

史 娟,李 江. 微波辅助消解火焰原子吸收光谱法测定茶叶中的微量元素[J]. 江苏农业科学,2015,43(11):380-382.  
doi:10.15889/j. issn. 1002-1302. 2015. 11. 120

# 微波辅助消解火焰原子吸收光谱法 测定茶叶中的微量元素

史 娟,李 江

(陕西理工学院化学与环境科学学院,陕西汉中 723000)

**摘要:**采用 HNO<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 混合酸体系分步消化处理陕西省汉中茶区午子仙毫、宁强雀舌、定军茗眉等 3 种名优绿茶样品,并采用火焰原子吸收光谱法测定 3 种名优绿茶中 8 种微量元素含量。结果表明,采用火焰原子分光光度法测定微量元素含量,该方法准确性高、精密度好,样品的回收率为 95.5% ~ 104.8%,相对标准偏差在 3% 以内。午子仙毫、定军茗眉、宁强雀舌 3 种茶叶中,对人体有益的 Mg、Ca、Mn 含量很高,与其他茶叶品种相比,午子仙毫品质更优。  
**关键词:**微波消解;火焰原子吸收法;茶叶;微量元素  
**中图分类号:** TS272.7      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2015)11-0380-02

陕西省汉中地区是我国罕见的高香茶区,茶叶种植历史悠久,规模大、产量高。截至 2013 年底,陕西省茶园面积 11.78 万 hm<sup>2</sup>,其中汉中地区茶园面积 5.94 万 hm<sup>2</sup>;该省茶叶总产量 4.646 万 t,其中汉中地区 3.1 万 t;该省茶叶总产值 60.5 亿元,其中汉中地区 37.8 亿元。汉中茶叶含有丰富的氨基酸、咖啡碱、茶多酚以及多种微量元素。微量元素与人体健康密切相关,大多数微量元素对人体具有重要作用,少数微量元素会危害人体健康<sup>[1]</sup>。因此,准确测定汉中茶叶中微量元素含量,对于评价汉中茶区茶叶质量以及优质茶叶品种的选种、育种、栽培、开发利用具有重要意义<sup>[2]</sup>。微波消解是新型试样消解技术,具有方便省力、安全快捷、污染少、样品溶解完全等特点,但存在消解功率过大、反应过于激烈、易冲破罐体等缺点<sup>[3]</sup>。采用分步式控压消解可避免上述缺陷。国内外对茶叶中微量金属元素的测定方法主要有原子吸收光谱法、电感耦合等离子体发射光谱法、电感耦合等离子质谱法、原子荧光光谱法等<sup>[4-8]</sup>。电感耦合等离子法具有准确度高、检出限低等特点,但仪器昂贵,难以大规模推广。原子吸收光谱法具有操作快速简便、灵敏度高、重现性好、选择性好、干扰少、成本低、易于自动化等特点,且测定的准确度及灵敏度可满足食品中大部分无机元素的分析要求。本研究采用微波消解-火焰原子吸收光谱法测定汉中茶区午子仙毫、宁强雀舌、定军茗眉等 3 种名优绿茶中的 8 种微量元素含量,旨在为开发利用汉中地区茶叶资源提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

午子仙毫,来自陕西省汉中市西乡县,市售;宁强雀舌,来

自汉中市宁强县,市售;定军茗眉,来自汉中市勉县,市售。

### 1.2 仪器

TAS-990 型原子吸收分光光度计(北京普析通用仪器责任有限公司);空心阴极灯(北京曙光电子光源仪器有限公司);WX-4 000 型微波快速消解系统(上海屹尧分析仪器有限公司);DKQ-3D 型智能控温加热器(上海屹尧分析仪器有限公司);101 型电热鼓风干燥箱(北京科伟永兴仪器有限公司)。

### 1.3 仪器工作条件

采用空气-乙炔火焰原子吸收光谱法测定茶叶中 Mg、Ca、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、Pb 等元素含量。按照 AAwin 软件操作规程进行操作,测定各元素的仪器最佳工作条件见表 1。

表 1 仪器工作条件

元素	波长 (nm)	工作 电流 (mA)	预热 电流 (mA)	光谱 宽度 (nm)	负高压 (V)	燃气 流量 (mL/min)	燃烧器 高度 (mm)
Mg	285.2	2	2	0.4	300	1 500	6
Ca	422.7	3	2	0.4	300	1 700	6
Cr	357.9	4	2	0.4	300	2 500	8
Mn	283.3	2	2	0.2	300	1 700	6
Fe	279.5	2	2	0.2	300	1 700	6
Cu	324.8	3	2	0.4	300	1 200	6
Zn	213.9	3	2	0.4	300	1 000	6
Pb	248.3	4	2	0.2	300	1 700	8

### 1.4 样品处理

1.4.1 操作方法 将午子仙毫、宁强雀舌、定军茗眉 3 种名茶样品烘干、磨细,过 60 目筛。分别称取 3 种茶叶样品 0.2 g 置于消化罐中,加入 4 mL HNO<sub>3</sub> 和 2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浸泡 20 min,拧紧盖子,将消化罐置于微波炉中。10 atm、900 W 消解 4 min;然后调至 18 atm、900 W 消解 5 min;再调至 24 atm、900 W 消解 10 min。消解结束后,待压力降至 0.5 atm,温度低于 80 ℃ 时打开消化罐,转入 50 mL 容量瓶,并用超纯水定容、摇匀、过滤后作为待测液。同时做空白对照试验。按表 1 中的仪器工

收稿日期:2014-11-28

基金项目:国家自然科学基金(编号:21373132);陕西省教育厅科学研究项目(编号:15JK1141)。

作者简介:史 娟(1978—),女,副教授,研究方向为天然产物化学和有机合成。E-mail: hzhshijuan@126.com。

作条件测定各元素标准溶液、样品溶液,若样品溶液浓度超出标准曲线,将样品溶液稀释后再测定。茶叶中各元素含量计算公式如下:

$$X=C\times V\times n/m\times 100。$$

式中: $X$  代表茶叶样品中各元素含量,  $\mu\text{g/g}$ ;  $C$  代表由标准曲线查得样品溶液浓度,  $\mu\text{g/mL}$ ;  $V$  代表样品溶液体积,  $\text{mL}$ ;  $n$  代表稀释倍数;  $m$  代表样品质量,  $\text{g}$ 。

1.4.2 精密度试验 将所有样品重复测定 6 次,根据测定结果的  $RSD$  值判断试验精密度。

1.4.3 回收率试验 为考察该方法的可靠性,向已知含量的样品中分别添加适量的  $\text{Mg}$ 、 $\text{Ca}$ 、 $\text{Cr}$ 、 $\text{Mn}$ 、 $\text{Fe}$ 、 $\text{Cu}$ 、 $\text{Zn}$ 、 $\text{Pb}$  标准溶液,测定各元素的平均回收率并计算相对标准偏差。

2 结果与分析

2.1 样品处理条件的选择

2.1.1 消解条件中混酸的选择 经微波消解后,待测样品中微量元素被转化为可溶性金属盐类。选用  $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$  混合酸作为消化体系,通过调整 2 种酸的用量,选择适当的  $\text{pH}$  值范围。试验表明,当溶液  $\text{pH}$  值高于 3 时,被测离子会产生沉淀,影响测定结果;当  $\text{pH}$  值为 1~2 时,测定结果稳定。因此,用 4  $\text{mL}$   $\text{HNO}_3 + 2 \text{ mL}$  30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  消解 0.2  $\text{g}$  茶叶样品。结果表明,在该用量下茶叶样品消解完全。

2.1.2 消化方法的选择 微波消解样品时,功率过大,反应过于激烈,易发生冲破罐体的现象<sup>[9]</sup>。因此,本试验采用三段控温、控压及短时间、多步骤方法进行消解:第 1 步条件为 10 个大气压,80  $^{\circ}\text{C}$ ,历时 4  $\text{min}$ ;第 2 步条件为 18 个大气压,150  $^{\circ}\text{C}$ ,历时 5  $\text{min}$ ;第 3 步条件为 24 个大气压,180  $^{\circ}\text{C}$ ,历时 10  $\text{min}$ 。确保待测样分解完全,消解效果良好。

2.1.3 试验干扰及消除  $\text{Fe}$ 、 $\text{Mn}$  作为过渡金属,邻近线较多,用火焰原子吸收光谱法 (FAAS) 测定时,须选择较小的狭缝宽度 (0.2  $\text{nm}$ );同时调节燃烧器高度及燃助比,使火焰呈蓝色贫焰,以避免少量硝酸盐带来的干扰。测定茶叶中  $\text{Mg}$ 、 $\text{Ca}$  含量时,易受到磷酸盐、硅酸盐的干扰,因此在处理样品过程中加入一定量的钼盐作为释放剂,以消除干扰。

2.2 标准工作曲线的绘制

配制一系列不同浓度 (0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、2.0、4.0、8.0  $\mu\text{g/mL}$ ) 的  $\text{Mg}$ 、 $\text{Ca}$ 、 $\text{Cr}$ 、 $\text{Mn}$ 、 $\text{Fe}$ 、 $\text{Cu}$ 、 $\text{Zn}$ 、 $\text{Pb}$  标准溶液,按最佳工作条件进行测定并绘制标准工作曲线,结果见表 2。

表 2 标准工作曲线线性范围及相关系数

元素	回归方程	相关系数
Mg	$C=2.789\ 6A-0.644\ 1$	$r=0.992\ 8$
Ca	$C=49.751A-0.990\ 6$	$r=0.999\ 2$
Cr	$C=47.573A-0.116$	$r=0.999\ 6$
Mn	$C=7.114\ 2A-0.390\ 8$	$r=0.995\ 0$
Fe	$C=9.523\ 8A-0.780\ 9$	$r=0.995\ 4$
Cu	$C=4.574\ 5A-0.014\ 6$	$r=0.999\ 3$
Zn	$C=3.875\ 2A-0.489\ 3$	$r=0.990\ 1$
Pb	$C=45.211\ 0A-0.293\ 89$	$r=0.998\ 6$

2.3 样品测定结果

2.3.1 检测结果 在仪器最佳工作条件下,分别测定午子仙毫、宁强雀舌、定军茗眉 3 种茶叶样品中  $\text{Mg}$ 、 $\text{Ca}$ 、 $\text{Cr}$ 、 $\text{Mn}$ 、 $\text{Fe}$ 、

$\text{Cu}$ 、 $\text{Zn}$ 、 $\text{Pb}$  的含量,结果如表 3 所示。

由表 3 可知,3 种茶叶样品均含有丰富的微量元素。午子仙毫中  $\text{Mg}$ 、 $\text{Mn}$ 、 $\text{Fe}$ 、 $\text{Zn}$  含量分别为 1 785.8、822.4、119.1、201.7  $\mu\text{g/g}$ ,茶叶品质较好。此外,3 种茶叶样品中  $\text{Pb}$  含量为 1.4~3.0  $\mu\text{g/g}$ ,均低于国际标准<sup>[10-11]</sup>。8 种微量元素的  $RSD$  值均小于 3%,表明在原子吸收光谱仪工作条件下,该方法重复性好、精密度好、准确可靠。

表 3 茶叶中各微量元素含量及试验精密度

元素	午子仙毫		宁强雀舌		定军茗眉	
	含量 ( $\mu\text{g/g}$ )	$RSD$ 值 (%)	含量 ( $\mu\text{g/g}$ )	$RSD$ 值 (%)	含量 ( $\mu\text{g/g}$ )	$RSD$ 值 (%)
Mg	1 785.8	0.21	1 648.5	0.13	1 586.7	0.14
Ca	530.3	1.18	646.1	1.98	520.5	1.19
Cr	6.8	1.09	7.5	1.13	8.8	0.75
Mn	822.4	0.83	650.3	0.41	707.5	0.51
Fe	119.1	1.23	94.2	2.01	90.7	1.61
Cu	9.8	2.19	15.4	2.33	11.3	2.07
Zn	201.7	0.60	165.5	0.53	191.3	0.67
Pb	1.4	2.38	1.4	0.76	3.0	1.24

2.3.2 加标回收率试验结果 在选定的操作条件下,采用标准加入法对该方法进行考察,各元素回收率为 95.5%~104.8%,说明该方法准确度较高 (表 4)。

表 4 加标回收试验结果

元素	茶叶样品	本底值 ( $\mu\text{g/mL}$ )	加标量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	测定值 ( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率 (%)
Mg	午子仙毫	2.343	1.000	3.323	98.0
	宁强雀舌	2.275	1.000	3.230	95.5
	定军茗眉	2.347	1.000	3.329	98.2
Ca	午子仙毫	2.121	2.000	4.131	100.5
	宁强雀舌	1.964	2.000	4.012	102.4
	定军茗眉	2.082	2.000	4.132	102.5
Cr	午子仙毫	1.447	2.000	3.421	98.7
	宁强雀舌	1.494	2.000	3.458	98.2
	定军茗眉	1.531	2.000	3.497	98.3
Mn	午子仙毫	2.601	3.000	5.508	96.9
	宁强雀舌	2.501	3.000	5.399	96.6
	定军茗眉	2.831	3.000	5.717	96.2
Fe	午子仙毫	0.157	2.000	2.185	101.4
	宁强雀舌	0.166	2.000	2.223	102.9
	定军茗眉	0.170	2.000	2.265	104.8
Cu	午子仙毫	2.040	2.000	4.061	101.1
	宁强雀舌	2.113	2.000	4.097	99.2
	定军茗眉	2.009	2.000	4.053	102.2
Zn	午子仙毫	0.662	1.000	1.695	103.3
	宁强雀舌	0.605	1.000	1.637	103.2
	定军茗眉	0.765	1.000	1.779	101.4
Pb	午子仙毫	2.433	2.000	4.387	97.7
	宁强雀舌	2.809	2.000	4.759	97.5
	定军茗眉	2.409	2.000	4.367	97.9

3 结论

本研究采用三段控温、控压及短时间、多步骤方法对 3 种茶叶样品进行消化处理,该方法快速安全、消解完全,无残渣,

陈 祥,魏臻武,任海龙,等. 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测南苜蓿 SSR 标记[J]. 江苏农业科学,2015,43(11):382-384.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.11.121

# 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测南苜蓿 SSR 标记

陈 祥,魏臻武,任海龙,乔志宏

(扬州大学动物科学与技术学院/扬州大学草业科学研究所,江苏扬州 225009)

**摘要:**以南苜蓿(*Medicago polymorpha*)为试验材料,用 CTAB 法提取南苜蓿基因组,选择已开发的蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)引物 100 对,分别在一年生苜蓿 SSR-PCR 反应体系和苜蓿属变种 SSR-PCR 反应体系的基础上进行 PCR 扩增,并将扩增产物进行 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,都得到了位点明显、背景清晰的条带。结果表明,南苜蓿均适合于现有的一年生苜蓿 SSR-PCR 反应体系和苜蓿属变种 SSR-PCR 反应体系,建立了一套有效、成熟的应用于南苜蓿 SSR 标记的聚丙烯酰胺凝胶电泳银染检测的方法,该方法可以用于南苜蓿杂交  $F_1$  代的鉴定以及后期资源的遗传分析。

**关键词:**南苜蓿;SSR 标记;PAGE

**中图分类号:**S540.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)11-0382-03

南苜蓿(*Medicago polymorpha*)属于豆科苜蓿属,是一年生或越年生苜蓿,别称秧草、草头、金花菜<sup>[1-2]</sup>、多形苜蓿<sup>[3]</sup>等。南苜蓿多产于长江中下游地区,如江苏、浙江等地,在安徽、江西、云南等地也有分布。南苜蓿常作为田间绿肥,也可作蔬菜和牧草。目前,随着秧草保健功能的不断彰显,多地已经形成了以秧草为主的产业。南苜蓿实现了牧草功能的延伸,是长三角生态农业新的增长点,成为我国南方草业发展的

新亮点<sup>[4]</sup>。

简单序列重复(Simple sequence repeat, SSR),是重复序列的重要组成部分。SSR 是由 1~6 个核苷酸为重复单位序列组成的串联重复序列。SSR 以 PCR 技术为基础,并均匀分布于整个基因组中。由于 SSR 分子标记具有共显性、涵盖范围广、标记数量丰富、所揭示的多态性高等优点<sup>[5]</sup>,已经在分子育种、指纹图谱构建、种子纯度鉴定、基因定位等方面得到广泛应用<sup>[6-7]</sup>。同样,对于遗传背景缺乏、没有测序信息的植物,SSR 仍然具有极高的利用价值。

聚丙烯酰胺凝胶电泳(Polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE),是一种以聚丙烯酰胺凝胶作为介质的常用电泳技术。由于其检测灵敏度和分辨率都比较高,是分子生物学和基因工程上不可缺少的试验技术,特别适合 SSR 标记扩增产物的检测<sup>[8-9]</sup>。本研究在张丽芳等模式植物蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)SSR 标记的 PCR 反应体系<sup>[10]</sup>和 Eujayl 等苜

收稿日期:2014-11-10

基金项目:江苏省科技支撑计划(编号:BE2012340);江苏省普通高校研究生科研创新计划(编号:CXLX\_1429)。

作者简介:陈 祥(1990—),男,江苏扬州人,硕士研究生,研究方向为牧草种质资源评价与遗传育种。E-mail: yzdxchenxiang@163.com。

通信作者:魏臻武,博士,教授,主要从事牧草遗传育种与种质资源评价研究。E-mail: zhenwu\_wei@hotmail.com。

样品消解试剂用量少,降低了由酸所造成的空白值,是理想的消解方法。采用火焰原子分光光度法测定微量元素含量,该方法准确性高、精密度好,样品的回收率为 95.5%~104.8%,相对标准偏差在 3% 以内。本研究结果表明,午子仙毫、定军茗眉、宁强雀舌 3 种茶叶中,对人体有益的 Mg、Ca、Mn 含量很高,这些微量元素对维护人体免疫功能起着重要作用。其中,午子仙毫中 Mg、Mn、Fe、Cu、Zn 含量较高,茶叶品质优异。

## 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [2] 郑宽明. 汉中茶叶产业的调研分析[J]. 商场现代化,2005,446(23):206-207.
- [3] 周玉珊,张西玲,汪荣斌,等. 微波消解-火焰原子吸收光谱法测定秦艽和麻花秦艽中多种微量元素[J]. 光谱学与光谱分析,2008,28(5):1172-1175.
- [4] 焦 阳,尹海波,张 乐,等. 基于 ICP-MS 对不同产地小根蒜无

- 机元素的主成分分析和聚类分析[J]. 药物分析杂志,2011,31(11):2063-2066.
- [5] 庞海霞. 火焰原子吸收法测定苦荞中微量元素[J]. 食品研究与开发,2014,35(12):60-62.
- [6] 付晓陆,汪 钊,叶海云. 氢化物发生原子荧光光谱法同时测定茶叶中的砷、铅和硒[J]. 食品工业科技,2003,24(4):80-81.
- [7] 史 娟. 微波消解-火焰原子吸收光谱法测定千里光中微量元素[J]. 安徽农业科学,2012,40(10):5867-5868.
- [8] 谭惠仁. ICP-AES、ICP-MS、AFS、IC 分析技术在茶叶中微量元素的分析研究[D]. 广州:中山大学,2013.
- [9] 傅 明,陈新焕,杨万彪,等. 微波消解 ICP-AES 法测定茶叶中铅、砷、铜、铁、锌、硒等 12 种元素的含量[J]. 食品科学,2001,22(11):76-78.
- [10] 徐桂香,吴江峰,谢光远. 江西特产中药彭泽贝母 As、Hg 含量的测定研究[J]. 江西师范大学学报:自然科学版,2009,33(1):124-126.
- [11] 陈燕萍,刘 红,贾 娇. 微波辅助消解 ICP-AES 法测定小根蒜不同部位的 18 种元素[J]. 食品工业科技,2013,34(17):320-322,359.