 廖艳², 章超桦¹, 徐慧¹

(1. 广东海洋大学 食品科技学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东海洋大学 现代生化中心, 广东 湛江 524088)

摘要:以琥珀酸和柠檬酸提取牡蛎匀浆液中的镉, 并利用单因素试验和正交试验优化提取条件。结果表明, 有机酸的 pH 对牡蛎匀浆液中镉的提取率影响最大, 其次是料液比和时间。浓度和温度的影响因有机酸类型不同而有差异。琥珀酸提取镉的最佳条件如下: 时间为 2 h, 温度为 35 ℃, 酸浓度为 0.02 mol/L, 料液比为 1:15, pH 为 2.0; 柠檬酸提取镉的最佳条件如下: 时间为 2 h, 温度为 35 ℃, 酸浓度为 0.04 mol/L, 料液比为 1:15, pH 为 2.5。在最佳条件下两种有机酸对牡蛎匀浆液中镉的提取率达到 90.2% ~ 91.8%。

研究亮点:目前利用有机酸等螯合剂去除土壤、底泥中的重金属等已做了大量研究, 而直接对生物原料进行镉的提取尚未见报道。首次以琥珀酸和柠檬酸为提取剂直接对牡蛎匀浆液进行浸提, 重金属镉的提取率超过 90%, 结果显示此两种有机酸是较为理想的镉提取剂, 为生物原料中镉的去除开辟了新的途径。

关键词:柠檬酸; 琥珀酸; 镉; 提取; 牡蛎
中图分类号: S 912
文献标志码: A

牡蛎 (*Oyster*) 是我国 4 大养殖贝类之一, 具有很高的营养价值, 在我国南北沿海均有养殖^[1-2]。牡蛎作为底栖滤食性贝类, 对生活环境中重金属镉 (Cd) 的富集系数比其它生物要高出几十倍甚至几百倍, 经常被作为研究重金属生物积累模型的指示生物^[3]。很多地区的检测表明牡蛎中的镉含量远远超过了国家卫生标准 0.1 mg/kg (GB15201 - 94)。镉在牡蛎体内积累后, 无法代谢排出, 因此, 牡蛎体内过量的镉严重影响了它的食用安全性和经济价值, 探索有效的去除牡蛎体内镉的方法具有重要意义。在畜牧生产应用中发现, 有机酸特别是柠檬酸具有良好的金属离子配位性, 可与饲料中的矿物元素发生螯合作用, 形成生物效价很高的螯合物而促进吸收^[4-6]; 在环境重金属污染治理方面也发现, 柠檬酸等有机酸在温和条件下对土壤、污泥中的重金属有很好的去除作用^[7-12], 它们具有一个或多个羟基和羧基, 这些具有活性的官能团能够与金属离子发生很强的络合和结合作用, 形成可溶性的金属螯合物, 从而达到活化重金属以利于对其进行

萃取或淋洗脱除的目的。目前利用有机酸等螯合剂对土壤中的重金属进行萃取、淋洗或诱导植物修复以去除土壤、底泥中的重金属^[13-18]等已做了大量研究, 直接对生物原料进行镉的提取鲜见报道。基于前人关于有机酸去除污泥和土壤中的镉的研究, 本文以牡蛎匀浆液为原料, 用琥珀酸和柠檬酸作为提取剂, 考察提取时间、温度、提取剂浓度、料液比和 pH 对镉提取率的影响, 利用正交试验探讨牡蛎匀浆液中镉提取的最佳条件, 进而为生物体内镉的去除提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

2009 年 11 月于湛江东风市场购得活体牡蛎, 捕获于湛江某近海养殖场。壳长 10 ~ 12 cm, 规格为 6 ~ 8 个/kg。去壳取其全脏器作为实验材料。镉标准贮备溶液 GBW08612 (1.0 mg/mL) 购自国家标准物质研究中心。所用试剂除硝酸和高氯酸为优级纯外, 其余均为分析纯; 水为去离子水。

收稿日期: 2010-10-30 修回日期: 2011-03-02

基金项目: 农业部“948”项目 (2006-G42); 广东省科技厅农业攻关项目 (2010B 020313005)

作者简介: 吴晓萍 (1957—), 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为食品质量与安全。E-mail: wuxp@gdou.edu.cn

通讯作者: 章超桦, E-mail: zhangch@gdou.edu.cn

Z-5000 偏振塞曼原子吸收光谱仪由日本日立公司生产;THZ-92C 台式恒温振荡器由上海跃进医疗器械厂生产;TD5 台式离心机由长沙英泰仪器有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 牡蛎匀浆液中镉的提取及测定

将新鲜牡蛎全脏器用去离子水洗净、沥干,以高速组织捣碎机匀浆至糊状,称取匀浆液 10 g 于锥形瓶中,按比例加入一定浓度的有机酸溶液(有机酸溶液 pH 用盐酸或氢氧化钠调节),置于恒温振荡器上振荡浸提一定时间,经 4 000 r/min 离心 10 min,上清液即为镉提取液。

牡蛎总镉及提取液中镉的测定参照 GB-T 5009.15.2003《食品中镉的测定》,样品经硝酸+高氯酸(4+1)湿法消解后,采用石墨炉原子吸收光谱法测定镉的含量。

1.2.2 单因素试验

以牡蛎匀浆液中镉的提取率为考察指标,分别考察柠檬酸和琥珀酸的浓度、用量、pH 及提取温度、时间对其提取率的影响,计算公式为:

$$Y = \frac{C_1}{C_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:Y 为牡蛎匀浆液中镉的提取率(%); C_1 为提取液中镉含量(ng/g); C_0 为原样品中镉含量(ng/g)。

1.2.3 正交试验设计

为了确定柠檬酸和琥珀酸提取贝肉匀浆液中镉的最佳条件,寻找各因素之间的主次关系,根据单因素试验结果,设计五因素四水平正交试验,以镉的提取率为考察指标,确定琥珀酸和柠檬酸提取牡蛎匀浆液中镉的最佳条件。因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平

Tab.1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因 素				
	A 时间/h	B 温度/℃	C 浓度/(mol/L)	D 料液比/(g/mL)	E pH
1	1.5	25	0.02	1:10	2.0
2	2.0	35	0.04	1:15	2.5
3	2.5	40	0.06	1:20	3.0
4	3.0	50	0.08	1:25	3.5

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 有机酸浓度对镉提取率的影响

图 1 为有机酸的浓度对镉提取率的影响,由图中可以看出,在料液比为 1:15、温度为 35℃、提取时间为 1.5 h 条件下,随着有机酸的浓度由 0.01 mol/L 增加到 0.02 mol/L,镉的提取率迅速提高,有机酸的浓度超过 0.02 mol/L 后,镉的提取率增加趋于平缓,这可能是因为此条件下,样品中的镉已基本溶出并参与了有机酸分子结构中羧基的配位作用,继续增大有机酸浓度对镉的提取率影响不再明显,因此,琥珀酸和柠檬酸的最佳浓度为 0.02 mol/L,此时镉的提取率达到或接近于最大。

2.1.2 有机酸用量对镉提取率的影响

图 2 为有机酸用量对镉提取率的影响,从图中可以看出,在温度为 35℃、提取时间为 1.5 h,有机酸(pH 未调节)浓度为 0.02 mol/L 条件下,

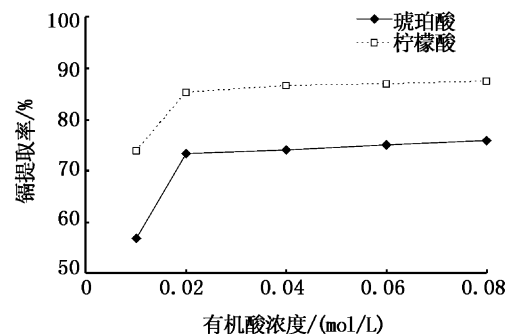


图 1 有机酸的浓度对镉提取率的影响

Fig.1 Effect of organic acids' concentration the extracting yield of Cd in Oyster

料液比从 1:5 增大到 1:15 时,镉的提取率显著提高,而在料液比超过 1:15 后,镉的提取率趋于平缓甚至有下降趋势。从经济角度考虑,料液比以 1:15 为最佳。

2.1.3 有机酸 pH 对镉提取率的影响

图 3 为有机酸 pH 对镉提取率的影响,由图中可以看出,在料液比为 1:15,温度为 35℃,提

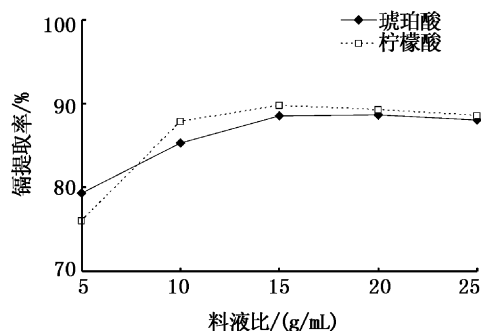


图2 有机酸用量对镉提取率的影响
Fig.2 Effect of organic acid' amount on the extracting yield of Cd in Oyster

取时间为 1.5 h,有机酸浓度为 0.02 mol/L 条件下,琥珀酸对镉的提取率随着 pH 的增加显著降低;柠檬酸 pH 为 2.5 时,镉的提取率出现极值,之后也随着 pH 的增大呈逐渐降低的趋势。这是因为低 pH 时,去除效果主要取决于质子运动,随着 pH 的升高,溶液中的质子数减少,此时,去除效果取决于酸根对重金属的络合能力^[13]。在琥珀酸和柠檬酸 pH 分别为 2 和 2.5 时,对镉的提取效果均较理想,如继续降低 pH,则需消耗更多的酸量,且酸性太强势必会影响贝肉的品质,对其再利用造成限制。

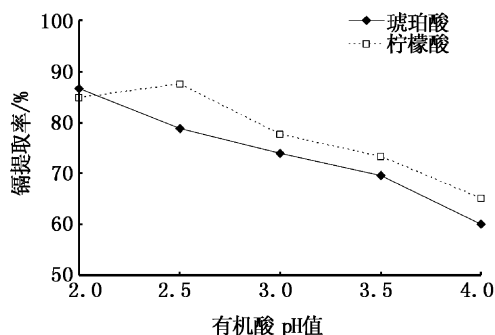


图3 有机酸 pH 对镉提取率的影响
Fig.3 Effect of organic acids' pH on the extracting yield of Cd in Oyster

2.1.4 提取时间对镉提取率的影响

图4为提取时间对镉提取率的影响,由图中可以看出,在料液比为 1:15,温度为 35℃,琥珀酸和柠檬酸的浓度为 0.02 mol/L,pH 分别为 2 和 2.5 条件下,提取时间由 0.5 h 增加到 1.5 h 时,琥珀酸对镉提取率迅速提高,1.5 h 后趋于平缓;同样在 1.5 h 时,柠檬酸对镉的提取率达到最大,而 1.5 h 后随着提取时间的延长而呈明显的下降

趋势。说明两种有机酸与 Cd 结合在 1.5 h 时已达到或接近于最大程度,超过 1.5 h 后可能是因为柠檬酸与镉的结合变得不稳定而使镉的提取率下降。在黄翠红等^[19]利用柠檬酸去除污泥中镉、铅的研究中也显示柠檬酸对镉的去除率随时间增加而降低的现象。

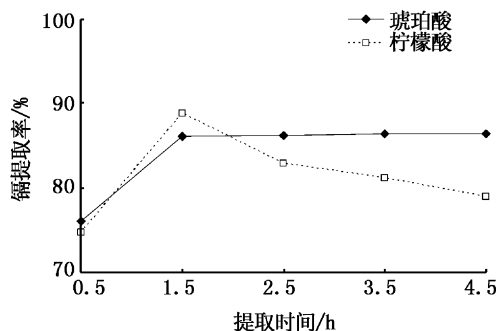


图4 时间对镉提取率的影响
Fig.4 Effect of extracting time on the extracting yield of Cd in Oyster

2.1.5 提取温度对镉提取率的影响

图5为提取温度对镉提取率的影响,由图中可以看出,在料液比为 1:15,琥珀酸和柠檬酸的浓度为 0.02 mol/L,pH 分别为 2 和 2.5,提取时间为 1.5 h 的条件下,当温度达到 35℃时,琥珀酸和柠檬酸对镉的提取率均达到最大,之后随温度的提高提取率大幅降低。说明温度的适当提高可以促进有机酸与镉离子的结合,但是过高时可能反而会对其有抑制作用。因此提取镉的最佳温度为 35℃。

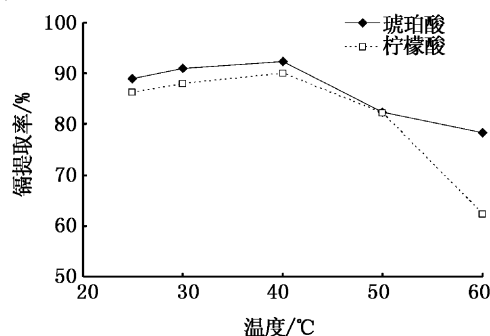


图5 温度对镉提取率的影响
Fig.5 Effect of extracting temperature on the extracting yield of Cd in Oyster

2.2 正交试验结果

根据表1的正交试验方案,进行有机酸提取牡蛎匀浆液中镉的试验,正交试验结果见表2。

在设定的试验条件下,琥珀酸对镉的提取率最高为 89.92%,最低为 72.70%。两种有机酸对牡蛎匀浆液中的镉都有较强的提取能力。

表 2 正交设计及结果

Tab. 2 Orthogonal design and result

试验号	因 素					提取率/%	
	A	B	C	D	E	琥珀酸	柠檬酸
1	1	1	1	1	1	77.72	76.75
2	1	2	2	2	2	87.86	89.92
3	1	3	3	3	3	83.63	73.72
4	1	4	4	4	4	74.86	75.85
5	2	1	2	3	4	70.19	89.17
6	2	2	1	4	3	89.45	84.64
7	2	3	4	1	2	84.88	88.61
8	2	4	3	2	1	89.26	89.62
9	3	1	3	4	2	77.10	86.76
10	3	2	4	3	1	80.95	89.42
11	3	3	1	2	4	72.09	89.03
12	3	4	2	1	3	75.30	72.70
13	4	1	4	2	3	86.05	82.87
14	3	2	3	1	4	62.80	74.65
15	3	3	2	4	1	89.41	89.63
16	3	4	1	3	2	79.74	88.61

2.3 有机酸提取牡蛎匀浆液中镉的最佳条件

根据正交实验结果,比较各列的极差 R 值(表 3),可以看出:以琥珀酸为提取剂时,各因素对镉提取率的影响主次顺序为 pH(E) > 料液比(D) > 时间(A) > 温度(B) > 浓度(C),比较各列的 \bar{K} 值,提取条件的最优组合为 A₂B₂C₄D₂E₁,由于有机酸浓度(C)为最次要因素,所以可采取琥

珀酸浓度为 0.02 mol/L(C₁)以节约成本,即提取条件为 A₂B₂C₁D₂E₁;以柠檬酸为提取剂时,各因素对镉提取率的影响主次顺序为 pH(E) > 料液比(D) > 时间(A) > 浓度(C) > 温度(B),提取条件的最优组合为 A₂B₂C₂D₂E₂,温度(B)为最次要因素,在实际应用中可考虑直接在室温下进行提取。

表 3 正交试验极差分析

Tab. 3 Analysis of orthogonal experiment

有机酸类型		因 素				
		A	B	C	D	E
琥珀酸	\bar{K}_1	81.02	77.77	79.75	75.18	84.34
	\bar{K}_2	83.45	80.27	80.69	83.82	82.40
	\bar{K}_3	76.36	75.85	78.20	78.63	83.61
	\bar{K}_4	79.50	79.79	81.69	82.70	69.99
	R	7.09	4.42	0.95	8.64	14.35
柠檬酸	\bar{K}_1	79.06	83.89	84.76	78.18	86.35
	\bar{K}_2	88.01	84.66	85.36	87.86	88.47
	\bar{K}_3	84.48	81.50	81.19	85.23	78.48
	\bar{K}_4	83.94	81.69	84.19	84.22	82.18
	R	8.95	3.15	4.17	9.68	9.99

按上述确定的最佳提取条件进行 3 次重复验证试验,琥珀酸和柠檬酸对牡蛎匀浆液中镉的

提取率在 90.2% ~ 91.8% 之间,均大于正交试验中镉提取率的最高值,说明该条件稳定、可行。

3 结论

琥珀酸和柠檬酸均可在温和条件下提取牡蛎匀浆液中的镉,且提取效果相当。以琥珀酸为提取剂时,最佳条件为:时间为 2 h,温度为 35 ℃,酸浓度为 0.02 mol/L,料液比为 1:15,pH 为 2.0;以柠檬酸为提取剂时,最佳条件为:时间为 2 h,温度为 35 ℃,酸浓度为 0.04 mol/L,料液比为 1:15,pH 为 2.5。在所设定的因素中,柠檬酸和琥珀酸的 pH 对牡蛎匀浆液中镉的提取率的影响最大,其次是料液比和时间,浓度和温度的影响因有机酸类型不同而有差异。利用有机酸对牡蛎中的镉进行提取后,还需要考虑后续处理步骤,如提取液中重金属的脱除及脱重金属后提取液的再利用等,这部分工作目前正在研究之中。

参考文献:

- [1] 张兰,叶开富,李健,等. 广西近江牡蛎重金属污染状况初探[J]. 大众科技,2008,112(12):100-101.
- [2] 张智翠,薛长湖,李兆杰. 山东沿海牡蛎糖原、游离氨基酸及重金属含量的季节变化[J]. 食品研究与开发,2006,27(5):6-8.
- [3] 戴德渊,张学文,钟丽红,等. 水产养殖的危害源分析[J]. 饲料研究,2004(9):41-45.
- [4] 周兴华,陈建,向泉. 柠檬酸在水产饲料中的应用[J]. 水产科技情报,2002,29(3):141-142.
- [5] 马吉锋,马玉龙. 有机酸在动物生产中的应用研究[J]. 饲料工业,2005,26(10):17-22.
- [6] 冷向军,伦锋,李小勤,等. 柠檬酸对异育银鲫生长及营养物质消化率的影响[J]. 上海水产大学学报,2006,15(2):178-181.
- [7] 李仰锐,徐卫红,刘吉振. 有机酸对土壤中镉形态及其生物有效性影响的研究进展[J]. 广东微量元素科学,2005,12(4):12-16.
- [8] 刘玉荣,党志,尚爱安. 几种萃取剂对土壤中重金属生物有效部分的萃取效果[J]. 土壤与环境,2002,11(3):245-247.
- [9] 曾敏,廖柏寒,曾清如,等. 3种萃取剂对土壤重金属的去除及其对重金属有效性的影响[J]. 农业环境科学,2006,25(4):979-982.
- [10] 张华,朱志良,张丽华,等. 天冬氨酸和柠檬酸对污泥中重金属萃取的比较研究[J]. 环境科学,2008,29(3):733-737.
- [11] 胡浩,潘杰,曾清如,等. 低分子有机酸淋溶对土壤中重金属 Pb、Cd、Cu 和 Zn 的影响[J]. 农业环境科学学报,2008,27(4):1611-1616.
- [12] 黄翠红,孙道华,李清彪. 污泥中重金属的去除及回收试验[J]. 环境污染与防治,2006,28(8):604-607.
- [13] 张敬锁,李花粉,衣纯真. 有机酸对水稻镉吸收的影响[J]. 农业环境保护,1999,18(6):278-280.
- [14] 马伟芳,赵新华,邢永杰,等. 螯合剂对植物修复污染河道疏浚底泥的调控[J]. 中国农学通报,2006,22(11):378-384.
- [15] 孙小峰,吴龙华,骆永明. EDDS 对海州香薷修复重金属复合污染土壤的田间效应[J]. 土壤,2006,38(5):609-613.
- [16] 黄苏珍,原海燕,孙延东,等. 有机酸对黄菖蒲镉铜积累及生理特性的影响[J]. 生态学杂志,2008,27(7):1181-1186.
- [17] BIANCHI V, MASCIANDARO G, GIRALDI D, et al. Enhanced accumulation of Pb in Indian Mustard by soil-applied chelating agents [J]. Environmental Science & Technology, 1997,31(3):860-865.
- [18] VERONICA B, GRAZIA M, DAVID G, et al. Enhanced heavy metal phytoextraction from marine dredged sediments comparing conventional chelating agents (citric acid and EDTA) with humic substances [J]. Water Air and Soil Pollution, 2008(193):323-333.
- [19] 黄翠红,孙道华,李清彪,等. 利用柠檬酸去除污泥中镉、铅的研究[J]. 环境污染与防治,2005,27(1):73-75.

Study on the extraction of cadmium from *Oyster* homogenate by succinic acid and citric acid

WU Xiao-ping¹, LIAO Yan², ZHANG Chao-hua¹, XU Hui¹

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, Guangdong, China; 2. Modern Bio-chemical Laboratory Center, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China)

Abstract: The optimum conditions for the extraction of cadmium from *Oyster* homogenate by succinic acid and citric acid were determined using single factor and orthogonal array design methodology. The results showed that the pH value of organic acid has the maximal effect on extraction rate of cadmium in *Oyster* homogenate, followed by material-liquid ratio and extraction time. The effects of concentration and temperature on extraction rate were found to be slightly dependent on the type of organic acid. The optimal conditions to obtain the highest extraction rate by succinic acid and citric acid were 2 h, 35 °C, pH 3.0, 0.02 mol/L of succinic acid and 1:15 of material to solution, as well as 2 h, 35 °C, pH 2.5, 0.04 mol/L of citric acid and 1:15 of material to liquid, respectively. Under these optimal conditions, extraction rate of cadmium from *Oyster* homogenate by the two organic acids reached up to 90.2% – 91.8%.

Key words: succinic acid; citric acid; cadmium; extraction; *Oyster*