

石墨炉原子吸收法测定大鼠饮用富硒绿茶后硒元素在大鼠组织中的含量

潘虹^{1,2,3}, 黄琳艳¹, 李义¹, 石富国⁴

(1. 遵义医学院药学院, 贵州遵义 563000) (2. 遵义市临床药学重点实验室, 贵州遵义 563000)

(3. 遵义医学院凤冈县联合生物资源健康利用研究所, 贵州遵义 563000)

(4. 遵义医学院基础药理教育部重点实验室, 贵州遵义 563000)

摘要: 通过建立测定大鼠血浆、心脏、肝脏、睾丸、胰腺、肺、指甲、脑、肾脏和肌肉组织中硒含量的石墨炉原子吸收法, 测定大鼠饮用富硒绿茶后硒元素在各组织中的含量和分布情况。将大鼠随机分为富硒绿茶组 (10 g/kg)、非富硒绿茶组 (10 g/kg) 和空白组, 每组 6 只, 连续灌胃 30 d, 每天一次。采用湿法消化法处理大鼠组织样品, 以石墨炉原子吸收法测定其硒的含量。采用标准加入法制备工作曲线, 经方法学验证, 各组织硒的含量在 10~100 ng/mL 范围内线性关系良好 ($r \geq 0.99136$), 批间和批内精密度小于 12.2%, 平均准确度 89.5%~106.9% 之间, 平均回收率 86.1%~95.1% 之间; 组织分布研究表明富硒绿茶组与空白组相比, 其心脏、睾丸、肺、肝脏、肾脏和胰腺的硒含量有明显增加; 与非富硒绿茶组比, 其胰腺的硒含量有明显增加。本研究通过优化组织样品预处理过程和分别为各组织制备工作曲线所建立的石墨炉原子吸收法准确度好, 重复性高, 可以适用于测定大鼠饮用富硒绿茶后各组织中硒的含量, 大鼠饮用富硒绿茶后能够吸收其硒元素, 各组织中的硒含量在安全范围之内。

关键词: 石墨炉; 原子吸收; 硒; 组织分布; 富硒绿茶

文章编号: 1673-9078(2017)7-231-237

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.7.033

Determination of Selenium in Rat Tissues after Oral Administration of Selenium-enriched Green Tea by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

PAN Hong^{1,2,3}, HUANG Lin-yan¹, LI Yi¹, SHI Fu-guo⁴

(1.College of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China) (2.Key Laboratory of Clinical Pharmacy of

Zunyi City, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China) (3.Biological Resources and Health Utilization Institute

Combined Fenggang County with Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China) (4.Key Laboratory of Basic

Pharmacology of Ministry of Education, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

Abstract: A method for the determination of selenium (Se) concentrations in rat plasma, heart, liver, testicle, pancreas, lung, nail, brain, kidney, and muscle by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) was developed and validated. The content and distribution of selenium in rat tissues after oral administration of selenium-enriched green tea were then determined. In this assay, male rats were randomly divided into selenium-enriched group, non-selenium-enriched group, and blank group ($n=6$), which were given 10 g/kg selenium-enriched green tea, non-selenium-enriched green tea, and 10 mL/kg ultra-pure water once per day for 30 d, respectively. The rat tissues were wet-digested and the selenium contents were determined by GFAAS. The standard curve was constructed using the standard addition method, and the result of method validation showed that the developed GFAAS method exhibited a good linearity over the concentration range of 10~100 ng/mL ($r \geq 0.99136$). The intra-batch and inter-batch precision were all within 12.2% at three concentration levels. The mean accuracies and recoveries

收稿日期: 2016-12-30

基金项目: 贵州省科技厅社会攻关计划 (黔科合[2016]支撑 2854); 贵州省科技厅联合基金项目 (黔科合 LH 字[2015]7546 号); 遵义医学院 2015 年度自然科学招标课题 (F-785); 贵州省科技合作专项资金项目 (省市科合[2015]53 号)

作者简介: 潘虹 (1989-), 女, 讲师, 研究方向: 体内药物分析和药物代谢动力学

通讯作者: 石富国 (1986-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 药物体内过程与作用靶标研究

were 89.5%~106.9% and 86.1%~95.1%, respectively. The results of selenium distribution in tissues showed that the selenium contents in rat heart, testicle, lung, liver, kidney, and pancreas in the selenium-enriched green tea-treated group increased significantly compared to those of the blank group, and the selenium level in the pancreas increased significantly compared with that of the non-selenium-enriched green tea-treated group. In conclusion, the developed GFAAS method of optimizing sample preparation and constructing the standard curve for each tissue is accurate and reproducible, and is suitable for the determination of selenium content in rat tissues after administration of selenium-enriched green tea. The selenium in the enriched green tea could be absorbed by rats, and the selenium contents in all rat tissues were lower than the toxic level.

Key words: graphite furnace; atomic absorption spectrometry; selenium; tissue distribution; selenium-enriched green tea

硒为生命必需的微量元素, 对人体生长发育和正常生理功能的维持有着极其重要的调控作用。硒在人体内总量约为 14~20 mg, 在肝脏、胰腺、肾脏、心脏、脾、牙釉质、指甲和眼球等器官中含量较高^[1,2]。硒在人体内的生理功能包括^[3]: 参与谷胱甘肽过氧化物酶, 磷酸过氧化氢谷胱甘肽过氧化物酶, 辅酶 A, 辅酶 Q 和 5'-脱碘酶等酶的合成; 合成含硒蛋白质; 对重金属的解毒作用; 维持正常心脏组织结构; 增强机体的免疫功能以及防治癌症等。

1988 年由中国营养学会提出的中国居民膳食营养标准供给量中 7 岁以上人群硒需要量为 50 μg/人/d^[2]。另据报道, 人对硒的最低需要量为 17 μg/人/d, 生理需要量为 40 μg/人/d^[4], 而中国 2/3 地区硒摄入量低于最低推荐值。补硒的主要途径包括食用富硒食物、服用含硒制剂如亚硒酸钠和不吸烟^[5]。然而, 当硒摄入量超过 100~200 μg/(kg/d), 会造成硒中毒^[6]。

目前, 有多种测定硒的方法报道, 如催化动力学光度法^[7]、原子荧光光谱法^[8]、石墨炉原子吸收光谱法^[9]、电感耦合等离子体质谱^[10]和分光光度法^[11]等。这些方法的灵敏度和选择性不一, 用于不同样品来源的硒测定。已有较多文献报道石墨炉原子吸收法 (graphite furnace atomic absorption spectrometry, GFAAS) 可以测定食品中的硒^[12], 但较少用于生物样品中硒的测定, 也未见进行完整的方法学验证^[13]。本研究通过 GFAAS 法测定大鼠饮用富硒绿茶后各主要组织器官中的硒含量, 由于富硒绿茶^[14] (硒含量为 0.05~2.5 mg/kg) 相对于亚硒酸钠等补硒药物, 含硒量较低, 大鼠饮用富硒绿茶后体内各组织中硒含量较低且浓度差异较大, 因此, 本研究通过优化组织样品处理过程和分别制备各组织的工作曲线来提高方法的准确度和灵敏度, 首次建立了 GFAAS 法测定大鼠血浆、心脏、肝脏、睾丸、胰腺、肺、指甲、脑、肾脏和肌肉 9 个组织中硒含量的分析方法, 并进行了完整的方法学验证。

1 材料与方法

1.1 材料

硒标准溶液 (1000 μg/mL) 和钼标准溶液 (1000 μg/mL), 国家有色金属及电子材料分析测试中心; 硝酸 (优级纯)、30% H₂O₂ (优级纯) 和盐酸 (优级纯), 成都科龙化工试剂厂; 富硒绿茶: 凤冈富锌富硒茶 (贵州省凤冈县万壶缘锌硒茶业有限公司); 非富硒绿茶: 都匀毛尖茶 (贵州味道茶叶有限公司); 试验中所使用的水均为超纯水; 玻璃烧杯和塑料离心管, 用 10% (V/V) 的硝酸浸泡, 再用超纯水反复冲洗, 晾干, 方可使用。

1.2 仪器

A3 系列原子吸收分光光度计、硒空心阴极灯和石墨管, 北京普析通用仪器有限责任公司; 超纯水机, 德国默克密理博有限公司; XW-80A 型漩涡混合器, 上海医科大学仪器厂; FA1004N 型电子天平, 上海菁海仪器有限公司。

1.3 动物

雄性 SD 大鼠, 清洁级, 体重(220±20) g, 第三军医大学大坪医院医学实验动物中心, 合格证号: SCXK (渝) 2012-0005。

1.4 方法

1.4.1 仪器工作条件

表 1 石墨炉原子吸收仪测定大鼠组织中硒含量的升温程序

Table 1 GFAAS temperature program for the determination of

Se content in rat tissues

步骤	温度/°C	升温时间/s	保持时间/s	氦气流量
干燥-1	120	10	5	大
干燥-2	140	5	5	大
灰化	1200	10	10	大
原子化	2300	0	3	关
清除	2400	1	2	大

检测波长为 196.0 nm, 光谱通用带宽 2.0 nm, 灯

电流 5.0 mA, 载气为氩气。背景校正为氘灯, 进样量为 10 μL 。石墨炉升温程序见表 1。

1.4.2 标准溶液的制备

精密量取硒标准溶液 (1000 $\mu\text{g/mL}$) 50 μL , 置于 10 mL 容量瓶中, 用 2.0 mol/L HNO_3 稀释至刻度, 摇匀, 即得 5 $\mu\text{g/mL}$ 硒的储备液。以 2.0 mol/L HNO_3 为溶剂稀释储备液, 分别获得不同浓度的硒标准溶液。

精密量取钡标准溶液 (1000 $\mu\text{g/mL}$) 1000 μL , 置于 10 mL 容量瓶中, 用 2.0 mol/L HCl 稀释至刻度, 摇匀, 即得 100 $\mu\text{g/mL}$ 钡标准溶液。

以上标准溶液均置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内避光保存。

1.4.3 茶汤的制备

称取 100 g 茶叶, 剪碎, 放入 10 倍量沸腾的超纯水中, 煎煮 10 min, 连续 3 次, 用纱布过滤茶渣, 合并茶水煎剂, 减压浓缩至浓度为 1 g/mL, 2000 r/min 离心 10 min, 取上清液于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 备用。

1.4.4 茶汤中硒含量的测定

精密量取 5 $\mu\text{g/mL}$ 硒标准溶液 10 μL 、20 μL 、40 μL 、60 μL 和 100 μL 分别到 5 mL 容量瓶, 用超纯水稀释至刻度。制得浓度为 10、20、40、60、100 ng/mL 硒标准曲线, 同时制备空白试剂溶液; 精密量取 100 μL 该硒标准系列溶液及 5 μL 钡标准溶液 (100 $\mu\text{g/mL}$) 混合后进样测定, 绘制标准工作曲线。

精密量取茶汤 (1 g/mL) 1 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 用超纯水稀释至刻度, 摇匀, 测定其吸光度。

1.4.5 组织样品预处理

量取大鼠血浆 300 μL , 称取大鼠心脏、肝脏、睾丸、胰腺、肺、指甲、脑、肾脏和肌肉组织各 0.30 g (精确到 0.01 g) 于 25 mL 烧杯中, 加入硝酸 5 mL, 放置过夜 12 h。过夜后, 置于 150 $^{\circ}\text{C}$ 电热板上加热消化至硝酸冒烟, 稍冷却, 沿烧杯壁滴入 2 mL、30% H_2O_2 , 边滴加边振荡。继续加热至白烟冒净, 溶液变为无色或淡黄色。用超纯水定容至 5 mL, 摇匀。

1.4.6 方法学考察

根据 2015 版中国药典中生物样品定量分析方法验证指导原则, 考察测定方法定量下限、响应函数和校正范围 (标准曲线性能)、准确度、精密性、提取回收率、残留效应以及硒在大鼠组织中储存和处理全过程中的稳定性。

1.4.6.1 标准曲线的制备

采用标准加入法对每一组织分别作工作曲线。以肝脏为例: 取同一只大鼠空白肝脏 5 份, 依次加入 5 $\mu\text{g/mL}$ 硒标准溶液 10 μL 、20 μL 、40 μL 、60 μL 和 100 μL , 按“组织样品预处理”项下操作, 制得浓度依次为 10、20、40、60、100 ng/mL 硒标准曲线, 并同时制

备空白肝脏样品和空白试剂样品, 再精密量取 100 μL 消化液及 5 μL 钡标准溶液 (100 $\mu\text{g/mL}$), 混合涡旋 5 s, 测定相对应的吸光度 (A), 以硒加入浓度 (C) 对吸光度增量 (实测吸光度 A 扣除空白肝脏样品和空白试剂吸光度, ΔA) 进行线性回归, 权重系数为 $1/C^2$ 。其他组织均按此方法制作相应的工作曲线。

1.4.6.2 精密度和准确度试验

每个组织均考察方法的精密度和准确度。按“标准曲线的制备”项下操作制备硒加入浓度分别为低、中、高 (15、50、75 ng/mL) 三个浓度水平的标准含硒组织, 每个浓度各配制 5 份样品, 并配制一条标准曲线。共做三个分析批, 每批每个浓度做 5 份样品, 记录吸光度, 将吸光度增量 (ΔA) 代入当批的标准曲线, 求得实测浓度及实测浓度准确度, 计算批内和批间精密性。低、中、高浓度水平的样品 RSD 应小于 15%, 定量下限的 RSD 应小于 20%。

1.4.6.3 提取回收率试验

每个组织均考察方法的提取回收率。以肝脏为例: 取 6 份来自于同一只大鼠的空白肝脏, 按“组织样品预处理”项下操作, 分别制备空白肝脏组织消化液适量, 进行石墨炉原子吸收仪分析, 记录空白肝脏中硒的吸光度的平均值 (A_0)。在空白肝脏组织消化液加入适量硒标准溶液, 配制成含硒加入浓度分别为低、中、高三个浓度水平的样品, 每个浓度平行配制 6 份, 记录硒吸光度 (A), 计算硒吸光度增量 ($\Delta A = A - A_0$), 并分别计算每个浓度水平硒吸光度增量的平均值 (B); 按“精密度和准确度试验”项下操作, 制备硒加入浓度分别为低、中、高三个浓度水平的标准含硒组织, 每种浓度配制 5 份, 记录硒吸光度 (C)。计算硒在肝脏组织中的提取回收率的公式为 $R(\%) = C/B \times 100\%$ 。

1.4.6.4 稳定性试验

配制含硒加入浓度为低、高浓度水平的标准含硒组织样品和空白组织样品若干份, 3 份于配制好后按“组织样品预处理”项下操作处理并立即进行石墨炉原子吸收仪分析, 3 份于室温放置 48 h 后进行处理和分析, 3 份于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 反复冻融 3 次后进行处理和分析, 3 份于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰冻 60 d 后, 取出解冻再进行处理和分析。同时, 6 份按“组织样品预处理”项下操作处理获得组织消化液样品, 3 份消化液样品于室温放置 24 h 后进行分析, 3 份消化液样品于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰冻 48 h 后进行分析, 记录吸光度增量。

1.4.6.5 残留效应

分别制备空白组织和含硒加入浓度为定量上限的组织样品, 按“组织样品预处理”项下操作进行石墨炉原子吸收仪分析, 在硒浓度为定量上限的样品进样

分析后,分析空白组织样品,反复5次,记录吸光度。

1.4.7 组织分布研究

雄性清洁级SD大鼠18只,随机分为空白对照组、富硒绿茶组和非富硒绿茶组,每组6只,适应性喂养一周后,空白组每天灌胃给予大鼠超纯水(10 mL/kg),富硒绿茶组每天灌胃给予大鼠凤冈锌硒茶(10 g/kg),非富硒绿茶组每天灌胃给予大鼠都匀毛尖茶(10 g/kg)。三组动物连续灌胃30 d后处死,分别取出血浆、心脏、肝脏、睾丸、胰腺、肺、指甲、脑、肾脏和肌肉组织,用滤纸将血吸干,心脏则应剖开将血吸干。按“组织样品预处理”项下操作,测定各组织中硒的含量,观察长期喝富硒绿茶后大鼠各组织中硒的含量和分布情况。

1.4.8 数据处理

将每只大鼠的各个组织测得的吸光度代入线性回归方程中求出相应的硒含量,采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。

2 结果与讨论

2.1 茶汤中硒含量的测定

测定茶汤中硒含量所制备的标准曲线的权重回归方程为 $\Delta A=C \times 0.0031370+0.002280$ ($r=0.9998$)。测得富硒绿茶茶汤中硒含量为230.3 ng/g,非富硒绿茶茶汤中硒含量为157.9 ng/g。富硒绿茶茶汤中硒含量为非富硒绿茶茶汤的145.8%。

2.2 方法学结果

2.2.1 标准曲线及最低定量限

肝脏组织样品中硒的标准曲线的典型权重回归方程: $\Delta A=C \times 0.0053274-0.0014387$ ($r=0.99974$),其余组织的典型权重回归方程见表2。结果显示,硒在10~100 ng/mL内线性关系良好,定量下限的RSD均小于11.0%,准确度在88.8%~107.8%之间。

表2 硒在不同组织中的线性回归方程、相关系数和线性范围

组织	线性回归方程	相关系数	线性范围
血浆	$\Delta A=C \times 0.0037068-0.013532$	0.99136	10~100 ng/mL
心脏	$\Delta A=C \times 0.0039216-0.00033714$	0.99475	
肝脏	$\Delta A=C \times 0.0053274-0.0014387$	0.99974	
睾丸	$\Delta A=C \times 0.0041214-0.001659$	0.99927	
胰腺	$\Delta A=C \times 0.0029376-0.0035307$	0.99263	
肺	$\Delta A=C \times 0.0035068-0.013537$	0.99254	
指甲	$\Delta A=C \times 0.0033302-0.013538$	0.99685	
脑	$\Delta A=C \times 0.0031025-0.013539$	0.99785	
肌肉	$\Delta A=C \times 0.0029658-0.013540$	0.99625	
肾脏	$\Delta A=C \times 0.0027854-0.013541$	0.99287	

表3 GFAAS法测定大鼠组织中硒的精密度、准确度和提取回收率

Table 3 Precision, accuracy, and recovery rates for the determination of Se content in rat tissues by GFAAS (n=5, $\bar{x} \pm s$)

组织	浓度/(ng/mL)	RSD/%		准确度/%	提取回收率/%
		批间 (n=5)	批内 (n=5)		
血浆	15	5.3	6.6	99.4±5.5	91.2±4.1
	50	2.8	12.2	101.4±5.4	93.1±2.4
	75	2.8	4.2	100.6±3.1	90.7±7.3
心脏	15	3.4	7.8	96.4±6.5	89.7±2.0
	50	6.5	6.9	105.2±3.2	93.4±5.0
	75	2.8	5.7	92.5±2.0	94.1±2.5
肝脏	15	9.5	9.5	91.5±1.5	90.5±5.1
	50	6.7	11.4	98.6±3.2	95.1±7.3
	75	8.4	10.4	100.2±3.9	90.3±0.8

转下页

接上页

睾丸	15	7.1	5.8	105.6±7.8	89.3±2.1
	50	7.9	9.8	96.8±6.9	94.5±3.8
	75	2.1	5.7	98.1±5.8	88.1±5.2
胰腺	15	6.8	4.6	102.5±3.5	89.7±1.0
	50	5.1	10.8	92.5±2.3	91.2±5.4
	75	6.4	4.8	96.5±1.2	87.3±6.1
肺	15	3.2	3.6	97.2±2.1	89.6±1.1
	50	1.8	3.8	89.5±2.8	92.3±2.5
	75	9.4	9.8	103.9±1.3	91.2±9.6
指甲	15	9.0	10.8	90.5±3.9	86.1±1.4
	50	5.0	10.1	93.6±7.9	90.5±2.3
	75	4.0	2.5	106.9±3.3	91.5±7.4
脑	15	5.8	2.6	90.6±1.1	89.4±3.3
	50	6.9	1.2	97.3±6.4	90.1±1.7
	75	8.7	3.5	93.2±0.6	92.3±1.3
肌肉	15	6.4	5.5	98.3±3.9	87.5±6.0
	50	7.1	2.4	97.3±1.0	89.6±8.3
	75	7.6	2.4	103.4±6.1	93.6±7.4
肾脏	15	8.5	8.6	96.5±5.1	92.9±5.4
	50	8.6	7.6	93.4±2.4	91.4±3.9
	75	5.9	4.8	97.1±1.9	94.1±3.7

2.2.2 精密度与准确度

硒在大鼠体内各组织中的批内精密度均小于12.2%，批间精密度均小于9.5%，平均准确度在89.5%~106.9%之间，符合生物样品分析要求。具体结果见表3。

2.2.3 提取回收率

从表3可以看出，各组织中硒的平均提取回收率在86.1%~95.1%之间，表明在本试验条件下各组织硒

的回收率良好，结果稳定，能满足实验要求。

2.2.4 稳定性考察

结果表明，各组织室温放置48 h，反复冻融3次，-20℃下放置60 d 硒的稳定性良好。组织消化液样品室温放置24 h，-20℃冰冻48 h 硒的稳定性良好，相对误差均小于±9.5%，具体见表4。

2.2.5 残留效应

组织样品分析中硒无残留效应。

表4 大鼠组织中硒在不同条件下的稳定性

Table 4 The stability for Se in rat tissues under different conditions

组织	浓度 (ng/mL)	不同条件下组织样品硒含量的相对误差 RE/%				
		室温放置 48 h	反复冻融 3 次	长期冰冻 60 d	消化液室温放置 24 h	消化液长期冰冻 48 h
血浆	15	-3.0	-7.2	-0.1	-0.7	-4.9
	75	-3.3	1.2	5	4.3	3.8
心脏	15	1.5	2.8	1.1	-5.1	4.3
	75	3.2	4.1	-5.1	1.9	2.8
肝脏	15	7.1	1.8	-6.9	5.1	1.5
	75	-1.2	0.9	1.1	-2.8	3.1
睾丸	15	5.1	4.1	-4.7	2.1	3.9
	75	-3.5	2.9	4.8	3.5	-1.8
胰腺	15	1.9	2.7	-3.5	5.7	4.1
	75	-1.8	-2.7	0.5	0.3	1.1

转下页

接上页

肺	15	-0.9	1.6	2.1	-7.5	9.8
	75	8.9	12.5	-1.5	5.4	7.1
指甲	15	1.1	2.7	4.5	-3.9	-0.5
	75	1.2	3.9	-8.7	8.5	6.7
脑	15	3.9	1.8	1.4	-1.4	-9.1
	75	4.7	-5.8	-4.9	8.7	2.1
肾脏	15	1.0	0.9	-1.8	-7.4	4.8
	75	5.9	-1.7	4.7	3.8	4.0
肌肉	15	1.0	2.9	-5.8	1.4	0.5
	75	1.9	-9.5	4.7	-1.3	1.7

2.3 组织分布研究

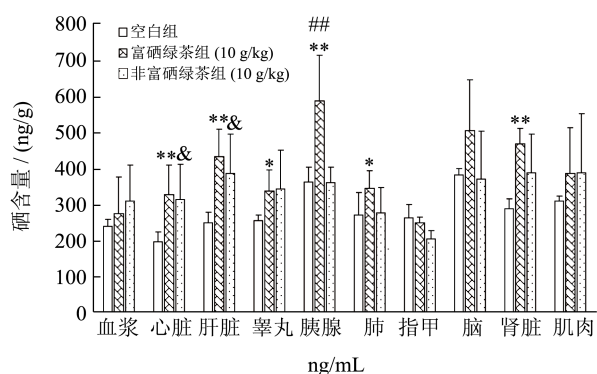


图1 大鼠灌胃给予富硒绿茶后各组织中的硒含量

Fig.1 Se content in rat tissues after oral administration of selenium-enriched green tea

注: 与空白组比: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; 与非富硒绿茶组比: # $p < 0.01$; 非富硒绿茶组与空白组比: & $p < 0.05$ 。

结果从图1中可以看出, 大鼠连续30 d 饮用富硒绿茶后能够吸收其硒元素, 其心脏、睾丸、肺、肝脏、肾脏和胰腺的硒含量与空白组相比, 以及其胰腺的硒含量与非富硒绿茶组相比, 均有明显增加, 在统计学上具有显著性差异大鼠; 连续30 d 饮用非富硒绿茶后仅有心脏和肝脏与空白组相比有明显增加, 在统计学上具有显著性差异。

2.4 讨论

本研究建立的石墨炉原子吸收法测定大鼠饮用富硒绿茶后血浆、心脏、肝脏、睾丸、胰腺、肺、指甲、脑、肾脏和肌肉中的硒含量。大鼠组织基质较为复杂, 各组织消化难度有所不同, 其中血浆、睾丸、胰和肌肉消化过程较容易, 消化完成后消化液较澄清, 剩余有机物和酸较少, 与之相反的是, 指甲、心脏、肺、脑、肾脏和肝脏的消化液颜色较深, 说明所含有有机物较多。同时, 大鼠饮用富硒绿茶后组织中的硒含量也较低, 因此需要对生物组织样品前处理方法和测

定条件进行优化, 提高方法的灵敏度和准确度。

为了达到该目的, 本研究主要通过以下几个方面来优化实验条件。首先, 考虑到各组织基底成分和消化程度有可能不完全一致的问题, 为每一个组织分别制备工作曲线, 并进行完整的方法学考察。其次, 在样品处理过程中, 使用5 mL 优级纯硝酸消化0.3 g 组织样品, 避免引入高氯酸的氯离子或硫酸的硫酸根离子以及选用分析纯硝酸所可能引入的杂质影响硒的测定^[9], 同时, 又使用2 mL、30% H_2O_2 驱赶残留过多的酸或未分解完的有机物, 最后将消化液定容至5 mL, 既满足了灵敏度的要求又尽可能净化消化液来避免消解液腐蚀仪器的石墨管和石墨锥, 增加仪器使用年限。最后, 为了避免在测定的灰化过程中硒的损失, 根据文献报道考察了不同浓度的钯标准溶液^[9]作为基体改进剂。

富硒绿茶和非富硒绿茶中均含有一定量的硒, 而富硒绿茶硒含量高于非富硒绿茶, 因此大鼠连续30 d 饮用富硒绿茶或非富硒绿茶后, 与纯水组相比, 非富硒绿茶组的心脏和肝脏的硒含量均有增加, 而富硒绿茶组除了心脏和肝脏以外, 睾丸、肺、肾脏和胰腺的硒含量同时也明显增加, 推测硒的组织分布水平和剂量相关, 并且与硒组织分布的靶向性有关, 靶组织分布差异机理还需进一步研究。同时, 也可能不同茶汤中的其他成分对硒的组织分布水平有影响。

3 结论

3.1 本研究建立了石墨炉原子吸收法测定大鼠血浆、心脏、肝脏、睾丸、胰腺、肺、指甲、脑、肾脏和肌肉中的硒含量, 其中典型标准曲线方程为: $\Delta A = C \times 0.0053274 - 0.0014387$ ($r = 0.99974$), 各组织硒的含量在10~100 ng/mL 范围内线性关系良好精密度和准确度好, 提取回收率高, 稳定性良好, 无残留效应, 可以适用于测定大鼠多个组织中硒的含量。

3.2 大鼠连续30 d 饮用高浓度(1 g/mL)的富硒绿茶

茶汤, 硒含量在大鼠多个组织中均有明显增加, 并且硒的摄入量远低于硒中毒摄入量, 人体若长期按日常饮茶方式饮用富硒绿茶, 能够安全地在一定程度上达到补硒作用, 但是并不能替代补硒类药物, 补硒仍然需要通过食物和药物等各种有效途径共同实现。

参考文献

- [1] 谢丹丹. 化学元素的生理功能[J]. 化学教学, 2000, 12: 18-21
XIE Dan-dan. The physiological functions of chemical elements [J]. Education in Chemistry, 2000, 12: 18-21
- [2] 陈炳卿. 营养与食品卫生学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996
CHEN Bing-qing. Nutrition and food hygiene [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996
- [3] 周云, 刘忠荣. 硒与人体健康[J]. 微量元素与健康研究, 2002, 19(4): 79-83
ZHOU Yun, LIU Zhong-rong. Selenium and human health [J]. Studies of Trace Elements and Health, 2002, 19(4): 79-83
- [4] 杨光圻. 人体硒需要量和克山病的硒预防[J]. 中国地方病学杂志, 1986, 1(3): 12-13
YANG Guang-qi. Human selenium requirement and keshan disease prevention Chinese [J]. Journal of Control of Endemic Diseases, 1986, 1(3): 12-13
- [5] 黄建国, 李双双, 谢虹, 等. 吸烟和缺碘对育龄妇女血硒、血铅和血镉含量的联合作用[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(11): 975-976
HUANG Jian-guo, LI Shuang-yi, XIE Hong, et al. The joint actions of smoke inhalation and iodine deficiency to childbearing women's blood selenium, lead and cadmium contents [J]. China Public Health, 2000, 16(11): 975-976
- [6] 陈培恩. 硒缺乏与癌症[J]. 生命的化学, 1991, 11(2): 25-26
CHEN Pei-en. Lack of selenium and cancer [J]. Chemistry of Life, 1991, 11(2): 25-26
- [7] 赖海涛, 苏国成, 张锦龙. 催化动力学光度法测定茶叶中硒浸出率[J]. 食品科学, 2012, 33(20): 282-285
LAI Hai-tao, SU Guo-cheng, ZHANG Jin-long. Determination of leaching rate of selenium from tea by catalytic kinetic spectrophotometry [J]. Food Science, 2012, 33(20): 282-285
- [8] 解清, 王京宇, 欧阳荔. 改进的原子荧光光谱法测定人尿中硒的水平[J]. 实验技术与管理, 2011, 28(7): 36-38
XIE Qing, WANG Jing-yu, OUYANG Li. Determination of selenium in urine by improved atomic fluorescence spectrometry [J]. Experimental Technology and Management, 2011, 28(7): 36-38
- [9] 刘秀华, 邓义, 张豫川. 石墨炉原子吸收光谱法测定硒的研究进展[J]. 理化检验, 2014, 50(2): 264-267
LIU Xiu-hua, DENG Yi, ZHANG Yu-chuan. Progress of research of gfaas determination of selenium [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2014, 50(2): 264-267
- [10] 刘淑君, 平庆杰, 杨雪娇, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定黄豆中硒[J]. 食品工业, 2012, 2: 137-139
LIU Shu-jun, PING Qing-jie, YANG Xue-jiao, et al. Determination of selenium in soybean using microwave digestion-ICP-MS [J]. The Food Industry, 2012, 2: 137-139
- [11] 严和平, 罗宇, 李自静, 等. 云南普洱茶中硒的测定条件及含量研究[J]. 食品科技, 2010, 35(12): 263-266
YAN He-ping, LUO Yu, LI Zi-jing, et al. Optimization conditions on determination contents of Se in Yunnan Pu'er tea [J]. Food Science and Technology, 2010, 35(12): 263-266
- [12] 梅灿辉. 胶体钼-石墨炉原子吸收直接测定枸杞酒中硒含量的方法研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(2): 256-261
MEI Can-hui. Direct determination of se content in wolfberry wine by graphite furnace atomic absorption spectrometry with colloid palladium [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(2): 256-261
- [13] 李娅, 张利利, 王文岚, 等. 微波消解-石墨炉原子吸收光谱法测定大鼠组织中的微量硒[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(9): 1671-1674
LI Ya, ZHANG Li-li, WANG Wen-lan, et al. Determination of trace selenium in rats tissue by microwave digestion-graphite furnace atomic absorption spectrometry [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(9): 1671-1674
- [14] 翁昆, 刘铁兵, 胡国桥. 富硒茶的质量与标准[J]. 中国茶叶加工, 2014, 1: 5-7
WENG Kun, LIU Tie-bing, HU Guo-qiao, et al. Quality and standard of selenium-enriched tea [J]. China Tea Processing, 2014, 1: 5-7