

# 微波消解分子荧光法测定茶叶中硒的含量

周跃花, 杨菊香, 王艳 (西安文理学院化学系, 陕西西安 710065)

**摘要** [目的] 探讨微波消解分子荧光法测定茶叶中硒含量的最佳条件。[方法] 采用微波消解法消解茶叶样品, 利用茶叶中的硒(IV)与 DAN (2,3-二氨基萘)在酸性条件下反应生成具有强荧光特性的 4,5-苯并硒脑, 用荧光光度法测定茶叶中硒含量, 优化微波法消解条件。[结果] 采用微波化学反应器消解茶叶样品的条件为: 0.5 g 样品加 5.0 ml 5.0% 硫酸润湿, 加入  $\text{HNO}_3$ :  $\text{HClO}_4$  (4:1) 10.0 ml, 在 0.20 kW 时消解 30 min。最佳测定条件为: pH 值 1.5~2.0, EDTA-盐酸羟胺混合液用量 20.0 ml, 0.1% DAN 加入量 5.0 ml, 沸水浴加热 5 min, 6.0 ml 环己烷萃取, 于激发波长 377 nm、发射波长 519 nm 条件下测定荧光强度。该方法在硒含量 1.0~7.0  $\mu\text{g}$  时, 与荧光强度呈良好的线性关系,  $R^2$  值为 0.990 9, RSD 值为 2.5%。[结论] 与湿法消解法相比, 微波消解方法测定结果可靠, 简单快捷。

**关键词** 微波消解; 分子荧光法; 硒; 富硒茶

中图分类号 O657.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)22-10351-03

## Determination on Selenium Content in Tea by Microwave Digestion and Molecule Fluorescence Photometry

ZHOU Yue-hua et al (Department of Chemistry, Xi'an University of Arts and Science, Xian, Shaanxi 710065)

**Abstract** [Objective] The purpose was to discuss the optimum condition for determining the selenium content in tea by microwave digestion and molecule fluorescence photometry. [Method] The tea sample was digested by microwave digestion. The 4,5-benzo piaselelol with the strong fluorescence characteristic was prepared by reaction between the selenium (IV) in the tea and DAN (2,3-diaminonaphthalene) under acidic condition, and then the selenium content in the tea was detected by molecule fluorescence photometry and the microwave digestion condition was optimized. [Result] The condition for digesting the tea sample by microwave chemical reactor was follows: 5.0% sulfate at 5.0 ml was added into the sample for wetting and  $\text{HNO}_3$ :  $\text{HClO}_4$  (4:1) 10.0 ml was added into it for digesting at 0.20 kW for 30 min. The optimum detecting contion was follows: pH of 1.5-2.0, dosage of EDTA-hydroxylamine hydrochloride mixed solution being 20.0 ml, dosage of 0.1% DAN being 5.0 ml, heating by the boiled water for 5 min, extracting by 6.0 ml cyclohexane and detecting the fluorescence intension under the excitation wavelength of 377 nm and the emission wavelength of 519 nm. There was a good linear relation with fluorescence intension when the selenium content was 1.0-7.0  $\mu\text{g}$ , with  $R^2$  of 0.991 6 and the relative standard deviation (RSD) was 2.5%. [Conclusion] In comparison with the determination by the wetting digestion, the determination results of microwave digestion was reliable, simple and quick.

**Key words** Microwave digestion; Molecule fluorescence photometry; Selenium; Se-enriched tea

茶树是一种集硒能力较强的植物<sup>[1]</sup>, 它可将无机态硒转化为有机态硒而易于人体的吸收。因此, 茶叶是理想的补硒饮品, 而对茶叶中硒含量的测定是补硒研究最基本的任务。硒易于挥发而损失, 常规的湿法消解由于温度不易控制及加热时间较长而易造成硒损失与样品和环境污染<sup>[2]</sup>。自从 1975 年文献<sup>[3]</sup>中报道微波湿法消解样品以来, 微波溶样技术得到了较大的发展。微波消化样品的方法具有快速、准确、省试剂、省费用、污染少、待测元素不易损失等特点<sup>[4]</sup>。笔者采用微波消解分子荧光法测定茶叶中的硒含量, 主要探讨微波法消解茶叶样品时, 微波消解试剂、消解功率、时间等因素对硒测定的影响, 以优化微波法消解条件。鉴于消解样品茶叶的特殊性, 结合茶叶微波消解条件, 对基于硒(IV)与 DAN(2,3-二氨基萘)生成具有强荧光特性的 4,5-苯并硒脑的分子荧光光度法测定硒含量相关的 DAN 用量、萃取剂用量等测定条件进行了优化。

## 1 材料与方

**1.1 材料** 茶叶样品为陕西省紫阳县紫健牌紫阳绿茶(陕西省紫阳县紫健富硒茶厂生产)。硒粉(光谱纯, 天津科密欧科技有限公司生产); 2,3-二氨基萘(A Johnson Matthey Company, New Jersey, USA)。EDTA、盐酸羟胺、浓硝酸、高氯酸、浓盐酸、环己烷、甲酚红指示剂及其他试剂至少为分析纯, 未经纯化直接使用, 试验用水均为二次蒸馏水。主要仪器有 LWMC-205 可调功率微波化学反应器(南京陵江科技开发有

限公司), RF-5301 型荧光光度计(日本岛津)。

## 1.2 方法

**1.2.1 储备液的配制。** 100.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  硒标准储备液, 0.1% 2,3-二氨基萘(DAN)溶液, EDTA-盐酸羟胺混合液: 参照《GB/T 5009.93-2003 中华人民共和国国家标准——食品中硒的测定方法》中“8.1、8.2、8.5”配制。

1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  硒标准使用液: 移取一定量硒标准储备液用 0.1 mol/L HCl 稀释, 于冰箱内保存。

**1.2.2 标准曲线的绘制。** 分别准确移取 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  硒标准液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 ml 于 250 ml 锥形瓶中, 各加 20.0 ml EDTA-盐酸羟胺混合溶液, 加入 5.0 ml DAN 溶液, 用盐酸-氨水缓冲溶液调节 pH 值 1.5~2.0, 溶液呈淡红橙色, 在沸水浴中加热反应 5 min, 取出立即冷却, 然后分别用 6.0 ml 环己烷萃取, 振摇 5 min, 将全部溶液移入分液漏斗, 静置分层后弃去水层, 环己烷萃取层从漏斗上口转入带盖的比色管中待用。萃取液用 1 cm 比色皿, 在 RF-5301 型荧光光度计上进行荧光强度的测定。荧光光度计选择高灵敏度, 狭缝宽度 3 nm, 激发波长 377 nm, 发射波长 519 nm, 由测得的荧光值与 Se 浓度绘制标准工作曲线。

**1.2.3 样品消解及分析。** 取 80.0 g 茶叶样品于坩埚中, 在 60  $^{\circ}\text{C}$  下烘 2 h, 将烘好的样品粉碎后用 100 目分样筛分样。准确称取 0.5 g 处理好的样品于微波化学反应器的容器中, 先用 5.0 ml 5.0% 硫酸润湿, 再加入浓硝酸-高氯酸(4:1)混合酸 10.0 ml, 放入微波反应器中消解, 微波功率 0.20 kW 时消解 30 min, 当伴有白烟, 且溶液淡黄色、无残渣时取出, 然后沸水浴加热 15 min, 除去残余的氮氧化物, 取下冷却, 加入 10.0 ml 盐酸(1:9)混匀, 继续加热至溶液变为清亮无色并伴

**基金项目** 西安文理学院科研基金资助项目(KY200432)。

**作者简介** 周跃花(1964-), 女, 甘肃张掖人, 副教授, 从事应用化学及环境分析化学方面的研究。

**收稿日期** 2009-04-14

有白烟出现,此时  $\text{Se}^{6+}$  还原为  $\text{Se}^{4+}$ 。将此消解液同标准曲线绘制方法和条件测定其荧光强度,由标准曲线上查得硒浓度值,计算其相应含量。

## 2 结果与分析

**2.1 微波消解试剂的选择** 硒的测定中,样品消解试剂一般选择硝酸-高氯酸混酸体系<sup>[5]</sup>,由于微波消解不同于湿法消解,有必要对混酸比例进行选择。取 0.5 g 筛分好的茶叶样品 5 份于消解容器中,分别用 5.0 ml 5.0% 硫酸润湿,向每份样品中加入  $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$  体积比为 2:1、3:1、4:1、5:1、6:1 的混合酸共 10.0 ml,在微波功率为 0.10 kW 时消解样品,以溶液无残渣、淡黄色作为消化终点,然后按“1.2.3”步骤操作,用“1.2.2”方法测定试液的荧光强度,测定结果如表 1 所示。由表 1 可见,混酸比例  $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$  在 5:1~6:1 时测定结果偏低,说明消解不完全;而在 2:1~4:1 时,测定结果无显著性差异。本着  $\text{HClO}_4$  少用的原则<sup>[6]</sup>,选用混酸比例  $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$  为 4:1。

表 1 消解试剂对测定结果的影响

Table 1 Effect of digestion reagent on measured results

试样标号	$\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$	荧光强度
Sample numbers	(V:V)	Fluorescent intensity
1	2:1	119.626
2	3:1	117.242
3	4:1	118.496
4	5:1	95.678
5	6:1	78.171

**2.2 微波消解功率、时间的确定** 取 0.5 g 筛分好的茶叶样品 5 份,分别用 5.0 ml 5.0% 硫酸润湿,向每份样品中加入 4:1 的  $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$  混酸 10.0 ml,将每个样品分别在微波功率 0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 kW 时消解,以溶液无残渣、淡黄色作为消化终点,观察记录达到终点所需的时间,然后同“2.1”的方法,测定各试液的荧光强度(表 2)。试验发现,随着功率增大,消解时间减短,但当功率达 0.25 kW 时,试液荧光强度明显减小。可能是因为微波功率过高时,因温度较高造成样品中硒的挥发损失。综合考虑功率、时间因素,该试验选择 0.20 kW 消解 30 min。

表 2 微波条件对测定结果的影响

Table 2 Effect of microwave conditions on measured results

试样标号	功率/kW	时间/min	荧光强度
Sample numbers	Power	Time	Fluorescent intensity
1	0.10	55	118.725
2	0.15	45	118.426
3	0.20	30	117.928
4	0.25	10	102.826
5	0.30	5	95.367

**2.3 络合剂 DAN 溶液用量的优化** 鉴于消解样品茶叶的特殊性,基于国标测定方法,笔者对 DAN 溶液(0.1%)的加入量进行了优化。方法是:于 7 个 250 ml 锥形瓶中各加入 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  硒标准使用液 1.0 ml,再加入 20.0 ml EDTA-盐酸羟胺混合液,用盐酸和氨水缓冲溶液调节 pH 值 1.5~2.0,分别加入 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 ml 0.1% DAN 溶液,沸水浴中加热 5 min,用 10.0 ml 环己烷萃取后,测定各萃取

液的荧光强度,试验结果见图 1。由图 1 可见,当 DAN 加入量达到 4.0 ml 时,荧光强度趋于稳定,确定 5.0 ml 为 DAN 最佳用量。

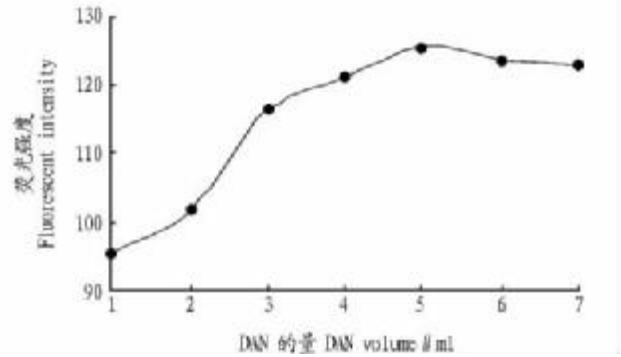


图 1 DAN 对荧光强度的影响

Fig. 1 Effect of DAN on the fluorescent intensity

**2.4 环己烷萃取剂用量的优化** 试验中发现,环己烷用量不足,萃取不完全,荧光值较小;环己烷用量过大,被萃取物浓度降低,亦导致荧光值下降。因此,笔者对萃取剂用量进行了优化试验。取 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  硒标准使用液 1.0 ml 于 6 个 250 ml 锥形瓶中,加入 20.0 ml EDTA-盐酸羟胺混合溶液,缓冲溶液调节 pH 值 1.5~2.0,加入 0.1% DAN 溶液 5.0 ml,沸水浴中加热 5 min,分别用 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 ml 环己烷萃取反应物,测定各溶液的荧光强度。由图 2 所示的试验结果,确定环己烷的最佳用量为 6.0 ml。

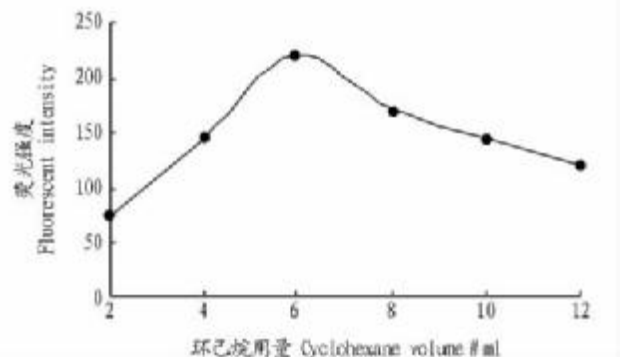


图 2 环己烷用量对荧光强度的影响

Fig. 2 Effect of cyclohexane on the fluorescent intensity

**2.5 共存离子的影响** 研究表明,铜、铁、钼等重金属离子及大量氧化物对测定硒有干扰,可用 EDTA-盐酸羟胺消除。由于茶叶中的有关干扰离子含量和种类具有差异性,为此,针对紫阳富硒茶,选择  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Bi}^{3+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  等离子,按“1.2.2”的试验方法进行干扰试验。结果表明,测定 1.0  $\mu\text{g}$  硒,加入 20.0 ml 0.2% EDTA-盐酸羟胺混合溶液,  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Bi}^{3+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  在 300 倍时不干扰测定,  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$  对硒的测定有一定干扰,  $\text{Cu}^{2+}$  的允许量为 200 倍,  $\text{Hg}^{2+}$  的允许量为 150 倍。

**2.6 标准曲线和相对标准偏差** 按“1.2.2”标准曲线的绘制方法,以 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  硒标准溶液绘制标准曲线。由图 3 可见,硒含量在 1.0~7.0  $\mu\text{g}$  时线性良好,回归方程  $y = 91.761x$ ,相关系数  $R^2 = 0.9909$ 。对 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  硒标样进行了 6 次平行试验,其标准偏差 2.755, RSD 值为 2.5%。

**2.7 样品中硒含量的测定及加标回收率试验** 用“1.2.3”

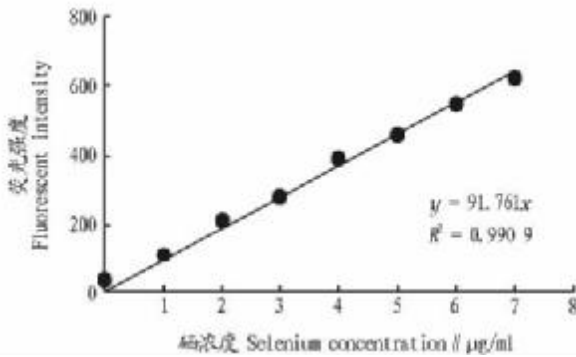


图3 Se工作曲线

Fig.3 Work curve of Se

的试验方法微波消解茶叶样品,测定紫阳富硒茶样品中的硒含量,同时做加标回收率试验,并以湿法消解(GB/T 5009.93-2003)作对照试验,测定结果见表3。两种消解方法测定样品结果的相对误差为4.21%。

表3 样品分析结果

Table 3 Sample analysis results

样品消解方法 Samples digestion method	样品硒含量 μg/g Se content	加入硒标样 μg Added Se	测得量 μg/g Measured value	回收率 % Recovery rate
湿法消解 Wet digestion method	2.472	1.0	3.196	93.6
微波消解 Microwave dissolution	2.576	1.0	3.483	97.4

注:表中数据均为6次测定结果的平均值。

Note: Tested data are all the average value of 6 times measured results.

### 3 结论

(1)采用微波化学反应器消解茶叶样品的消解条件:0.5

(上接第10335页)

闭集。进一步,一个集合在拓扑空间 $(X, \mathcal{J})$ 中是开集当且仅当它在拓扑空间 $(X, \mathcal{J})$ 中是开集,故有 $\mathcal{J} = \mathcal{J}$ 。

### 3 连通性讨论

定义3:拓扑空间 $X$ 称为连通空间,如果 $X$ 不能表示为两个不相交的不空闭集的并。

可以看出,仅有唯一非空 $A \subset X$ 有 $C^*(A) = A$ , $X$ 连通;如果还有非空 $B \subset X$ 有 $C^*(B) = B$ 且 $A \cap B = \Phi$ , $A \cup B = X$ ,则有 $X$ 不连通。

定理3:如果 $A \cap B \neq \Phi$ 且 $C^*(A) = A$ , $C^*(B) = B$ 必有 $C^*(A \cap B) = A \cap B$ 。也就是由 $A \cap B$ 来确定每位成员的分工定位。

证:根据引理 $C^*(A \cap B) \subset C^*(A)$   $C^*(A \cap B) \subset C^*(B)$

g样品加5.0 ml 5.0%硫酸润湿,加入 $\text{HNO}_3 : \text{HClO}_4$  (4:1) 10.0 ml,在0.20 kW时消解30 min。经与湿法消解对照,样品测定结果可靠,回收率高。该方法用于茶叶中硒的消化,省时、省力、污染小。

(2)应用分子荧光光度法测定紫阳富硒茶中微量硒含量,并对相关影响因素进行了优化。确定最佳测定条件为:pH值1.5~2.0,EDTA-盐酸羟胺混合液用量20.0 ml,0.1% DAN加入量5.0 ml,沸水浴加热5 min,6.0 ml环己烷萃取,于激发波长377 nm、发射波长519 nm测定荧光强度,效果较好。此外,该测定方法还可用于食品及其他产品中硒含量的测定。

### 参考文献

- [1] 李静,夏建国,张忠,等. 茶叶的硒营养研究进展[J]. 安徽农业科学, 2007,35(1):131-132.
- [2] WANG Z J, GAO Y X, NELSON BELZILE. Microwave digestion of environmental and natural waters for selenium speciation[J]. Analytical Chemistry, 2001,73(19):4711-4716.
- [3] ABU-SAMRA A, MORRIS J S, KOIRTYOHANN S R. Wet ashing of some biological samples in a microwave oven[J]. Analytical Chemistry, 1975,47(8):1475-1477.
- [4] KINGSTON H M, JASSIE L B. Microwave energy for acid decomposition at elevated temperatures and pressures using biological and botanical samples [J]. Analytical Chemistry, 1986,58(12): 2534-2541.
- [5] 刘波,孟辉. 微波消解-氢化物发生原子荧光法测定保健食品中的硒含量[J]. 湖北农业科学, 2008,47(2):224-225.
- [6] 陈韵,陈晓远,李双婷. 微波消解样品-原子荧光光谱法测定大蒜中的微量硒[J]. 安徽农业科学, 2008,36(2):411,414.
- [7] LI Y W, WANG X M, LIAN R L, et al. Determination on heavy metals content of *Achyranthes bidentata* Blume. through inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [J]. Agricultural Science & Technology, 2008,9(5):145-149.
- [8] 黄先飞,秦樊鑫,胡继伟,等. 微波消解-原子荧光法测定头花蓼中痕量砷[J]. 时珍国医国药, 2008,19(3):577-579.

所以 $C^*(A \cap B) \subset C^*(A) \cap C^*(B) = A \cap B$

另一方面,由权限性 $A \cap B \subset C^*(A \cap B)$ 于是 $C^*(A \cap B) = A \cap B$

连通性反映团队为实现共同目标的整体性,团队精神能否顺畅体现在每一成员的行动,也是凝聚力、有效沟通的体现。由团队定位映射 $C^*(A) = A$ 来构建的团队拓扑空间 $X$ ,要求增强子集 $A$ 的领导才能,要明确各成员的角色和责任分工,把个人目标与团队目标结合起来,充分发挥领导的沟通和协调作用,使团队 $X$ 处于 $C^*(A) = A$ 的状态,保持连通性,充分发挥团队的凝聚力。

### 参考文献

- [1] 熊金城. 点集拓扑讲义[M]. 北京:高等教育出版社,2003:69-71.
- [2] 高国土. 拓扑空间论[M]. 北京:科学出版社,2000:13.