第28卷,第12期
2008年12月

光 谱 学 与 光 谱 分 析
Spectroscopy and Spectral Analysis

Vol. 28, No. 12, pp2975-2978
December, 2008

# 蔬菜中硒总量及形态的氢化物发生-原子荧光光谱测定方法

李连平[1], 范 威[1], 黄志勇[1*], 庄峙厦[2]

1. 集美大学生物工程学院, 福建 厦门 361021
2. 厦门大学化学系, 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005

**摘 要** 采用氢化物发生原子荧光光谱法(HG-AFS)测定了几种蔬菜中的总硒含量, 并测定了其中无机硒和有机硒的相对含量。实验优化了仪器测量参数, 考察了载流盐酸和硼氢化钾浓度、样品介质盐酸浓度和残留硝酸浓度及干扰元素对测定的影响。结果表明: 几种蔬菜中硒的含量都较低, 而草菇的硒含量达到0.151 μg·g$^{-1}$。此外, 蔬菜中硒主要以有机硒的形态存在。方法的检出限为0.35 ng·g$^{-1}$, 加标回收率为97.6%～101%。实验方法操作简便、灵敏度高, 结果令人满意。

**关键词** 氢化物发生-原子荧光光谱; 硒; 形态; 蔬菜
**中图分类号**: O657.3 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2008)12-2975-04

## 引 言

硒是人体必需的微量元素[1], 硒在体内以硒酶和硒蛋白等形式存在, 具有抗癌、抗氧化和提高免疫力等作用, 并具有调节维生素A, C, E, K吸收的作用及参与辅酶合成等生物学过程[2,3]。食品中硒可分为无机硒和有机硒, 无机硒毒性大, 而有机硒毒性小、生物利用率高[4,5]。随着生活水平的提高, 测定食品中硒含量及硒形态对健康营养膳食的制定, 指导人体硒的摄入量具有科学指导意义。硒的测量方法已有很多, 而氢化物发生原子荧光光谱法(HG-AFS)测定硒具有灵敏度高、干扰少、线性范围宽等优点[6-10]。样品经适当的分离处理后再用HG-AFS检测, 可获得硒形态的重要信息[11,12]。本实验采用HG-AFS法测定了几种蔬菜中的硒含量, 并通过差减法求得了样品中有机硒的含量。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

AF-640原子荧光光谱仪(北京瑞利分析仪器公司), 硒高强度空心阴极灯(北京有色金属研究总院), MDS-2003F微波消解制样系统(上海新仪微波化学科技有限公司), 2-16高速离心机(德国Sigma公司), TKA-Genpure纯水制备系统(德国TKA公司)。

100 μg·mL$^{-1}$硒标准溶液(国家标准物质研究中心), 硼氢化钾(AR级, 国药集团化学试剂有限公司), 盐酸(GR, 广州化学试剂厂), 氢氧化钾(AR, 汕头市西陇化工厂), 硝酸(GR, 汕头市西陇化工厂), 铁氰化钾(AR, 国药集团化学试剂有限公司); 99.99%氩气(厦门林德气体有限公司), 所用器具均在10%(φ)硝酸浸泡24 h后再用一次水及超纯水洗净。

### 1.2 仪器参数

经优化后, 原子荧光光谱仪的工作参数如表1所示。

**Table 1 Instrumental parameters and operating conditions of HG-AFS**

| Parameters | Values |
|---|---|
| Negative high voltage of PMT/V | 280 |
| Atomizer temperature/ ℃ | 25 |
| Atomization mode | Flame |
| Lamp current/mA | 60 |
| Argon flow rate/(mL·min$^{-1}$) | 800 |
| Sampling/injection pump speed/(r·min$^{-1}$) | 100 |
| Measuring mode | Std. curve |
| Read time/s | 18 |
| Delay time/s | 3 |
| Injection time/s | 23 |
| Sampling time/s | 8 |
| Signal recording mode | Peak area |

**收稿日期**: 2007-08-02, **修订日期**: 2007-11-06
**基金项目**: 国家自然科学基金项目(40771185), 福建省基金项目(D0610016), 福建省科技计划重点项目(207Y0028)和集美大学创新团队基金项目(2006A003)资助
**作者简介**: 李连平, 1981年生, 集美大学生物工程学院硕士研究生 *通讯联系人 e-mail: zhyhuang@jmu.edu.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

### 1.3 样品

蔬菜样品均购自厦门集美农贸市场，主要有大蒜头，黄花菜(半干品)，金针菇，甘蓝，草菇。新鲜蔬菜先用自来水清洗，再用超纯水润洗，去除不可食部分，切片后于 50 ℃烘干 48 h。冷却后将样品研细备用。

### 1.4 总硒的测定

准确称取的样品粉末一定量于微波消解罐中，加入 5 mL 浓硝酸于室温下预消解过夜，第二天再经微波消解 7 min。冷却后取出消解罐，加入 5 mL 6 mol·$L^{-1}$ HCl，于电热板上加热赶酸至约剩 2 mL，冷却后加入 1 mL 10%($\rho$)的铁氰化钾溶液，用 4 mol·$L^{-1}$ HCl 定容至 25 mL，在优化的测量条件下用 HG-AFS 方法测定样品中硒的总量。每种样品平行测定 3 份，同时做空白实验。

### 1.5 无机硒和有机硒的测定

无机硒的提取[13]：取样品粉末 5.0 g 于塑料离心管中，加入 20 mL 超纯水并混合均匀，于沸水浴中加热 30 min，再经超声波提取 20 min。冷却后，离心(4 000 r·$min^{-1}$) 10 min，取上清液，残渣再重复提取一次。合并上清液并水浴蒸去大部分水，按 1.4 步骤消解以消除提取物中有机物质的干扰，所得消解液用以测定的硒即为无机硒含量。将总硒减去无机硒作为有机硒含量。残渣按 1.4 步骤消解测定硒含量，以验证硒形态测定的准确性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 载流盐酸和硼氢化钾浓度的影响

实验考察了载流 HCl 和 $KBH_4$ 浓度对荧光强度($I_F$)的影响。结果如图 1 所示。随着 HCl 和 $KBH_4$ 浓度的增大，$I_F$ 值都随之增大。但两者的浓度太高时，$I_F$ 值反而降低，且不稳定，这是因为产生的氢气量太大而稀释硒原子蒸气浓度造成的。当 HCl 浓度在 2.0 mol·$L^{-1}$时，$I_F$ 值大且稳定；而 $KBH_4$ 的最佳浓度为 10 g·$L^{-1}$。因此，本实验选择载流 HCl 和 $KBH_4$ 的浓度分别为 2.0 mol·$L^{-1}$和 10 g·$L^{-1}$。

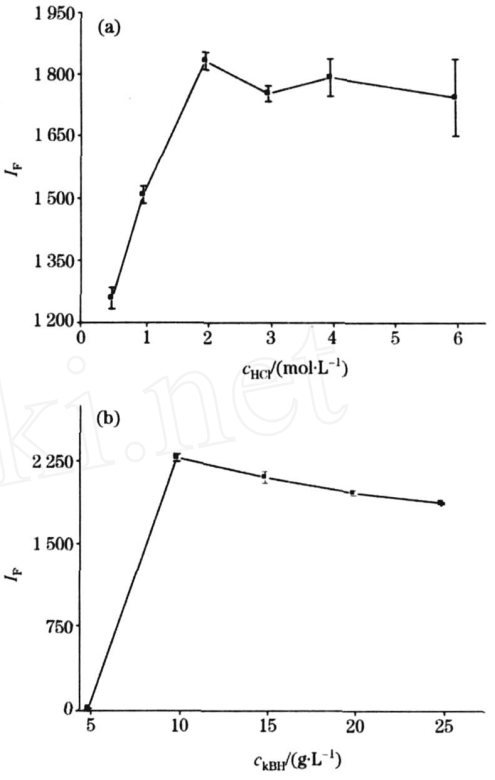


**Fig. 1 Effect of the different concentrations of HCl (a) and $KBH_4$ (b) on the fluorescence signal**

### 2.2 样品介质酸种类和浓度的影响

由于在消解过程样品中硒都以六价的形式存在，而盐酸可以将 Se(Ⅵ)还原为 Se(Ⅳ)，以便在载流中反应生成氢化物($H_2Se$)。实验考察了介质 HCl 浓度对测定的影响，结果如图 2a 所示。$I_F$ 值随 HCl 浓度的增大而增大，但高于 4 mol·$L^{-1}$时，荧光强度变化不大。因此，实验采用 4.0 mol·$L^{-1}$ HCl 作为样品介质酸度。

此外，由于样品消解需要加入一定量的硝酸，实验考察了介质中不同 $HNO_3$ 浓度对测量的影响。从图 2(b)可看出，$I_F$ 值随介质中 $HNO_3$ 浓度的增大而降低，与介质中不含 $HNO_3$ 相比较，当 $HNO_3$ 浓度达到 0.6 mol·$L^{-1}$时，$I_F$ 值降低了 23.8%。因此，样品消解后需将溶液中残留的硝酸赶尽，才能保证测量的准确性。

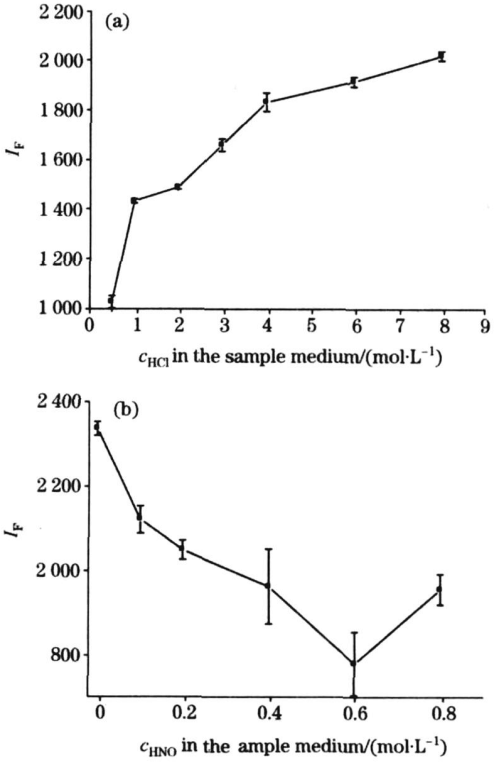


**Fig. 2 Effect of the different concentrations of HCl (a) and $HNO_3$ in the sample medium (b) on the fluorescence signal**

### 2.3 干扰的排除

用 HG-AF 法测定硒时，介质中 Cu 的干扰较为严重。实验发现在测量溶液中加入 10%铁氰化钾溶液 1 mL，可基本消除 Cu 的干扰。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

### 2.4　几种蔬菜样品中硒总量和硒形态的测定结果

利用外标法分别测定了大蒜、黄花菜等几种蔬菜样品中的硒含量，结果如表 2 所示。从表 2 中可以看出，蔬菜中硒的含量普遍较低。如本实验测定的普通大蒜样品与富硒大蒜(含硒 0.179 μg·g$^{-1}$)相比[14]，普通大蒜的硒含量仅为富硒大蒜的 16 %。但草菇的硒含量可高达 0.151 μg·g$^{-1}$，可称是一种富含硒的食用菌。

Table 2　Result of total amounts of Se in vegetables

| 样品 | 硒含量/ (μg·g$^{-1}$ dry weight) |
|---|---|
| 大蒜(Garlic) | 0.028 2 ±0.001 5 |
| 黄花菜(Day lily buds) | 0.048 7 ±0.001 6 |
| 金针菇(Needle mushroom) | 0.044 1 ±0.005 1 |
| 甘蓝(Cabbage) | 0.024 9 ±0.002 5 |
| 草菇(Straw mushroom) | 0.151 ±0.020 |

注：平均值($\bar{X}$) ±标准偏差($SD$)

实验在测定样品总硒含量的基础上，还测定了几种样品中的硒形态。按实验方法先测定样品中的无机硒，再通过差减法计算有机硒含量，结果如表 3 所示。所测定的三种样品中无机硒的含量均低于有机硒，说明蔬菜中硒主要以有机形态的方式存在。

### 2.5　检测限和加标回收率

按硒总量的测定方法，以超纯水代替样品进行 8 份空白试验，根据空白值计算标准偏差(σ)，按 3σ计算出方法的检出限为 0.35 ng·g$^{-1}$。

实验采用加标回收率的试验考察了测量方法的准确性，通过向每个样品中添加 3 个加标水平的测定，计算出回收率在 97.6 %～101 %之间，说明方法准确度较高。

Table 3　Amounts of inorganic and organic selenium in vegetables

| 样品 | 无机硒含量/ (μg·g$^{-1}$ dry weight) | 有机硒含量/ (μg·g$^{-1}$ dry weight) | 总硒含量/ (μg·g$^{-1}$ dry weight) |
|---|---|---|---|
| 大蒜 | 0.011 7 ±0.001 7 | 0.017 5 ±0.003 2 | 0.029 2 |
| 黄花菜 | 0.007 9 ±0.001 6 | 0.038 6 ±0.004 0 | 0.046 5 |
| 草菇 | 0.005 1 ±0.001 7 | 0.144 ±0.004 | 0.149 |

注：平均值($\bar{X}$) ±标准偏差($SD$)

## 3　结　论

在优化的仪器条件下，采用氢化物发生-原子荧光光谱法测定几种蔬菜样品中硒的总量及硒的无机和有机形态含量。实验对仪器参数进行了优化，特别考察了载流中硼氢化钾浓度和 HCl 浓度、测量介质中 HCl 浓度和残留 $HNO_3$ 浓度对测定的影响，加入少量的铁氰化钾可消除样品中 Cu 的干扰。几种蔬菜的测定结果表明，普通蔬菜中硒的含量较低，而草菇的硒含量较高。此外，蔬菜中硒主要以有机硒形态存在。实验利用样品空白测定方法的检出限为 0.35 ng·g$^{-1}$，加标回收率为 97.6 %～101 %。

## 参　考　文　献


[1] Pappa E C, Pappas A C, Surai P F. Science of the Total Environment, 2006, 372: 100.

[2] YANG Guang-qi(杨光圻). Nutrition Journal(营养学报), 1992, 14(3): 218.

[3] Arnault I, Auger J. Journal of Chromatography A, 2006, 1112(1-2): 23.

[4] QIU Jian-hua, WANG Qiu-quan, HUANG Ben-li(邱建华, 王秋泉, 黄本立). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(9): 1692.

[5] Abdulah R, Miyazaki K, Nakazawa M, et al. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2005, 19(2-3): 141.

[6] Capelo J L, Fernandez C, Pedras B, et al. Talanta, 2006, 68 (5): 1442.

[7] Smrkolj P, Stibilj V. Analytica Chimica Acta, 2004, 512: 11.

[8] Lavilla I, Gonzáez-Costas J M, Bendicho C. Analytica Chimica Acta, 2007, 591: 225.

[9] KONG Ying-ge, ZHOU Xiao-bo(孔英戈, 周小波). Phys. Tes. and Chem. Anal. Part/B(理化检验-化学分册), 2006, 42(4): 297.

[10] GAO Jian-zhong, QIN Shun-yi, HUANG Ke-he(高建忠, 秦顺义, 黄克和). Chinese Journal of Analytical Science(分析科学学报), 2006, 22(2): 157.

[11] Gómez-Ariza J L, Caro de la Torre M A, Girádez I, et al. Analytica Chimica Acta, 2004, 524: 305.

[12] Vinas P, López-García I, Merino-Merono B, et al. Analytica Chimica Acta, 2005, 535: 49.

[13] CUI Hai-rong, CHEN Jian-hua, GU Jia-yue, et al(崔海容, 陈建华, 谷家越, 等). Chinese Journal of Analytical Science(分析科学学报), 2005, 21(5): 545.

[14] HA Jing, SUN Han-wen, KANG Wei-jun, et al(哈　婧, 孙汉文, 康维钧, 等). Chinese Journal of Food Science(食品科学), 2007, 28(2): 247.


© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

# Total Selenium and Se Species in Vegetables Measured with Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry

LI Lian-ping[1], FAN Wei[1], HUANG Zhi-yong[1*], ZHUANG Zhi-xia[2]

1. College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China

2. The Key Laboratory of Analytical Science of Ministry of Education, Xiamen University, Xiamen 361005, China

**Abstract** The amounts of total selenium and Se-species including organic and inorganic selenium in vegetables were measured with the method of hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. The instrumental parameters and analytical conditions were optimized. In order to obtain the maximum fluorescence signal, the effects of the concentrations of HCl and $KBH_4$ in carrier solution, the concentrations of HCl and HNO3 in sample medium, and the interference from foreign ion (Cu) on the signal were mainly investigated. Under the optimum conditions, the detection limit estimated with 3-fold standard deviation by 11 replicates of procedure blank was 0.35 ng·g$^{-1}$. The recovery tested by adding standards ranged from 97.6% to 101%. After being digested with $HNO_3$ by microwave, selenium in several kinds of vegetables was measured. The results indicated that the total amounts of Se in the vegetable samples were low except straw mushroom, in which the content of Se was 0.151 μg·g$^{-1}$ (dry weight). In addition, the species of organic selenium were the main existing forms in vegetables.

**Keywords** Hydride generation-atomic fluorescence spectrometry; Selenium; Speciation; Vegetable

(Received Aug. 2, 2007; accepted Nov. 6, 2007)

* Corresponding author

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net