

# 微波消解-原子荧光光谱法测定鸡蛋中痕量硒

曹 璨<sup>①</sup> 吴志刚

(辽宁省分析科学研究院 沈阳市万柳塘路 103 号 110015)

**摘 要** 建立了以  $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$  微波消解体系进行前处理, 原子荧光光谱法测定鸡蛋中的硒的分析方法; 优化了仪器工作条件, 着重研究了还原剂与掩蔽剂的选择。该方法线性范围  $0\text{--}200\mu\text{g/L}$ , 相关系数 0.9999, 检出限  $0.112\mu\text{g/L}$ , 回收率  $97.8\%\text{--}105.0\%$ , 方法快速、准确。

**关键词** 微波消解, 氢化物发生-原子荧光光谱法, 鸡蛋, 硒。

中图分类号: O657.31

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2008)05-0796-05

## 1 前言

硒是人体必需的微量元素之一<sup>[1]</sup>, 是一种强抗氧化剂, 能消除体内有机自由基, 调节体内氧化还原反应速度, 调节维生素 A、C、E、K 在体内的吸收及消耗, 具有抗氧化、抗衰老、保护细胞的结构和功能的作用<sup>[2]</sup>。但过量的硒将会引起中毒, 使人患脱发、脱甲、偏瘫等病症。世界粮农组织 (FAO)、世界卫生组织 (WHO) 推荐的膳食安全日硒摄入量范围  $50\text{--}400\mu\text{g}$ <sup>[3]</sup>。人对硒的摄取主要是来源于食物, 海产品、动物肾、肉类、大米、谷物等含硒量较多, 而现在为了弥补硒的匮乏, 市场上还有许多富硒产品, 比如富硒鸡蛋, 其中硒含量的控制就显得非常必要。

目前测定硒的方法较多, 有紫外分光光度法<sup>[4]</sup>、荧光法<sup>[5]</sup>、原子吸收法<sup>[6]</sup>、气相色谱法<sup>[7]</sup>、电化学法<sup>[8]</sup>等。氢化物发生-原子荧光法具有高的选择性和灵敏度, 近十几年来发展迅速, 在食品和医药卫生领域中的应用日益广泛<sup>[9, 10]</sup>。微波消解是近几年新出现的样品制备手段, 其特点是微波具有很强的穿透能力, 直接作用于样品内部, 使罐内均匀受热, 短时间即可达到所要求的温度, 同时还具有消耗试剂量少, 空白值显著降低, 避免微量元素挥发损失及样品污染等优点, 提高了分析的准确性。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器

AFS-2202 双道原子荧光光度计 (北京科创海光仪器公司), WR-5A 微波消解仪 (北京盈安美诚公司), 硒高性能空心阴极灯 (北京有色金属研究总院)。

### 2.2 试剂

除特殊规定外, 本方法所用试剂均为优级纯, 实验用水为去离子水。

硒标准储备液 ( $1000\mu\text{g/mL}$ , 国家标准物质研究中心); 硒标准工作液  $1.00\mu\text{g/mL}$ : 准确移取硒标准储备液逐级稀释; 硝酸; 30% 过氧化氢; 盐酸; 氢氧化钾; 硼氢化钾溶液 ( $20\text{g/L}$ ): 准确称取

① 联系人, 电话: (024) 24210497; 手机: (0) 13516088007; E-mail: sining1998@126.com

作者简介: 曹璨 (1980—), 女, 辽宁省沈阳市人, 硕士, 从事理化检验工作。

收稿日期: 2008-02-26; 接受日期: 2008-03-21

20. 00g 硼氢化钾溶于 1000mL 5g/L 氢氧化钾溶液中; 铁氰化钾溶液( 100g/L) 。

2. 3 仪器工作条件

光电倍增管负高压 300V; 硒灯电流 60mA; 原子化器高度 10mm; 载气流量 500mL/ min; 屏蔽气流量 1000mL/ min; 测量方法校准曲线法; 读数方式峰面积; 读数时间 12. 0s; 延迟时间 1. 0s。

2. 4 样品处理

取新鲜鸡蛋, 去壳后用匀浆机搅拌均匀, 称取 0. 4—0. 5g 于微波消解罐中, 加入 5. 00mL HNO<sub>3</sub>, 30min 后加入 2. 00mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 摇匀, 盖上密封碗, 装入消解罐, 置于密封高压微波炉中, 同时进行试剂空白试验。设置微波消解炉的最佳分析条件( 表 1) 。消解完全后, 冷却取出消化罐内杯。

表 1 微波消解条件

| 步骤 | 温度(℃) | 保持时间( min) | 升温梯度(℃/ min) |
|----|-------|------------|--------------|
| 1  | 120   | 3          | 8            |
| 2  | 150   | 3          | 8            |
| 3  | 180   | 5          | 8            |

用少量水将消解液转移至 150mL 烧杯中, 加盖表面皿, 在电热板上加热赶酸。当溶液剩余 1mL 左右时, 停止加热。冷却后补加少量水, 加入 10. 00mL 浓盐酸, 继续加热 10min 后停止加热。冷却后转移至 25mL 容量瓶中, 加入 0. 50mL 铁氰化钾溶液和 5. 00mL 浓盐酸, 用水定容后摇匀。同时进行试剂空白试验。

3 结果与讨论

3. 1 工作条件的选择

3. 1. 1 微波消解体系选择

浓硫酸的沸点高, 且剩余的酸很难挥发, 高氯酸在高温时是强氧化性酸, 高氯酸盐与有机基体共存时有爆炸的可能, 所以在微波消解体系中很少使用。硝酸是一种氧化性酸, 是最常用的、破坏有机物基体的酸。过氧化氢与酸混合使用可使消解更加完全。本文比较了硝酸、硝酸-过氧化氢这两种体系的消化效果, 结果表明, 硝酸消化后的样品有时呈浑浊状态, 消解不完全; 而用硝酸和过氧化氢以一定比例的混合酸溶液, 消解时间短、消解效果好, 可得到较澄清样品消化液, 且可减少试剂用量。经比较不同配比的硝酸-过氧化氢消解体系, 选择 HNO<sub>3</sub>: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>= 5: 2 作为消解体系。

3. 1. 2 原子化器的高度

从原子化器高度 5mm 处开始对硒进行实验, 结果表明, 荧光强度随高度增高而降低, 但高度太低炉子的散射光将造成背景读数, 增加噪声。当观测高度为 10mm 时可得最佳信噪比, 原子化效率最好。

3. 1. 3 负高压的选择

随着负高压的增大, 荧光强度增强, 但噪声也相应增大, 负高压过高过低时荧光强度值都不稳定。实验结果表明, 负高压为 300—325V 时, 信噪比最好, 其中 300V 时荧光强度值的稳定性更好一些, 因此选择负高压为 300V( 图 1) 。

3. 1. 4 硒灯电流的选择

增加灯电流能改善灵敏度, 但若电流过大会导致谱线变宽而使灵敏度降低, 且空心阴极灯的使用寿命会降低。由图 2 可知, 灯电流在 60mA 时可得最佳信噪比。

3. 1. 5 载气、屏蔽气流量选择

载气流量过小时, 氢化物释放效率和传输效率降低, 也不利于氩氢焰的稳定, 会导致荧光信号

降低和拖尾, 载气流量过大时, 会导致火焰中硒原子蒸气浓度被稀释, 荧光强度降低。当载气流量为  $500\text{ mL/min}$  时, 所得信噪比最好, 见图 3。

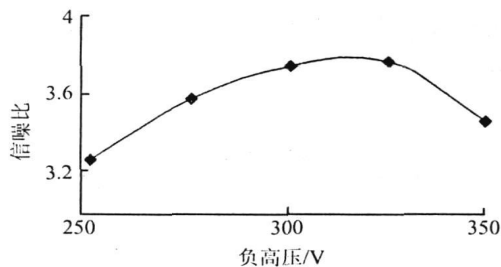


图 1 负高压的影响

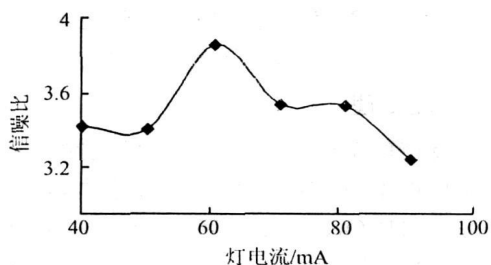


图 2 灯电流的影响

屏蔽气可防止周围空气渗入火焰, 又可降低火焰本身的辐射噪声, 使荧光信号强度增强。由图 4 可见, 当屏蔽气流速为  $1000\text{ mL/min}$  时, 可得最佳信噪比。

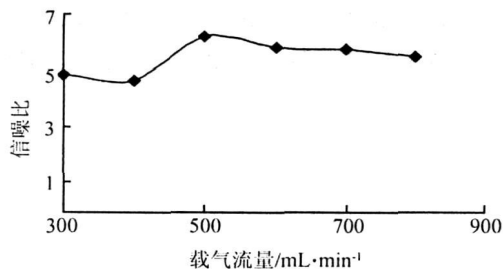


图 3 载气流量的影响

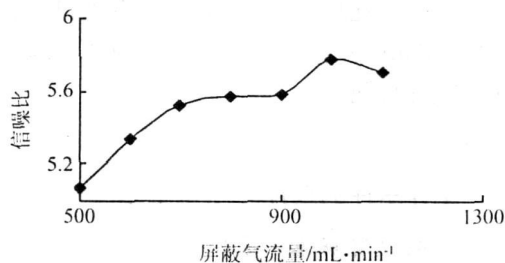


图 4 屏蔽气流量的影响

### 3.1.6 硼氢化钾浓度选择

配制不同浓度  $\text{KBH}_4$  溶液, 分别测定  $20\mu\text{g/L}$  硒标液的荧光强度。随着  $\text{KBH}_4$  浓度增大, 荧光强度逐渐升高, 当  $\text{KBH}_4$  浓度达到  $20\text{ g/L}$  时, 荧光强度基本稳定, 但噪声也开始增加。主要是由于浓度较小时不利于氢化物生成, 浓度过高又会对气液分离造成干扰。由图 5 可知,  $20\text{ g/L}$   $\text{KBH}_4$  溶液作为还原剂时, 可得到最佳信噪比。

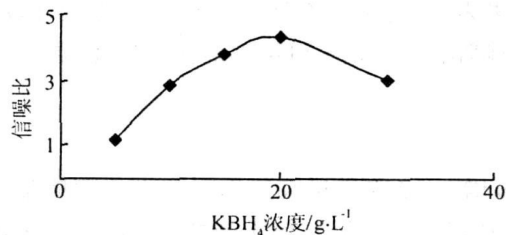


图 5  $\text{KBH}_4$  浓度的影响

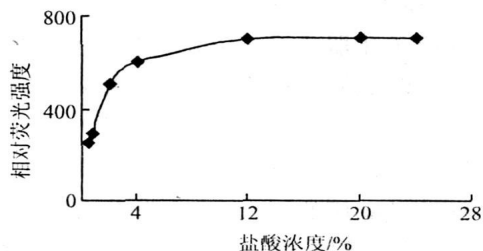


图 6 溶液体系酸度的影响

### 3.1.7 载流及酸度选择

不同酸介质对硒的氢化物生成有较大的影响。采用硝酸、盐酸和磷酸为载流, 分别比较了对硒的灵敏度影响, 结果表明盐酸对硒的荧光信号最强。测定  $20\mu\text{g/L}$  硒标液的荧光强度, 实验结果表明, 盐酸浓度小于 3% 时, 峰拖尾和延迟现象非常严重, 当盐酸浓度达到 5% 时, 荧光强度基本稳定, 峰形较好。因此选择 5% 的盐酸溶液作为载流。

3. 1. 8 还原剂及酸度选择

微波消解处理后的消解液中, 硒主要以 6 价形式存在, 而用原子荧光法检测时, 只能测定 4 价硒, 硝酸等氧化性酸的存在, 会影响硒的还原。实验表明, 当盐酸体系中存在部分硝酸时, 会使硒溶液的荧光强度降低。因此本文对消解液进行了挥酸处理, 并采用盐酸作为还原剂, 使硒元素转化为 4 价。酸度也会影响还原反应的进行, 酸度过低, 还原反应进行不完全, 酸度过高, 容易与掩蔽剂形成沉淀, 且浪费试剂。分别测定不同酸度的 20.0 $\mu\text{g/L}$  硒标液, 结果见图 6。可见, 当体系酸度达到 20% 时, 荧光强度基本稳定。

3. 1. 9 共存离子干扰与掩蔽剂选择

鸡蛋中含有较高的锰、钙、铜、锌、镁、铁等元素, 其中一些元素会对硒的测定造成干扰。实验表明, 20 $\mu\text{g/L}$  硒标液中, 以万倍计的 K、Na、Ca、Mg 和以百倍计的 Fe、Mn、Zn 都不干扰测定, 主要的干扰来自 Cu。

本文对较常采用的两种掩蔽剂体系——铁氰化钾和硫脲-抗坏血酸进行了比较, 表明铁氰化钾的加入可使荧光强度增大, 提高方法的灵敏度(图7), 同时可极大地降低共存离子的干扰浓度。而硫脲-抗坏血酸对荧光强度有负影响, 且当样品体系中残留少量硝酸时, 会与体系发生相互作用。因此选择铁氰化钾作为掩蔽剂。

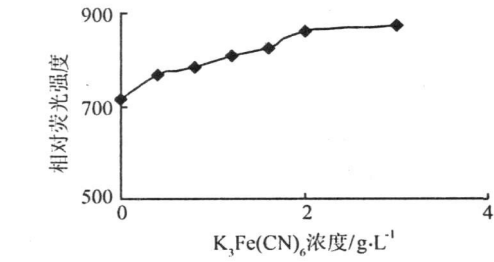


图 7  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  浓度对荧光强度的影响

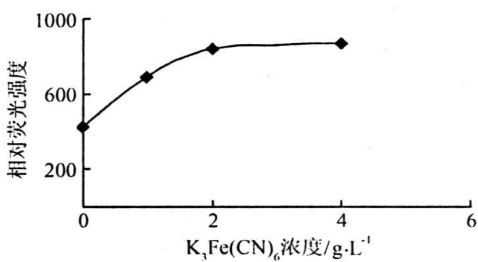


图 8 不同  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  浓度的掩蔽效果

当体系中铁氰化钾浓度为 2.0 $\text{g/L}$  时, 500 倍的 Cu、1000 倍的 Mn 和 Zn 都不会对 20 $\mu\text{g/L}$  硒标液的测定结果造成干扰。(图 8)。

3. 2 方法与结果

3. 2. 1 线性范围

实验表明, 在最优条件下, 硒浓度在 0—200 $\mu\text{g/L}$  范围内, 有良好的线性关系。测定时选取适宜范围作校准曲线(0—100 $\mu\text{g/L}$ ), 分别移取硒标准工作液(1.00 $\mu\text{g/mL}$ ) 0.00、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 $\text{mL}$  于 50 $\text{mL}$  容量瓶中, 加入 1.00 $\text{mL}$  铁氰化钾溶液和 10.00 $\text{mL}$  浓盐酸, 用水定容后摇匀。放置 30 $\text{min}$  后待测。测得硒的线性回归方程为:  $I = 30.7393C - 0.1289$ , 相关系数为  $r = 0.9999$ 。

3. 2. 2 方法精密度和检出限

按照 IUPAC 规定, 对试样空白和标准物质交替测定 22 次, 用 3 倍样品空白荧光值的标准偏差除以校准曲线斜率即为本法的检出限。硒的检出限为 0.112 $\mu\text{g/L}$ 。方法的 RSD 为 1.87%—2.04%。

表 2 回收率实验 (n= 3)

| 鸡蛋含硒量 ( $\mu\text{g/g}$ ) | 加标量 ( $\mu\text{g/g}$ ) | 测定值 ( $\mu\text{g/g}$ ) | 回收率 (%) |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------|---------|
| 0.563                     | 0.300                   | 0.878                   | 105.0   |
|                           | 0.500                   | 1.069                   | 101.2   |
|                           | 1.000                   | 1.541                   | 97.8    |

3. 2. 3 方法回收率

准确称取鸡蛋样品 9 份, 每份 0. 50g, 分别加入高、中、低 3 个浓度水平的硒标准溶液各 3 份, 同样方法测定加标回收率, 测定结果见表 2。

3. 2. 4 方法准确性

用选定的方法测定国家一级标准物质脱脂奶粉( GBW 08509) 中的硒, 测定值与标准值相吻合。结果见表 3。

| 表 3 标准物质的测定结果  |                        |                        |          |
|----------------|------------------------|------------------------|----------|
| 标准物质           | 标准值( $\mu\text{g/g}$ ) | 测定值( $\mu\text{g/g}$ ) | RSD( % ) |
| 脱脂奶粉 GBW 08509 | 0. 22 $\pm$ 0. 02      | 0. 209                 | 2. 12    |

本文采用微波消解方法进行前处理, 具有准确、快捷、消解完全等优点, 降低了传统方法处理时硒元素的流失, 减少了使用高氯酸或硫酸消解时残余酸与掩蔽剂间的相互作用带来的干扰。原子荧光分光光度计仪器价格便宜, 适用性广泛。实验结果表明, 本法灵敏度高, 分析结果准确, 方便快捷, 也同样适用于其他高蛋白类食品, 如豆类, 牛奶等。

参考文献

[ 1 ] 孔祥瑞. 必需微量元素营养, 生理及临床意义[ M]. 合肥: 安徽科技出版社, 1982. 296.  
[ 2 ] Viitma J, Valkella E, Alfthan G *et al.* Serum Selenium and Risk of Cancer Aprospective Follow-up of Nine Years[ J]. *Cancer*, 1987, **60**: 145—149.  
[ 3 ] 祁嘉义. 临床元素化学[ M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.  
[ 4 ] 李岱. 分光光度法测定香菇中硒的研究[ J]. 光谱实验室, 2000, **17**( 6 ): 656—657.  
[ 5 ] 熊远福, 刘军鸽, 文祝友等. 荧光法测定水样中硒( IV), 硒( VI) 和有机硒[ J]. 分析科学学报, 1999, **15**( 2 ): 154—157.  
[ 6 ] 冯尚彩, 韩长秀. 塞曼石墨炉原子吸收法直接测定血清中的硒[ J]. 分析试验室, 2002, **21**( 4 ): 52—53.  
[ 7 ] 农晋琦, 蔡端瑞, 欧阳政. 硒半胱氨酸和硒胱氨酸的间接气相色谱测定-溴化氰-气相色谱法[ J]. 色谱, 1994, **12**( 1 ): 28—31.  
[ 8 ] 杨培慧, 政志雯, 冯德雄等. 硒代胱氨酸和硒代蛋氨酸电化学检测的比较[ J]. 分析化学, 2003, **32**( 2 ): 194—197.  
[ 9 ] 吴衍, 彭泯. 氢化物发生原子荧光法测定天然矿系水中的微量硒[ J]. 分析试验室, 2000, **19**( 3 ): 87—881.  
[ 10 ] 李明远. 微波消解-氢化物原子荧光光谱法测定食品中的微量元素硒[ J]. 光谱实验室, 2007, **24**( 3 ): 618—620.

Determination of Trace Selenium in Eggs by Microwave Digestion-Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry

CAO Can    WU Zhi-Gang

( Liaoning Analysis Science Academy , No. 103 of Wanliutanglu, Shenyang 110015, P. R. China)

**Abstract** Trace selenium in eggs was treated by microwave digestion in HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution, and determined by atomic fluorescence spectrometry. The analytical conditions were discussed especially the reducing agent and the masking agent. The linear range is 0—200 $\mu\text{g/L}$ . The correlative coefficient of the calibration curves is 0. 9999. The detection limit is 0. 112 $\mu\text{g/L}$ , and the recovery is 97. 8% —105. 0%. The method is quick-acquired and accurate.

**Key words** Microwave Digestion, Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry, Eggs, Selenium.