

编程全自动微波消化-氢化物发生-原子荧光光谱法测定大豆中的硒

陈韵^{1,2},任安祥^{1,2},李双婷¹

(1. 韶关学院英东生物工程学院,韶关 512005; 2. 韶关市农产品质量检测所,韶关 512005)

摘要 应用编程全自动微波消化技术处理检测样品,样品和试剂用量少,空白值低,少污染,样品消化完全,操作便捷,是一项全新的样品前处理技术。通过筛选消化试剂的种类,优化消化仪编程和原子荧光仪器检测参数测定大豆中硒的含量,灵敏度高,重现性好,加标回收率为 86.4%~107.6%。

关键词 微波消化;原子荧光光谱;大豆;硒

中图分类号 S565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2007)05-0784-03

DETERMINATION FOR TRACE SELENIUM IN SOYBEAN BY MICROWAVE DIGESTION-HYDRIDE GENERATION-ATOMIC FLUORESCENCE SPECTROMETRY

CHEN Yun^{1,2}, REN An-xiang^{1,2}, LI Shuang-ting¹

(1. *Yingdong College of Bioengineering Shaoguan University, Shaoguan 512005*; 2. *Shaoguan Testing Institute for Agricultural Product Quality, Shaoguan 512005*)

Abstract According to the components in soybean, microwave digestion conditions such as masses and kinds of digestion reagents and the procedures design of microwave digestion apparatus were studied in this paper. Using the AFS-820 type Atomic Fluorescence spectrophotometer, trace selenium in soybean was determined under the optimum conditions. The results showed that the recovery rates were from 86.4% to 107.6%, and the detection limit of selenium is 0.12 $\mu\text{g L}^{-1}$, RSD = 3.16% ($n = 21$).

Key words Microwave digestion; HG-AFS; Selenium; Soybean

硒是人体必须的微量元素之一,是人体硒酶和硒蛋白的必需组成部分^[1,2]。人体摄入的硒主要来自食物,多数学者认为食用天然食品补硒高效,低毒,是一种安全的补硒方法。大豆是人们传统的富含硒的食品之一。测定硒的方法有多种,其中氢化物发生-原子荧光法(HG-AFS)因其检出限低和稳定性好而被普遍使用。国标《GB/T 5009-2003 食品中硒的测定-原子荧光法》规定了食品中硒的

测定方法,但其传统的开放体系消化样品不仅耗时长(3~4 h),易产生酸雾污染,且待测元素易逸失。微波消解是近年来发展起来的全新的样品消化技术,它利用微波的穿透性和激活反应能力,加热密闭容器内的试剂和样品,使容器内压力增加,反应温度快速上升和反应速率迅速提高而使消化时间大大缩短(通常在十几到数十分钟)。同时密闭的消化环境不仅减轻了污染,样品中待测元素的逸失问题也

得以较好控制。使用编程全自动微波消化仪更使消化样品变得方便、快捷。本文根据大豆高蛋白和高脂肪的组成特点,探讨了微波消化样品最佳的消化剂种类及用量和微波条件,结合原子荧光仪的特点,优化大豆硒元素含量的检测方法。本方法灵敏度高(最低检出限为 $0.12 \mu\text{g L}^{-1}$),重现性好($\text{RSD} = 3.16\%$, $n = 21$),加标回收率为 $86.4\% \sim 107.6\%$ 。

1 材料与方法

1.1 仪器

AFS-820 型双光道原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司),仪器条件:负高压 320 V ,灯电流 80 mA ,原子化器高度 8 mm ,载气流量 500 mL min^{-1} ,屏蔽气流量 900 mL min^{-1} ,测量方式为标准曲线法,读数方式为峰面积,延迟时间 1 s ,读数时间 15 s ,进样量: 1.5 mL ;高性能 Se 空心阴极灯(北京有色金属研究总院);Milestone 编程全自动微波消化仪(意大利 Milestone 公司),微波条件:通过分段设定功率和温度变化程序,以最后样品消化后消化液澄清、透明,无油状物和残渣为最佳消化条件。详见结果与讨论部分。

1.2 试剂

硝酸(优级纯);高氯酸(分析纯);30%过氧化氢(分析纯);铁氰化钾(分析纯);硼氢化钾-氢氧化钾溶液:称取 10.0 g 硼氢化钾,溶于氢氧化钾溶液(5 g L^{-1})中,定容至 1000 mL (用时现配)。 $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ 硒国家标准溶液(国家环境保护总局标准样品研究所)。实验过程所用水均为电导率 $\geq 18.20 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ 的超纯去离子水。

1.3 样品前处理

称取 0.2500 g 过 80 目筛的大豆干粉于消化罐中,加适量不同种类的混合消化剂,在不同编程消化条件下消化。将消化液转移至小烧杯,在沸水浴中挥酸至剩 1 mL 左右,加入 6 mol L^{-1} 盐酸 5 mL ,将六价硒还原成四价硒,后转移至 25 mL 容量瓶,加 2 mL 浓盐酸, 1.5 mL 10% 铁氰化钾溶液,用去离子水定容,同时做 2 份样品空白。 0.5 h 后上机测试。

1.4 标准曲线绘制及样品测试

将硒标准溶液配成浓度为 $0.1 \mu\text{g mL}^{-1}$ 标准使用液,分别取标准使用液 0 、 0.25 、 0.5 、 1.0 、 2.0 、 2.5 mL 于 25 mL 容量瓶中,加 2 mL 浓盐酸和 1.5 mL 10% 铁氰化钾溶液,用去离子水定容,半小时后上机测试并绘制标准曲线,同时测试样品。标准曲线线

性方程为:

$$I = 121.90C + 18.89 \quad \text{相关系数 } r = 0.9999$$

2 结果与讨论

2.1 消化条件的影响

2.1.1 消化剂的选择 消化剂一般用混合试剂,选择消化剂的原则是样品消化后消化液澄清、透明、无颜色或颜色淡、无油状物和残渣。尝试了以下消化剂:A: $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ($4:1$) 10 mL , B: $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ($5:1$) $10 \text{ mL} + 2 \text{ mL H}_2\text{O}_2$, C: $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ ($5:1$) $10 \text{ mL} + 2 \text{ mL H}_2\text{O}_2$, D: $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ($6:1$) $10 \text{ mL} + 2 \text{ mL H}_2\text{O}$, E: $12 \text{ mL HNO}_3 + 2 \text{ mL H}_2\text{O}_2$, F: 8 mL 王水 + $2 \text{ mL H}_2\text{O}_2$ 。发现 A、B、D 三种效果比较理想,上机测试硒浓度结果非常接近。考虑到微波消化是在高温高压的密闭环境, HClO_4 采用少用和慎用的原则,本文采用 D。

2.1.2 微波消化仪编程 编程原则同消化剂的选择原则,同时还要考虑不损害仪器。表 1 是以 D 为消化剂在不同微波条件下的消化效果。微波条件①、②消化检测结果与按国标检测结果偏离较大,主要原因是高温设定偏低;③、④、⑤、⑥消化样品的检测结果很接近按国标检测结果,其中微波条件④比较理想。③高温时间偏短,检测值偏低;⑤不影响结果但温度太高,不利于仪器保养;⑥与④结果相似,但⑥时间太长。须注意的是④消化检测结果比国标检测结果略高,可能是消化条件避免了待测元素在消化过程中的逸失,这也正是微波消化的优点所在。

2.2 原子荧光仪检测的影响因素

主阴极灯电流:主阴极灯电流增大,荧光强度增大,在电流至 70 mA 后增大趋势变缓,为延长灯的使用寿命,选择 80 mA ;负高压:光电管负高压的增大,荧光值显著升高,但信号和噪声同时增加。考虑到灯寿命与仪器信噪比,当灵敏度满足要求时,尽可能采用较低的负高压,故采用 320 V ;原子化器高度:原子化器较高时,影响屏蔽效果,硒原子可能因空气中氧的进入生成氧化物或其他化合物,导致荧光强度降低;随着原子化器的降低,硒相对荧光强度迅速增加,但是原子化器高度太低时又易产生原子化器辐射和光散射背景干扰^[3],高度为 8 mm 较理想;载气流量:载气流量在 $400 \sim 700 \text{ mL min}^{-1}$ 间较为合理,流量 $< 400 \text{ mL min}^{-1}$ 时增加了硒氢化物在光路上停留时间,荧光图谱有拖尾现象,易造成检测偶然误差,流量太大会冲稀硒氢化物浓度,降低荧光

值,选用流量为 600 mL min^{-1} ;进样量:进样量太大生成高浓度的硒氢化物产生光谱自蚀现象而严重影响测试结果的可靠性,太小则荧光强度弱不易检测,选择进样量为 1.5 mL ;硼氢化钾浓度:硼氢化钾浓

度过低影响硒氢化物生成效率,浓度过高则由于硼氢化钾和酸作用生成的大量氢气稀释硒氢化物,导致荧光值降低。硼氢化钾浓度在 $5 \sim 15 \text{ g L}^{-1}$ 时荧光信号强且稳定,采用浓度为 10 g L^{-1} 。

表1 微波条件对硒检测结果的影响

Table 1 Effect of different microwave conditions on the selenium content

| 条件微波 Microwave condition | 微波消解仪编程 Microwave procedure | | | | | | | 硒含量 /mg kg ⁻¹ Selenium content | 按国标检测 结果/mg kg ⁻¹ Selenium content by national criterion | |
|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------|---------------------------|-------------|--------------|--------------|--|---|-------------|
| | 步骤 Step | 温度调节/°C | | 功率调节/W | | 调节时间 /min | 保持时间 /min | | | 总耗时 /min |
| | | 低温 Temperture adjusting | 高温 High | 低功率 Power adjusting | 高功率 High | | | | | |
| ① | 1 | 20 | 120 | 0 | 600 | 8 | 10 | 43 | 1.11 | |
| | 2 | 120 | 150 | 600 | 1000 | 10 | 15 | | | |
| ② | 1 | 20 | 120 | 0 | 600 | 8 | 10 | 53 | 1.14 | |
| | 2 | 120 | 150 | 600 | 1000 | 10 | 25 | | | |
| ③ | 1 | 20 | 120 | 0 | 600 | 8 | 10 | 38 | 1.49 | |
| | 2 | 120 | 180 | 600 | 1000 | 10 | 10 | | | |
| ④ | 1 | 20 | 120 | 0 | 600 | 8 | 10 | 43 | 1.65 | |
| | 2 | 120 | 180 | 600 | 1000 | 8 | 10 | | | |
| ⑤ | 1 | 20 | 120 | 0 | 600 | 8 | 10 | 43 | 1.66 | |
| | 2 | 120 | 180 | 600 | 1000 | 10 | 15 | | | |
| ⑥ | 1 | 20 | 120 | 0 | 600 | 8 | 10 | 53 | 1.64 | |
| | 2 | 120 | 180 | 600 | 1000 | 10 | 25 | | | |

2.3 共存离子干扰

样品中铁氰化钾浓度 0.01 g mL^{-1} 时,下列离子浓度/Se(IV)浓度: K^+ (250)、 Na^+ (300)、 Ca^{2+} (280)、 Mg^{2+} (250)、 Fe^{3+} (500)、 Zn^{2+} (490)、 Bi^{3+} (7)、 Sb^{3+} (6)、 As^{3+} (4)、 Hg^{2+} (2)、 Pb^{2+} (20)、 Cu^{2+} (30) 时,测定 $0.01 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ Se(IV) 其荧光值变化不超过 $\pm 5\%$ 。

2.4 回收率和检出限

用3倍标准偏差与标准曲线斜率的比值得出本方法的检出限为 $0.12 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$,折合成大豆为 $24 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ 。6次加标平行测试,回收率为 $86.4\% \sim 107.6\%$ 。

RSD = 3.16% (n = 21)。

参 考 文 献

- [1] 杨祖英,马永健,常凤启. 食品中硒的测定[J]. 食品检验, 2001,12(1):290-291.
- [2] 彭琨,吴珩. 原子荧光法测定食品中砷和硒[J]. 理化检验-化学分册,2000,36(12):557.
- [3] 孙汉文,吕运开,张德强. 用氢化物原子荧光光谱法测定蔬菜中的微量砷[J]. 河北大学学报(自然科学版),1999,19(3):248-249.

2008年《杂交水稻》征订启事

《杂交水稻》是由国家杂交水稻工程技术研究中心和湖南杂交水稻研究中心主办的、对国内外公开发行的专业技术刊物。主要宣传报道我国及国外杂交水稻研究、应用中的最新成果、进展、动态、技术经验和信息等。辟有专题与综述、选育选配、栽培技术、繁殖制种、新组合、基础理论、国外动态和简讯等栏目。双月刊,大16开本,96页,逢单月出版,每册定价8.0元,年价48元。订阅办法:(1)可到当地邮局订阅,邮发代号:42-297。(2)直接向本刊杂志社订阅,挂号费每个订户全年18元整。请将款邮至长沙市马坡岭远大二路736号《杂交水稻》杂志社或信汇长沙市农行马坡岭支行,账户为湖南省农业科学院,账号035801040000341(务请注明为杂交水稻2008年杂志款),邮编410125,电话0731-2872955,2872954;E-mail:jhybrice@public.cs.hn.cn;http://zjsd.chinajournal.net.cn