文章编号: 1674-8085(2015)05-0033-04

基于氢化原子荧光法的苹果中 Se 形态分析研究

黄田富,^{*}胡志彪,刘金仙

(龙岩学院化学与材料学院,福建,龙岩 364000)

摘 要:采用连续浸提分离技术,将苹果中的 Se 以水溶态、有机物结合态和残渣态 3 种形态选择性地提取, 并用 HG-AFS 法检测了各形态的硒含量和总硒含量。结果表明:该方法硒的检出限为 0.028 ng/mL,线性范围 为 0~10 ng/mL,精密度为 2.8%,回收率为 94.15%~108.95%;苹果中硒的 3 种形态含量不同,水溶态 > 有机 结合态 > 残渣态,三者的加和略小于总硒含量,误差在 2.6%以内。

关键词:氢化物发生-原子荧光光谱法;连续浸提;Se形态

中图分类号: O613.52 文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2015.05.007

SPECIATION ANALYSIS OF SELENIUM IN APPLE BY HYDRIDE GENERATION-ATOMIC FLUORESCENCE SPECTROMETRY

HUANG Tian-fu, *HU Zhi-biao, LIU Jin-xian

(College of Chemistry and Material Science, Longyan University, Longyan, Fujian 364000, China)

Abstract: Selenium in apple was divided into three fractions: (1) water soluble, (2) organic compound, (3) residual by using sequential extraction separation technology, all the three forms of selenium and total selenium were determined with HG-AFS. The experimental results indicated that detection limit of selenium was 0.028 ng/mL, the linearity range was $0 \sim 10$ ng/mL, the precision was 2.81%, and recovery percent was 94.15 ~ 108.95%. The content of three forms of selenium in apple were different, water soluble > organic compound > residual, and the sum of three was slightly smaller than total selenium, the error was less than 2.6%. **Key words:** HG-AFS; sequential extraction; selenium speciation

硒具有调节维生素 A、C、E 和 K 的吸收与利 用、调节蛋白质的合成、增强生殖功能等许多重要 的生理功能,是肌肉功能的重要成分,还具有抗氧 化、抗癌等作用^[1-3],是人体必需的微量矿物质营养 元素之一。但硒在人体内的安全含量范围较小,缺 硒是导致大骨节病和克山病的病因之一,但摄入量 过多则会中毒^[4-6]。研究表明,Se 在食物链中的迁 移转化规律、生物效应及其毒性不仅取决于其总浓 度,还依赖于其存在的具体化学形态^[7-9]。 人体中的硒来源于食品。苹果富含硒,是人体 硒的重要补充源之一。目前的研究集中在苹果的总 硒含量上,鲜见对其形态分析的报道。本研究以市 售苹果为对象研究,应用连续浸提技术将苹果中的 Se 以水溶态、有机结合态和残渣态3种形态分别提 取,并用氢化物发生-原子荧光光谱法检测各形态 Se 含量和总 Se 含量,为富硒苹果新品种的开发及 苹果汁加工提供安全科学的理论依据。

收稿日期: 2015-06-07; 修改日期: 2015-08-09

基金项目: 福建省教育厅 A 类科技项目(JA12314)

作者简介:黄田富(1978-),男,福建上杭人,讲师,硕士,主要从事重金属离子的检测和功能复合材料的制备及应用(E-mail:httff@126.com); *胡志彪(1972-),男,福建上杭人,教授,博士,主要从事分析检测和电极材料研究(E-mail:zhibiaohu@163.com); 刘金仙(1982-),男,福建仙游人,讲师,博士,主要从事有机化学与药物合成研究(E-mail:flyhflyh@163.com).

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

AFS-9800 全自动四灯位原子荧光光度计(北京 海光仪器有限公司); 硒高强空心阴极灯(北京有 色金属研究总院); 台式离心机(长沙英泰仪器有 限公司); 恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有 限公司); XT-9900A 智能微波消解仪(上海新拓分 析仪器科技公司)。

硝酸、盐酸(GR,国药集团化学试剂有限公司); 双氧水(AR,质量分数30%,国药集团化学试剂 有限公司);硼氢化钾(AR,国药集团化学试剂有 限公司);硒标准溶液(100 mg/L,国家环保总局标 准样品研究所);所用水为二次蒸馏水。

所用器具均在 10%硝酸中浸泡 24 h 后用去离 子水和二次蒸馏水洗净。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备

样品于当地大型超市购买:山东栖霞苹果,标 号为 1#; 澳洲青苹果,标号为 2#。用去离子水 洗净,去芯核,碾碎,于 40 ℃烘箱中干燥,用玛 瑙研钵磨至 200 目,室温干燥贮存备用。

1.2.2 总硒的测定

按照卫生部食品中硒的测定标准方法 (GB/T5009.93-2003),称取苹果样品1#、2# 各 1.00g,分别置于50mL聚四氟乙烯消解罐中,加 入6mLHNO₃,3mL30%H₂O₂,5mL二次蒸馏水, 旋紧密封,浸泡12h,置微波消解仪炉内,按表1 程序消解。

表1 微波消解程序

Table 1 The procedure of microwave digestion					
步骤	温度/℃	压力/MPa	时间/min	功率/w	
1	80	1	10	800	
2	120	2.5	15	800	

冷却,取出,转移至烧杯中,然后加入 5 mL 浓盐酸,煮沸 10 min,使 Se(VI)还原为 Se(IV),冷 却,用少量的二次蒸馏水洗入 50 mL 容量瓶中,加 入 1 mL100g/L 铁氰化钾,定容至 50 mL 待测。同 法同时制备试剂空白溶液。在优化的条件下用氢化 物发生原子荧光光谱法测定样品中硒的总含量。原 子荧光光度计工作条件如表 2 所示。

表 2 「	原子荧光光度计工作条件
-------	-------------

 Table 2
 The working conditions of atomic fluorescence

 spectrophotometer
 spectrophotometer

speed ophotometer				
工作参数	参数值			
负高压/V	340			
灯电流/mA	100			
原子化温度/℃	800			
炉高/mm	8			
载气流速/(mL/min)	500			
屏蔽气流速/(mL/min)	1000			
测量方式	标准曲线法			
读数方式	峰面积			
延迟时间/s	1			
读数时间/s	3			
进样体积/mL	2			

1.2.3 连续浸提分离技术^[8,10]

将苹果中的 Se 相继以水溶态、有机物结合态 和残渣态选择性连续提取,具体过程如下:

(1)水溶态:称取 1.00g苹果样品于 10 mL 离 心管中,加入二次蒸馏水 8 mL,加盖,平放于振荡 器上,室温下连续振荡 2 h,然后以 8000 r/min 转速 离心 30 min,取出上层清液,定容至 10 mL,备测。

(2)有机物结合态:在(1)含有残渣的离心 管中,加入8mL30%H₂O₂,于90℃的恒温水浴中 加热2h,并间歇振荡,然后以8000r/min转速离心 30min,取出上层清液,定容至10mL,备测。

(3)残渣态:取出(2)步骤离心管中的残渣, 烘干,重新研磨。

1.2.4 提取液中 Se 的测定

移取 1.2.3 节中(1) 或(2) 所得提取液 2 mL, 加入 3 mL30%H₂O₂溶液,于沸水浴中加热 30 min, 将低价态 Se 氧化成 Se(VI),同时除去有机质。然后 再加入 2 mL浓盐酸,煮沸 10 min,使 Se(VI)还原 为 Se(IV),冷却后加入 0.5 mL100g/L 铁氰化钾,定 容至 25 mL 待测。在优化的条件下用氢化物发生原 子荧光光谱法测定硒的含量。

1.2.5 残渣中 Se 的测定

以和 1.2.2 总 Se 测定相同的方法测定硒的含量。

2 结果与讨论

2.1 硼氢化钾和盐酸浓度对荧光强度的影响

硼氢化钾作为还原剂和氢气来源, 其浓度的大

小直接影响氢化物生成的速率和氧氢焰的质量。取 一定量4ng/mL标准溶液、5%的盐酸载流液,考察 硼氢化钾浓度对产生荧光强度的影响,结果如图1 所示。



Fig.1 Effect of fluorescence intensity of different concentration of KBH₄

由图1可知,荧光强度随着硼氢化钾的浓度的 增大先增强后下降,质量分数达到2%时,荧光信 号趋于最佳。因此,还原剂硼氢化钾取这一浓度较 为合适。当硼氢化钾浓度低时,由于反应不完全, 产生气态硒化氢的量少,导致荧光强度低。而硼氢 化钾浓度过量时,反应虽完全,但因产生过量的氢 气对硒化氢起着稀释作用,荧光强度反而降低^[11]。

取一定量 4 ng/mL 标准溶液、2%的硼氢化钾溶 液,考察盐酸载流液浓度对产生荧光强度的影响, 结果(如图 2)表明:当盐酸浓度为 5%时,荧光强 度较强,因此,采用 5%的盐酸作为载流液。



Fig.2 Effect of fluorescence intensity of different concentration of HCl

2.2 共存离子的影响

苹果中除了硒外,还存在钙、镁、铜、钾、钠、 碘、锰、锌等其他元素。用连续浸提分离技术,分 离得到硒的水溶态、有机结合态、残渣态中存在微 量钙、镁、铜等其它元素,这些元素会对硒的形态 分析产生影响^[12]。据文献^[13]报道,加入一定量的铁 氰化钾作掩蔽剂可以消除钙、镁、铜、钾、钠、碘、 锰、锌等元素对测硒的干扰。实验结果表明,定容 50 mL 待测样品容量瓶加入 1mL100 g/L 铁氰化钾 时,可以较好地消除钙、镁、铜等其他元素对硒的 测定干扰,且铁氰化钾对硒的荧光强度无影响。

2.3 线性方程、检出限和精密度

根据选定的最优实验条件配制硒标准系列浓 度,0.00、1.00、2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 ng/mL, 硼氢化钾浓度 2%,盐酸浓度 5%。按实验确定的仪 器最佳工作条件,全自动进样进行测定,并用仪器 自带的软件绘制标准曲线。实验结果表明,硒(IV) 在 0~10 ng/mL 范围内,呈良好的线性,线性回归 方程为: $I_f = 251.47c + 78.744$,相关系数 R 为 0.9997,标准偏差(SD)为 2.67%。连续 11 次测量 标准空白溶液的荧光强度,标准偏差为 1.73%,测 得的精密度值用相对标准偏差(RSD%)表示,为 2.8%,仪器检出限 DL 为 0.028 ng/mL。

2.4 测定结果和加标回收率

采用标准曲线法,对苹果样品硒形态进行3次 平行测定,结果见表3。

表 3 苹果样品 Se 形态分析测定结果 Table 3 Selenium speciation in apple

样品	次数	水溶态 (ng/mL)	有机结 合态 (ng/ mL)	残渣态 (ng/ mL)	加和 (ng/ mL)	总硒 (ng/ mL)
1#	1	43.23	37.26	9.26	89.75	91.27
	2	42.26	36.91	9.88	89.05	90.63
	3	42.71	37.03	8.90	88.64	90.92
2#	1	39.08	35.91	6.24	81.23	82.56
	2	39.80	36.12	6.03	81.95	83.05
	3	39.23	35.85	5.86	80.94	82.76

从表 3 可知,不同产地、不同品种苹果,总硒 含量不同,山东栖霞苹果微量元素总硒 3 次测量平 均值为 90.94 ng/ mL,通过换算,微量硒的含量为 约 90.94 ng/g (溶液的密度约为 1 g/cm³),而澳洲青 苹果为 82.79 ng/ mL,通过换算,微量硒的含量为 约 82.79 ng/g,山东栖霞苹果硒含量比澳洲青苹果 高;苹果中硒的水溶态、有机结合态、残渣态三者 的含量不同,水溶态 > 有机结合态 > 残渣态,三 者的加和略小于总硒含量,误差在 2.6%以内。实验 结果表明,采用连续浸提分离技术,能对硒的三种 形态成功分离;氢化物发生-原子荧光光谱法检测各 形态 Se 和总 Se,该方法快速简便、准确和灵敏度 高、重复性好。

在原子荧光分光光度计最佳工作条件下,对山 东栖霞苹果各形态 Se 的测定作加标回收试验,结 果见表 4。

表 4 各形态 Se 的加标回收率 Table 4 Recovery rates of different forms of labeled selenium

Table 4 Recovery faces of different forms of labeled scientam				
形太	测定值	加入量	加标后测定	回收率
16-13	(ng/mL)	(ng/mL)	值(ng/mL)	(%)
水溶态	42.73	20	61.56	94.15
有机结合态	37.07	20	58.86	108.95
残渣态	9.35	10	18.92	95.7

从表 4 可知, 各形态 Se 的回收率在 94.15%~108.95%之间,说明氢化物发生-原子荧光 光谱法是可靠的。

3 结论

(1)还原剂硼氢化钾浓度为 2%、载流液盐酸 浓度为 5%时,原子荧光光度计产生的荧光信号强。

(2)加入一定量的铁氰化钾,可以较好地消除苹果中钙、镁、铜等其他元素对硒测定的干扰,且铁氰化钾对硒的荧光强度无影响。

(3)硒(Ⅳ)在 0~10 ng/mL 范围内,呈良好的线性,线性回归方程为: I_f = 251.47c + 78.744,相关系数 R 为 0.9997;连续 11 次测定标准空白溶液,计算得到检出限 0.028 ng/mL,精密度 2.8%。

(4) 采用连续浸提分离技术,能对硒的三种 形态成功分离;氢化物发生-原子荧光光谱法检测各 形态 Se 和总 Se,该方法快速简便、准确和灵敏度 高、重复性好,加标回收率为 94.15%~108.95%。

参考文献:

 Zhang Z, Zhang J, Xiao J. Selenoproteins and selenium status in bone physiology and pathology[J].
 Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2014, 1840(11): 3246-3256.

- [2] Bassil J, Naveau A, Bodin J, et al. The nature of Selenium species in the Hydrogeological Experimental Site of Poitiers[J]. Procedia Earth and Planetary Science, 2014, 10: 159-163.
- [3] Lönnerdal B, Glazier C E, Lien E L. Selenium supplementation of infant formula: uptake and retention of various forms of selenium in suckling rats[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 1992, 3(12): 644-652.
- [4] Guerrero B, Llugany M, Palacios O, et al. Dual effects of different selenium species on wheat[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 83(8): 300-307.
- [5] Wang M C, Chen H M. Forms and distribution of selenium at different depths and among particle size fractions of three Taiwan soils[J]. Chemosphere, 2003, 52(3): 585-593.
- [6] 铁梅,李晶,臧树良,等. Se 酵母中可溶态 Se 的形态分析[J]. 辽宁大学学报:自然科学版,2006,33(2):108-111.
- [7] 王丙涛,林燕奎,颜治,等. HPLC-ICP-MS 同时检测 As 和 Se 形态的方法研究[J]. 湘潭大学学报:自然科学 版,2010,32(2):88-92.
- [8] 吴少尉,迟泉,陈文武,等. 土壤中硒的形态连续浸提 方法的研究[J]. 土壤,2004,36(1):92-95.
- [9] Martens D A, Suarez D L. Selenium speciation of soil/sediment determined with sequential extractions and hydride generation atomic absorption spectrophotometry[J]. Environmental science & technology, 1996, 31(1): 133-139.
- [10] 瞿建国,徐伯兴,龚书椿. 连续浸提技术测定土壤和沉积物中硒的形态[J]. 环境化学, 1997, 16(3): 277-283.
- [11] 袁园,蒋春跃,潘浩宇.酪氨酸高压在线三维荧光光谱
 研究[J].井冈山大学学报:自然科学版,2012, 33(4):70-73.
- [12] 李四生,董晓根,李家涛,等.甲苯萃取-微波消解-原子 荧光光谱法测定富硒保健品中有机硒和总硒[J].中 国卫生检测杂志,2008,18(1):87-89.
- [13] 徐宝玲. 氢化物-原子荧光法测定硒时元素干扰和消除[J].分析化学,1985,13(1):29-33.