

原子荧光法测定并比较 4 种金枪鱼背部肉中硒的含量

王任, 吴鸳鸯, 周明昊, 程巧鸳

(浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310002)

摘要 **目的:** 建立金枪鱼背部肉中硒含量的原子荧光光度测定方法, 测定并比较 4 种金枪鱼背部肉中硒含量。**方法:** 样品加酸经过微波消化后, 用硼氢化钠作还原剂, 还原成硒化氢 (H_2Se), 由载气带入原子化器中进行原子化, 在硒特制空心阴极灯照射下, 基态硒原子被激发至高能态, 在去活化回到基态时, 发射出特征波长的荧光, 其荧光强度与硒含量成正比。选择体系: 硒灯电流 60 mA; 负高压 300 V; 硼氢化钠浓度 1.5%; 载气流量 $400 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 屏蔽气流速 $600 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。**结果:** 硒的浓度在 $3.0 \sim 30.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间线性关系良好 ($r=0.9997$), 检出限为 $0.16 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 回收率在 92.6%~101.8% 之间。蓝鳍金枪鱼, 长鳍金枪鱼, 黄鳍金枪鱼和大眼金枪鱼背部肉中硒的含量分别为 1.48、0.904、0.909 和 $1.23 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。**结论:** 该方法能准确检测金枪鱼背部肉中硒的含量, 为人们选择富硒食品提供了参考。

关键词: 食品检测; 硒; 金枪鱼; 蓝鳍金枪鱼; 长鳍金枪鱼; 黄鳍金枪鱼; 大眼金枪鱼; 微量元素; 原子荧光法

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2017)10-1871-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.10.19

Comparison of selenium content in four kinds of tuna back meat by atomic fluorescence spectrometry

WANG Ren, WU Yuan-yang, ZHOU Ming-hao, CHENG Qiao-yuan

(Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Department of Health Food and Cosmetic, Hangzhou 310002, China)

Abstract Objective: To establish a determination method of selenium contents in tuna back meat by atomic fluorescence spectrometry and compare the selenium contents in four kinds of tuna back meat. **Methods:** Sample was added with acid and then digested by microwave, hydrogen selenide (H_2Se) was generated by using sodium borohydride as the reducer and was introduced with the carrier into the atomizer for atomization. Ground state selenium atoms were excited to high-energy state under irradiation of a hollow cathode lamp of selenium, and emitted fluorescence at characteristic wavelength when returning to the ground state after deactivation. The fluorescence intensity was positively proportional to the content of selenium. System: lamp current 60 mA; negative pressure 300 V; reducing agent NaBH_4 concentration 1.5 %; carrier gas flow rate $400 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; shielding gas

第一作者 Tel: 13656714296; E-mail: mention123456@aliyun.com

flow rate $600 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. **Results:** Good linearity was presented within the selenium concentration range of $3.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ – $30.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9997$). The detection limit was $0.16 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. Recoveries were within 92.6%–101.8%. The selenium contents of *T. thynnus*; *T. alalunga*; *T. albacares*; *T. obesus* tuna back meat were $1.48 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $0.904 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $0.909 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $1.23 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The method could accurately determine the selenium content of tuna back meat, which provided a reference for people choosing selenium enriched food.

Keywords: food detection; selenium; tuna; *T. thynnus*; *T. alalunga*; *T. albacares*; *T. obesus*; microelement; atomic fluorescence spectrometry

硒是人体必需的 15 种微量元素之一,参与体内许多重要的代谢过程,是谷胱甘肽过氧化物酶的重要组成部分^[1]。硒元素在预防疾病和提高人体免疫方面有着重要的作用^[2],比如防癌作用,预防心血管疾病和心肌梗塞的发生,抗衰老作用,对重金属有解毒作用等^[3]。缺少硒元素会导致大骨节病和克山病,但是摄入过多的硒会对人体健康造成危害^[4]。金枪鱼是富硒食物之一。近年来,有关金枪鱼的营养研究主要集中于氨基酸组成及含量,不饱和脂肪酸、蛋白质的测定等方面^[5-6],检测及比较不同种类的金枪鱼肉中硒的含量研究较少。

硒的检测方法主要有荧光法、原子吸收光谱法和原子荧光法等^[7-10]。荧光法的优点是准确,但存在试剂毒性大,显色物质不稳定,操作步骤烦琐等缺陷^[11];原子吸收火焰法的缺点是灵敏度低,并且石墨炉法有基体干扰^[12];原子荧光法测定硒克服了以上方法的缺点,是一种简便、灵敏度高的检测方法。原子荧光法原理是样品加酸经过微波消化后,继续加入盐酸溶液($6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)高温湿法消解,将样品中的六价硒全部还原成四价硒,硼氢化钠作还原剂将四价硒还原成硒化氢(H_2Se),由载气带入原子化器中进行原子化,在硒特制空心阴极灯照射下,基态硒原子被激发至高能态,在去活化回到基态时,发射出特征波长的荧光,其荧光强度与硒含量成正比。

本文以蓝鳍金枪鱼(*T. thynnus*)、长鳍金枪鱼(*T. alalunga*)、黄鳍金枪鱼(*T. albacares*)和大眼金枪鱼(*T. obesus*)作为研究对象,采用原子荧光法检测并比较其背部硒的含量。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

北京吉天仪器有限公司 AFS-9130 双道原子荧光分光光度计,配有计算机处理系统,硒空心阴极灯;CEM 公司 Mars 5 微波消解仪;梅特勒公司 AE-

163 电子天平;硝酸、盐酸为优级纯,氢氧化钠、硼氢化钠(98%)、铁氰化钾为分析纯,实验用水为超纯水;硒标准液:国家标准物质 GBW(E)080215, $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;载流:盐酸溶液 5%(V/V)。

1.2 试样处理

黄鳍金枪鱼(远洋打捞, -40°C 运输保存)试样背部肉,搅拌机搅拌,精密称定试样(约 0.2 g)于消化管中,加硝酸 6 mL ,过氧化氢 1 mL ,微波消化仪消化(见表 1),冷却后转入石英锥形瓶中,继续加热至近干,加入盐酸溶液($6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 5 mL ,继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现,完全将六价硒还原成四价硒;冷却,转移至 15 mL 刻度离心管中,定容至 10 mL ,加盐酸 2 mL ,混匀,移取 2.0 mL 于 15 mL 刻度离心管中,加铁氰化钾水溶液($100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 1 mL ,加 5%(V/V) 盐酸溶液定容至 10 mL ,放置 30 min 后待测。同时做待测样品平行、试剂空白实验。

表 1 微波消解程序

Tab. 1 Operating parameter of microwave digestion

步骤 (step)	功率 (power)/ W	升温时间 (temperature rise time)/min	温度 (temperature)/ $^\circ\text{C}$	保持时间 (holding time)/min
1	1 600	5	120	5
2	1 600	5	165	15
3	1 600	5	190	20

1.3 标准曲线的制备

精密移取硒标准液 10 mL ,以超纯水定容至 100 mL ($10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),精密移取 10 mL ,以超纯水定容至 100 mL ($1 000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$),移取 1.5 mL ,以超纯水定容至 50 mL ,即得 $30.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液。仪器自动稀释 $30.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准溶液,即得 3.0 、 12.0 、 18.0 、 24.0 、 $30.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,放置 30 min 后测定,得到标准曲线。

2 结果与讨论

2.1 实验条件优化

优化试验在硒质量浓度为 $5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液, $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 铁氰化钾溶液, 5% (V/V) 盐酸溶液作载流的反应体系中进行, 对硼氢化钠浓度、灯电流、负高压、屏蔽气流和载气流量工作条件进行试验。

2.1.1 硼氢化钠浓度的选择 硼氢化钠还原剂的浓度对硒的测定有着重要的影响, 可将四价硒还原成二价硒。硼氢化钠浓度太低则反应不完全, 灵敏度降低; 浓度太高则会由于氢气稀释硒原子蒸气而使灵敏度降低, 反应不稳定^[13-14]。本实验考察还原剂 1%、1.5%、2%、2.5% 硼氢化钠溶液, 结果(图1)表明, 随着硼氢化钠浓度增大, 荧光强度增大, 当硼氢化钠浓度为 1.5% 或 2%, 荧光强度趋于稳定, 因此选用 1.5% 硼氢化钠溶液作还原剂。

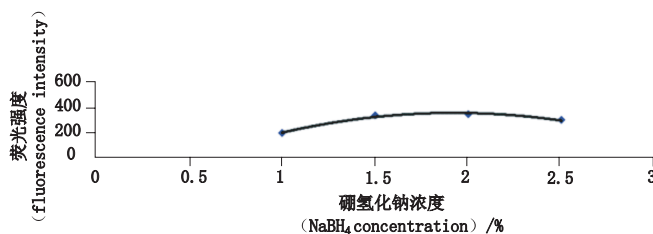


图1 硼氢化钠浓度对荧光强度的影响

Fig. 1 Effect of sodium borohydride concentration on fluorescence intensity

2.1.2 空心阴极灯电流的选择 灯电流大小与待测元素测定的荧光信号强度、信噪比有密切关系。在一定范围内 (50~100 mA), 随着灯电流增大, 仪器灵敏度增大, 测得的荧光信号越强, 但灯电流过大会引起自吸, 且噪音增大, 并且降低灯的使用寿命。由图2可知, 当阴极灯的电流为 50~100 mA 时, 可以得到较好的线性关系, 荧光强度相对较大。考虑到方法的实用性和灯的使用寿命, 选用 60 mA 灯电流。

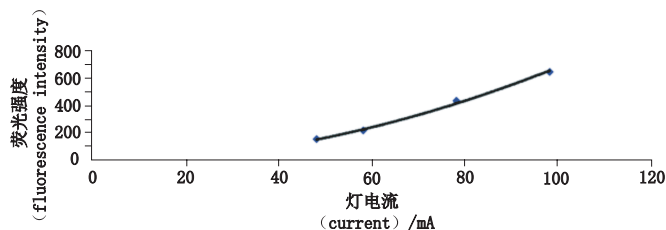


图2 空心阴极灯电流对荧光强度的影响

Fig. 2 Effect of hollow cathode lamp current on fluorescence intensity

2.1.3 光电倍增管负高压的选择 负高压的高低与测定的荧光强度、信噪比有密切的关系, 在一定范围内 (负高压 260~320 V), 负高压越高, 灵敏度越高。但是太高的负高压会增加暗电流和噪声, 基线漂移, 影响其稳定性^[15], 且过高的负高压可缩短光电倍增管的使用寿命。由图3可知, 负高压为 260~320 V 时, 荧光强度相对稳定, 灵敏度高, 能够满足分析要求。因此, 在保证实验灵敏度的前提下, 本方法选定负高压为 300 V。

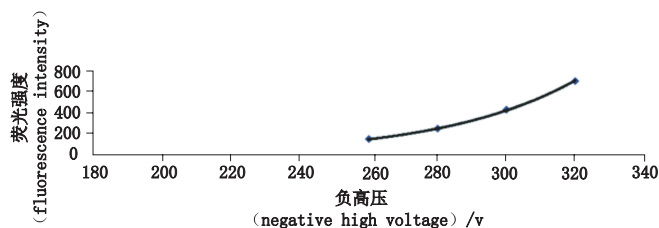


图3 光电倍增管负高压对荧光强度的影响

Fig. 3 Effect of negative high voltage on fluorescence intensity of photo multiplier tube

2.1.4 屏蔽气流的选择 屏蔽气作为外围保护气, 流量小时会导致氩氢火焰肥大, 信号不稳定; 气流大时会导致氩氢火焰细长, 信号不稳定且灵敏度降低^[16]。适当的屏蔽气可阻止空气干扰氩氢火焰, 保证火焰形状稳定。本实验考察屏蔽气流速 400、600、800、1 000 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 保证实验灵敏度的前提下, 选择 600 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 结果见图4。

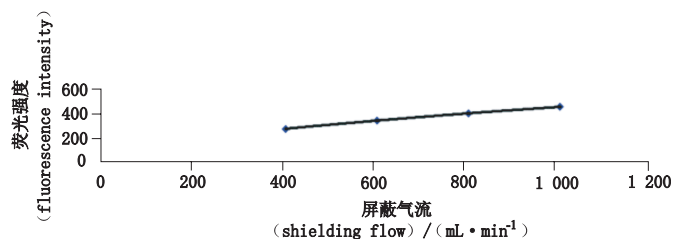


图4 屏蔽气流对荧光强度的影响

Fig. 4 Effect of shielding gas flow on fluorescence intensity

2.1.5 载气流量的选择 合适的载气流速对样品检出信号具有重要作用, 过小的流速不利于氢氩焰的稳定, 难以将氢化物迅速带入原子化器, 测量的重现性差, 并且容易产生记忆效应; 过高的载气会冲稀气态原子的浓度, 测量的荧光值降低。本实验考察载气流量 300、400、500、600 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。保证实验灵敏度的前提下, 选择 400 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。结果见图5。

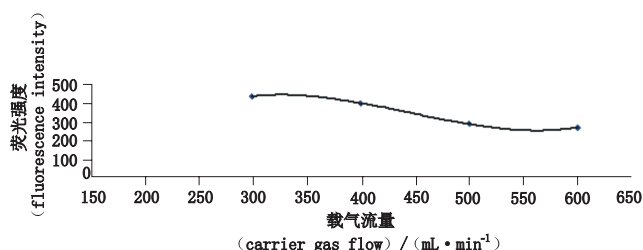


图5 载气流量对荧光强度的影响

Fig. 5 Effect of carrier gas flow rate on fluorescence intensity

以上仪器条件是在本方法的线性范围内选择的,如改变线性范围,仪器条件可在适当范围内调整。优化后仪器条件:硒灯电流 60 mA;负高压 300 V;载气流量 400 mL · min⁻¹;屏蔽气流 600 mL · min⁻¹。测量方式:标准曲线法;读数方式:峰面积;延迟时间 1 s,读数时间 7 s。

2.1.6 硒标准曲线、检出限、精密度 取 3.0、12.0、18.0、24.0、30.0 ng · mL⁻¹ 硒标准溶液,测定其荧光强度,并进行回归分析。结果,线性范围 3.0~30.0 ng · mL⁻¹,硒线性方程:

$$Y=60.203\ 9X+22.732\ 6\quad r=0.999\ 7$$

根据本仪器设定的检出限测定程序,连续测定试剂空白溶液(不加待测样品的试剂空白,按“1.2”项下方法制备的溶液)11次,根据公式 $DL=3\sigma/K$,自动计算检出限为 0.16 μg · L⁻¹。对标准溶液(5 ng · mL⁻¹)连续测定 11 次, RSD 为 1.7%。

2.1.7 加样回收率 精密称定黄鳍金枪鱼样品适量,加入低、中、高 3 种浓度的标准溶液适量,按照“1.2”项下方法操作,制备供试溶液,用本文优化后的条件进行测定,测得加样回收率结果见表 2。回收率范围为 92.6%~101.8%,准确度较好。

表 2 回收率结果 (n=3)

Tab. 2 Results of recoveries

本底量 (original) / (ng · mL ⁻¹)	加标量 (added) / (ng · mL ⁻¹)	测定量 (found) / (ng · mL ⁻¹)	回收率 (recovery) / %
3.5	5.0	8.36	97.2
		8.13	92.6
		8.59	101.8
	12.0	15.27	98.1
		15.66	101.3
		15.19	98.4
		21.39	99.4
	18.0	21.30	98.9
		21.17	98.2

2.1.8 4 种金枪鱼背部肉硒含量测定 对蓝鳍金枪鱼、长鳍金枪鱼、黄鳍金枪鱼、大眼金枪鱼背部肉硒进行测定,并比较 4 种金枪鱼背部肉中硒的含量。由表 3 可知,蓝鳍金枪鱼背部肉硒的含量最高,其他 3 种金枪鱼背部肉硒含量由高到低依次为大眼金枪鱼、黄鳍金枪鱼、长鳍金枪鱼。

表 3 4 种金枪鱼背部肉中硒的含量 (n=3)

Tab. 3 Content of selenium in the back meat of four kinds of tuna

样品 (sample)	测定量 (found) / (mg · kg ⁻¹)	平均值 (average) / (mg · kg ⁻¹)	RSD / %
黄鳍金枪鱼 (<i>T. albacares</i>)	0.909	0.909	4.6
	0.903		
	0.914		
蓝鳍金枪鱼 (<i>T. thynnus</i>)	1.47	1.48	1.4
	1.48		
	1.48		
长鳍金枪鱼 (<i>T. alalunga</i>)	0.911	0.904	0.67
	0.902		
	0.900		
大眼金枪鱼 (<i>T. obesus</i>)	1.22	1.23	0.59
	1.22		
	1.25		

3 结论

硒是人体必需的重要微量元素,成人每天通过尿液、粪便、汗液和毛发等排出的硒约为 50 μg^[11],这些硒的损失主要通过摄入食物中所含的微量硒来补充,硒的推荐日摄入量被限制在每人 50~200 μg 之间^[17]。由本文实验结果可知,金枪鱼背部肉中硒的含量极为丰富,具有很高的营养价值,是补硒的理想物质。本文建立了原子荧光法测定金枪鱼背部肉中硒含量的测定方法。该方法具有简便、快速、准确和灵敏等特点,可用于不同品种金枪鱼肉中的硒的测定。

参考文献

- [1] 刘丽娜,徐发婷,赵方红,等. 氢化物发生-原子荧光光谱法测定牛肉中的硒含量[J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(9): 2399
- LIU LN, XU FT, ZHAO FH, et al. Detection of selenium content in beef by hydride fluorescence spectrometry [J]. China Anim Husb Vet Med J, 2015, 42(9): 2399

- [2] 朱敬萍,梅光明,张小军,等. 原子荧光法测定浙江近岸养殖海水中的微量元素硒[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2016, 35(3): 229
ZHU JP, MEI GM, ZHANG XJ, *et al.* Determination of trace element selenium in Zhejiang coastal mariculture seawater by atomic fluorescence spectrometry[J]. J Zhejiang Ocean Univ (Nat Sci), 2016, 35(3): 229
- [3] 叶韵青. 富硒酵母类保健食品中有机硒测定方法[J]. 轻工科技, 2013(4): 7
YE YQ. Method for the determination of organic selenium in enriched yeast from health food[J]. J Light Ind, 2013(4): 7
- [4] 黄田富,胡志彪,刘金仙. 基于氢化原子荧光法的苹果中Se形态分析研究[J]. 井冈山大学学报(自然科学版), 2015(5): 33
HUANG TF, HU ZB, LIU JX. Speciation analysis of selenium in apple by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry[J]. J Jinggangshan Univ (Nat Sci), 2015(5): 33
- [5] 罗殷,王锡昌,刘源. 黄鳍金枪鱼食用品质的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 476
LUO Y, WANG XC, LIU Y. Study on edible quality of yellowfin (*Tunathunnus albacares*) dorsal meat[J]. Food Sci, 2008, 29(9): 476
- [6] 杨金生,霍健聪,夏松养. 不同品种金枪鱼营养成分的研究与分析[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2013(5): 393
YANG JS, HUO JC, XIA SY. The analysis of nutrients of different tuna[J]. J Zhejiang Ocean Univ (Nat Sci), 2013(5): 393
- [7] 张惠峰,李霞,王海. 石墨炉原子吸收法对水产品中硒的测定及不确定度评价[J]. 中国渔业质量与标准, 2016, 6(3): 49
ZHANG HF, LI X, WANG H. Determination of Se in aquatic products by graphite furnace atomic absorption spectroscopy and the evaluation of the uncertainty[J]. Chin Fish Qual Stand, 2016, 6(3): 49
- [8] 陈晓霞,赵叶,杨晓华. 微波消解-原子荧光光谱法测定粮食中硒元素的方法研究[J]. 粮食与饲料工业, 2016, 12(1): 68
CHEN XX, ZHAO Y, YANG XH. Determination of the selenium content in grains by microwave digestion-atomic fluorescence spectrometry[J]. Cereal Feed Ind, 2016, 12(1): 68
- [9] 董娜,霍岩,丛铎,等. Vulcan 84 全自动样品消解和稀释系统-原子荧光光度法测定大米中的硒含量[J]. 粮食与饲料工业, 2014, 12(8): 64
DONG N, HUO Y, CONG D, *et al.* Determination of selenium content in rice by using the system of Vulcan 84 automatic digestion and dilution of sample and atomic fluorescence spectrometry[J]. Cereal Feed Ind, 2014, 12(8): 64
- [10] 卢丽,韦晓群,刘二龙,等. 微波消解-氢化物发生原子荧光光谱法测定婴儿配方乳粉中硒含量[J]. 食品科学, 2014, 35(20): 208
LU L, WEI XQ, LIU EL, *et al.* Determination of selenium in infant formulas by microwave digestion-hydride generation atomic fluorescence spectrometry[J]. Food Sci, 2014, 35(20): 208
- [11] 陈国友. 流动注射氢化物发生电热石英管原子吸收光谱法测定大米中硒[J]. 黑龙江农业科学, 2002(5): 52
CHEN GY. Analysis of selenium in rice by FI-HG-AAS method[J]. J Heilongjiang Agric Sci, 2002(5): 52
- [12] 张坤,彭科怀,杨长晓. 原子荧光法测定食品中的硒[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(8): 1915
ZHANG K, PENG KH, YANG CX. Determination of selenium in food by atomic fluorescence spectrometry[J]. Chin J Health Lab Technol, 2010, 20(8): 1915
- [13] 程燕,刘静,赵长盛,等. 原子荧光光谱法测定野猪肉中的硒含量[J]. 山东科学, 2012, 25(2): 31
CHENG Y, LIU J, ZHAO CS, *et al.* Determination of Se content in wild meat with atomic fluorescence spectrometry[J]. Shandong Sci, 2012, 25(2): 31
- [14] 姜新,刘德晔,刘华良. 湿法回流消解-氢化物-原子荧光光谱法测定营养强化剂中总硒含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(5): 1808
JIANG X, LIU DY, LIU HL. Determination of total selenium in selenium nutrition enhancer by refluxing wet digestion-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry[J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(5): 1808
- [15] 赵灿方,康立,李文嘉,等. 原子荧光光谱法同时测定水产品中砷和硒[J]. 预防医学论坛, 2015(2): 124
ZHAO CF, KANG L, LI WJ, *et al.* Simultaneous determination of arsenic and selenium in seafood by atomic fluorescence spectrometry[J]. J Prev Med Tribune, 2015(2): 124
- [16] 赵银宝. 氢化物发生-原子荧光法测定富硒羊肉中的硒[J]. 宁夏农林科技, 2012, 53(12): 85
ZHAO YB. Detection of selenium in selenium enriched mutton by hydride generation atomic fluorescence spectrometry[J]. J Ningxia Agric Fores Sci Technol, 2012, 53(12): 85
- [17] 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
XU QB, LU D, ZHANG H. Determination of selenium and its distribution in aquatic products by hydride generation atomic fluorescence spectrometry after microwave digestion[J]. Acta Nutr Sin, 2011, 33(1): 95

(本文于2016年11月19日收到)