

凌云,王李宝,沈辉,等. 条斑紫菜中硒含量测定的前处理方法比较[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):294-296.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.097

# 条斑紫菜中硒含量测定的前处理方法比较

凌云<sup>1</sup>,王李宝<sup>1</sup>,沈辉<sup>1</sup>,黎慧<sup>1</sup>,万夕和<sup>1</sup>,陆勤勤<sup>1</sup>,赵伟<sup>2</sup>,唐银华<sup>2</sup>

(1. 江苏省海洋水产研究所,江苏南通 226007; 2. 江苏省南通市出入境检验检疫局,江苏南通 226000)

**摘要:**比较湿法消解法(4+1)、湿法消解法(9+1)、微波消解法及微波+湿法消解法等4种前处理法对条斑紫菜中硒(Se)含量测定结果的影响。结果表明,微波+湿法消解法、湿法消解法(4+1)可以满足条斑紫菜中硒含量的测定要求,微波+湿法消解法测定结果精密性、准确性更高,相对标准偏差小于5%,回收率为88%~101%。

**关键词:**条斑紫菜;Se含量;微波消解;湿法消解;原子荧光光谱法

**中图分类号:**TS201.2<sup>+</sup>6 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)06-0294-03

条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)属红藻门原红藻纲红毛菜科紫菜属,是我国紫菜产业化人工栽培的主要品种之一。江苏省沿海地区是条斑紫菜主产区,该地区条斑紫菜产业规模及产量均占全国95%以上。紫菜作为可食用的海洋藻类,在日本、韩国被称为“长寿菜”“神仙菜”,具有很高的营养价值、药用价值。紫菜含有丰富的蛋白质、碳水化合物、维生素、活性碘、硒、镁、钙、铁等矿物质元素,具有重要的保健功效<sup>[1]</sup>。硒(Se)被称为“生命之火”,是人体必需的微量元素之一,也是谷胱甘肽过氧化酶的重要组成成分,具有抗氧化、抗

衰老、解毒、保护心血管、防癌抗癌、提高免疫力等作用<sup>[2-4]</sup>。动物的肝、肾以及海产品都是Se的良好来源,食品中Se含量受产地水土环境中Se含量影响很大<sup>[3]</sup>。目前,从紫菜中开发具有独特活性的海洋药物、保健食品是紫菜研究利用的新方向。快速、准确测定条斑紫菜中Se含量是开展相关研究的前提,目前测定Se含量的方法主要有催化动力学分光光度法、2,3-二氨基萘荧光法、氢化物-原子荧光光谱法(HG-AFS)、石墨炉原子吸收法、催化极谱法、高效液相色谱法、中子活化法等<sup>[5]</sup>。由于紫菜中Se含量较少,测定比较困难。原子荧光法具有检出限低、基体干扰少、灵敏度高、操作简便等优点,样品前处理消解是影响该方法检测结果的关键因素<sup>[6]</sup>。本研究建立了条斑紫菜中Se测定的样品前处理方法,旨在为研究条斑紫菜的营养及药用价值提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 仪器 AFS-9800型原子荧光光谱仪(北京海光仪器

收稿日期:2014-10-22

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(13)3039];江苏省大型仪器平台新方法开发项目(编号:BZ201304);国家海洋局公益性行业科研专项(编号:201105023)。

作者简介:凌云(1982—),女,江苏南通人,硕士,助理研究员,从事海洋环境监测、水产品质量研究。E-mail:lingyun20110520@163.com。

通信作者:万夕和,博士,研究员,主要从事海产品质量和海水养殖病害防治研究。E-mail:wxh1708@163.com。

[8]牛丽影,胡小松,赵镭,等. 稳定同位素比率质谱法在 NFC 与 FC 果汁鉴别上的应用初探[J]. 中国食品学报,2009,9(4):192-197.

[9]钟其顶,王道兵,熊正河. 稳定氢氧同位素鉴别非还原(NFC)橙汁真实性应用初探[J]. 饮料工业,2011,12(12):6-9.

[10]Socaci S A, Socaciu C, Tofan M, et al. In-tube extraction and GC-MS analysis of volatile components from wild and cultivated sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *Carpatica*) berry varieties and juice[J]. *Phytochemical Analysis: PCA*, 2013, 24(4):319-328.

[11]del Castillo M L R, Caja M M, Blanch G P, et al. Enantiomeric distribution of chiral compounds in orange juices according to their geographical origins[J]. *Journal of Food Protection*, 2003, 66(8):1448-1454.

[12]di Stefano V, Avellone G, Bongiorno D, et al. Applications of liquid chromatography-mass spectrometry for food analysis[J]. *Journal of Chromatography a*, 2012, 1259:74-85.

[13]何强,孔祥红,李建华,等. 超高效液相色谱-串联质谱检测方法研究[J]. 分析检测,2012(10):62-64.

[14]李鑫,刘柱,张东雷,等. 液相色谱/元素分析-同位素比率质谱联用法鉴定橙汁掺假[J]. 食品科技,2013,38(5):323-326.

[15]Vaclavik L, Schreiber A, Lacina O, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry-based metabolomics for authenticity assessment of fruit juices[J]. *Metabolomics*, 2012, 8(5):793-803.

[16]D'Orazio G, Cifuentes A, Fanali S. Chiral nano-liquid chromatography-mass spectrometry applied to amino acids analysis for orange juice profiling[J]. *Food Chemistry*, 2008, 108(3):1114-1121.

[17]韩建勋,黄文胜,吴亚君,等. 果汁中梨成分分子生物学鉴别-实时荧光PCR方法研究[J]. 中国食品学报,2010,10(1):207-212.

[18]Han J X, Wu Y J, Huang W S, et al. PCR and DHPLC methods used to detect juice ingredient from 7 fruits[J]. *Food Control*, 2012, 25(2):696-703.

[19]Tezcan F, Uzaşçi S, Uyar G, et al. Determination of amino acids in pomegranate juices and fingerprint for adulteration with apple juices[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(2):1187-1191.

[20]薛美娇,吴朝霞,高跃,等. 缓冲能力与葡萄汁饮料中原果汁含量关系的研究[J]. 中国酿造,2010(10):136-139.

有限公司);高级台式封闭电炉(天津泰斯特仪器有限公司);Mars 5 微波消解仪(美国 CEM 公司);电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);超纯水(美国密理博公司),电子天平(德国赛多利斯公司)等。

1.1.2 试剂 HNO<sub>3</sub>、HClO<sub>4</sub>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、HCl、KOH、KBH<sub>4</sub> 为优级纯;6 mol/L HCl、100 g/L K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]、1 000 μg/mL Se 标准物质(GSB04-1751-2004)。

1.2 方法

1.2.1 样品制备 将条斑紫菜一次加工品(江苏省如东县某紫菜食品公司)、标准紫菜对照样(GSB-14)置于 60 ℃ 下烘干至恒质量,条斑紫菜样品经粉碎后置于干燥器中备用。

1.2.2 样品前处理 湿法消解法:分别称取紫菜样品约 1 g(精确至 0.000 1 g)放入 150 mL 三角烧瓶中,分别加 10 mL HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub>(4 + 1)混合酸、10 mL HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub>(9 + 1)混合酸,轻摇瓶子使样品散开,冷消解过夜,次日置于电炉上加热,及时补加 5 mL 混合酸。当溶液变为清亮无色并伴有白烟时,继续加热至剩余体积 2 mL 左右,不可蒸干,冷却至室温,再加 5 mL 6 mol/L HCl,继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现,将 6 价 Se 还原成 4 价 Se,冷却至室温,用超纯水定容至 25 mL 容量瓶中,同时进行试剂空白对照试验。微波消解法:称取 0.5 g 紫菜样品置于微波消解管中,加入 5 mL HNO<sub>3</sub>,冷消解 30 min 后加 2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,振摇混合均匀,置于微波消解仪上消解,消解条件见表 1。冷却后转入三角瓶并在电热板上继续加热至近干(切不可完全蒸干),加入 5 mL 6 mol/L HCl,继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现,冷却后用少量水转移试样消解液,定容于 10 mL 比色管中,同时进行试剂空白试验。微波 + 湿法消解法:按上述方法微波消解之后,将溶液冷却并转移至 150 mL 三角瓶中,加入 1 mL HClO<sub>4</sub>,置于电炉上赶酸至溶液变为清亮无色并有白烟冒出;加入 5 mL 6 mol/L HCl 继续加热至溶液清亮并伴有白烟出现,冷却至室温,定容于 10 mL 比色管中待测,同时进行试剂空白试验。

1.2.3 测定方法 原子荧光光度计仪器工作条件:负高压:320 V;灯电流:80 mA;原子化高度:8 mm;屏蔽气流量:900 mL/min;载气流量:400 mL/min。测量方式:标准曲线法;

表 1 微波消解程序

步骤	功率(W)	升程时间(min)	升程温度(℃)	持续时间(min)
1	800	5	120	5
2	800	8	185	20

读数方式:峰面积;延迟时间:2 s;读数时间:12 s。标准曲线绘制:取 1 000 μg/mL Se 标准溶液 1 mL,加水定容至 100 mL 容量瓶,配制成 10 μg/mL Se 标准中间液,取 1 mL 此溶液,加水定容至 100 mL 容量瓶中,配制成 100 μg/L Se 标准工作液。分别吸取 100 μg/L Se 标准工作液 0、0.1、0.5、1.0、2.0、4.0 mL 置于 20 mL 比色管中,定容至 10 mL 刻度线,加入 2 mL HCl、1 mL 100 g/L K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]溶液混匀,放置 20 min,制成 0、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 μg/L Se 标准溶液,上机测定。样品测定:分别取 4 种消解方式制得的 10 mL 消解液置于 20 mL 比色管中,加入 2 mL HCl、1 mL 100 g/L K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>],混匀,取上清液同标准曲线一起上机测定含量。载流为 5% HCl,还原剂为 1.5% KBH<sub>4</sub> + 0.5% KOH 溶液。试样测定结果按以下公式计算:

$$X = \frac{(C - C_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000 \times 1\,000}。$$

式中:X 表示试样中 Se 含量,mg/kg;C 表示试样消解液测定浓度,μg/L;C<sub>0</sub> 表示试样空白消解液测定浓度,μg/L;m 表示试样质量,g;V 表示试样消解液总体积,mL。

2 结果与分析

2.1 线性关系及检出限

在选定的 AFS 仪器工作条件下测定 Se 荧光强度,测得标准曲线在 0~40 μg/L 范围内,线性回归方程为 y = 40.339x - 18.679,回归系数 r 为 0.999 4。取 11 次连续测量空白溶液荧光强度所得 3 倍标准偏差,除以标准曲线的斜率,得出检出限为 0.127 μg/L。

2.2 不同前处理方法测定紫菜标准物质含量

标准紫菜对照样(GSB-14)经过氢化物发生原子荧光光谱法测定后,4 种消解方法测定结果见表 2。

表 2 不同前处理方法测定紫菜标准物质的 Se 含量

前处理方法	Se 含量(mg/kg)						相对标准偏差(%)
	重复 I	重复 II	重复 III	重复 IV	重复 V	重复 VI	平均值
湿法消解法(4 + 1)	0.125	0.115	0.127	0.127	0.112	0.120	0.121
湿法消解法(9 + 1)	0.104	0.107	0.105	0.100	0.110	0.112	0.106
微波消解法	0.115	0.115	0.108	0.109	0.112	0.116	0.113
微波 + 湿法消解法	0.131	0.124	0.122	0.123	0.120	0.129	0.125

注:紫菜对照样 Se 含量标准值为(0.124 ± 0.014)mg/kg。

由表 2 可知,微波 + 湿法消解法测定的紫菜标准物质 Se 含量最高,且最接近标准值,湿法消解法(4 + 1)次之,再次为微波消解法,湿法消解法(9 + 1)测定的 Se 含量最低。前三者在标准值范围内,湿法消解法(9 + 1)测定结果稍低于标准值范围,可见该方法不适合测定紫菜中的 Se 含量,HNO<sub>3</sub> 与 HClO<sub>4</sub> 配比为 4 : 1 更利于紫菜中 Se 的消解。2 种微波消解法测定结果的相对标准偏差与 2 种湿法消解法相比较低,说

明微波消解在密闭环境中减少了 Se 损失,消解更完全。微波消解法测定结果低于微波 + 湿法消解法,后者多加了 1 mL HClO<sub>4</sub>,微波 + 湿法消解法消解紫菜更彻底,HNO<sub>3</sub> 被赶净。由表 3 可见,得到的结果与标准紫菜对照样一致,即微波 + 湿法消解法、湿法消解法(4 + 1)测定结果较高,同时微波消解法测定 Se 的精密度大于湿法消解法。4 种方法测得的相对标准偏差均 < 10%,符合测定要求。

表 3 不同前处理方法测定紫菜样品的结果

前处理方法	Se 含量( mg/kg)							相对标准偏差 ( % )
	重复 I	重复 II	重复 III	重复 IV	重复 V	重复 VI	平均值	
湿法消解法( 4 + 1 )	0. 171	0. 166	0. 173	0. 176	0. 162	0. 179	0. 171	3. 72
湿法消解法( 9 + 1 )	0. 160	0. 151	0. 157	0. 164	0. 169	0. 153	0. 159	4. 28
微波消解法	0. 165	0. 161	0. 167	0. 158	0. 165	0. 170	0. 164	2. 66
微波 + 湿法消解法	0. 179	0. 177	0. 173	0. 172	0. 175	0. 183	0. 176	2. 29

2.3 样品加标回收率测定

由表 3 可知,微波 + 湿法消解法、湿法消解法( 4 + 1 ) 处理后测得条斑紫菜中 Se 含量较高,分别用 2 种方法对条斑紫菜进行加标回收试验。采用湿法消解法( 4 + 1 ) 测得条斑紫菜中 Se 含量为 0. 171 μg,分别加入 0. 05、0. 15、0. 25 μg 3 种不同浓度的 Se 溶液。每个样品测定 3 次,按上述方法测其含

量,计算得回收率为 85% ~ 98% ( 表 4 )。采用微波 + 湿法消解法测得条斑紫菜中 Se 含量为 0. 088 μg,分别加入 0. 05、0. 15、0. 25 μg 不同浓度的 Se 溶液,每个样品测定 3 次,按上述方法测其含量,计算得回收率为 88% ~ 101% ( 表 5 )。通过加标回收试验可知,微波 + 湿法消解法测得回收率略高于湿法消解法( 4 + 1 ),准确性更高。

表 4 湿法消解法( 4 + 1 ) 测定条斑紫菜中 Se 含量加标回收率

条斑紫菜中 Se 含量 ( μg )	加标量 ( μg )	测得值( μg )				回收率 ( % )
		重复 I	重复 II	重复 III	平均值	
0. 171	0. 05	0. 210	0. 221	0. 229	0. 220	98
0. 171	0. 15	0. 312	0. 302	0. 289	0. 301	87
0. 171	0. 25	0. 375	0. 396	0. 381	0. 384	85

表 5 微波 + 湿法消解法测定条斑紫菜中 Se 含量加标回收率

条斑紫菜中 Se 含量 ( μg )	加标量 ( μg )	测得值( μg )				回收率 ( % )
		重复 I	重复 II	重复 III	平均值	
0. 088	0. 05	0. 144	0. 138	0. 133	0. 138	101
0. 088	0. 15	0. 220	0. 235	0. 226	0. 227	93
0. 088	0. 25	0. 301	0. 315	0. 307	0. 308	88

2.4 精密度试验

对微波 + 湿法消解法测定标准紫菜对照样、条斑紫菜样品进行 11 次精密度试验,测得 Se 的相对标准偏差分别为 4. 87%、4. 52% ,说明符合检测要求。

3 结论与讨论

本试验结果表明,湿法消解法中混合酸( HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub> ) 比例对试验结果有一定影响,混合酸( 4 + 1 ) 效果要好于混合酸( 9 + 1 ),混合酸( 4 + 1 ) 提高了 HClO<sub>4</sub> 的比例,增强了氧化性,湿法消解法( 4 + 1 ) 可以满足条斑紫菜中 Se 含量的测定要求。采用微波消解法测定条斑紫菜中 Se 含量时发现,消解液转出后呈淡黄绿色,电炉上消解近干,溶液也未能变成无色,添加 1 mL HClO<sub>4</sub>,电炉消解至白烟冒出则变成无色,改进后的方法测定结果比只用微波消解法效果好。少量 HNO<sub>3</sub> 会使 Se 荧光强度下降,添加 HClO<sub>4</sub> 可提高消解温度,将 HNO<sub>3</sub> 驱除干净,Se 荧光值增加<sup>[7-8]</sup>。微波消解操作程序化可批量消解多个样品,同时微波消解不易污染,元素不易损失,直接快速,精密度、准确度都比较好,可以满足条斑紫菜中 Se 检测要求。采用湿法消解法( 4 + 1 )、微波 - 湿法消解法测定条斑紫菜中 Se 所花时间相当,湿法消解法( 4 + 1 ) 虽然须要冷消解过夜,但第 2 天消解时直接在电炉上消解赶酸加 HCl 还原,不须要更换容器。微波 - 湿法消解法虽然不用过夜( 最好加 HNO<sub>3</sub> 冷消解过夜 ),但先通过微波消解仪消解再转移出三角瓶赶酸加 HCl 还原,增加了前处理过程及玻璃器皿消耗,所花时间长,2 种方法各有优缺点,建议将消解管直接放在赶酸

仪上赶酸,可以减轻工作量。Fe<sup>3+</sup> 作为共存离子掩蔽剂,可消除多种金属离子干扰。本试验选用 K<sub>3</sub>[ Fe( CN) ]<sub>6</sub> 作为掩蔽剂,也可以选用 FeCl<sub>3</sub> 作为掩蔽剂<sup>[11]</sup>,都可对干扰离子进行有效抑制。本研究结果表明,微波 - 湿法消解法、湿法消解法( 4 + 1 ) 可以满足条斑紫菜中 Se 含量的测定要求,所花时间相差不大,但微波 - 湿法消解法具有所耗样品及试剂少、消解彻底、准确度高、精密度好等优点,是较理想的前处理方法。

参考文献:

[1] 张全斌,赵婷婷,綦慧敏,等. 紫菜的营养价值研究概况[ J ]. 海洋科学,2005,29( 2 ): 69 - 72.

[2] 王 俊,黄 明,徐幸莲,等. 硒及富硒功能食品研究进展[ J ]. 江苏农业科学,2003( 2 ): 53 - 56.

[3] 齐玉薇,史长义. 硒的生态环境与人体健康[ J ]. 微量元素与健康研究,2005,22( 2 ): 63 - 66.

[4] 曾 静,罗海吉. 微量元素硒的研究进展[ J ]. 微量元素与健康研究,2003,20( 2 ): 52 - 56.

[5] 于 振,李建科,李梦颖,等. 食品中微量硒测定方法研究进展[ J ]. 食品工业科技,2012,33( 18 ): 371 - 377.

[6] 徐庆兵,鲁 丹,张 虹. 微波消解 - 氢化物原子荧光法分析水产品中硒的含量及其分布[ J ]. 营养学报,2011,33( 1 ): 95 - 98.

[7] 彭 琨. 氢化物原子荧光法测定食品中的硒[ J ]. 理化检验: 化学分册,2002,36( 12 ): 557 - 559.

[8] 张锦茂,范 凡,任 萍. 氢化物 - 原子荧光法测定岩石中痕量硒的干扰及消除[ J ]. 岩矿测试,1993,12( 4 ): 264 - 267.