

胶体钯-石墨炉原子吸收直接测定枸杞酒中硒含量的方法研究

梅灿辉

(珠海市食品药品检验所, 广东珠海 519000)

摘要: 硒是枸杞酒的重要功效成分之一, 需要对枸杞酒中的硒含量进行测定。本文采用胶体钯-石墨炉原子吸收直接测定枸杞酒中的硒含量。不经过繁琐的消解过程, 将酒样酸化和稀释后直接上机测定, 在石墨炉升温过程中去除酒样中的有机杂质, 这大大简化了测定步骤。对此法的升温程序进行优化, 然后在优化条件下测定硒含量。结果表明, 添加胶体钯作为基体改进剂的优化升温程序为: 干燥温度 110 °C、时间 40 s, 灰化温度 1100 °C、时间 20 s、升温速率 10 °C/s, 原子化温度 2200 °C; 此法测定硒标准曲线方程为: $Y=0.000024x^2+0.0041x+0.017$, 相关系数 $R^2=0.9988$; 检出限为 26.74 pg; 测定枸杞酒中硒含量为 14.52 $\mu\text{g/L}$, RSD 值 < 10%, 加标回收率为 102.60%。因此, 胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的方法准确可靠, 简单可行。

关键词: 枸杞酒; 硒; 石墨炉; 原子吸收; 胶体钯

文章编号: 1673-9078(2017)2-256-261

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.2.039

Direct Determination of Selenium Content in Wolfberry Wine by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry with Colloid Palladium

MEI Can-hui

(Zhuhai Institute for Food and Drug Control, Zhuhai 519000, China)

Abstract: Selenium (Se) is one of the important functional components in wolfberry wine; hence, it is necessary to determine the Se content. In this study, the Se content in wolfberry wine was directly determined by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) with colloid palladium. The tedious digestion process was avoided, the wine sample was directly determined after acidification and dilution, and organic impurities in the wine sample were removed during the heating process of the graphite furnace, which greatly simplified the measurement process. The heating program was optimized, and the Se content was determined under the optimized conditions. The results showed that with colloid palladium as a matrix modifier, the optimal heating program was as follows: drying at 110 °C for 40 s, ashing at 1100 °C for 20 s with a heating rate of 10 °C/s, and atomization at 2200 °C. The standard curve for the determination of Se content by this method was obtained: $y=0.000024x^2+0.0041x+0.017$, $R^2=0.9988$. The detection limit was 26.74 pg, the Se content in wolfberry wine was determined as 14.52 $\mu\text{g/L}$ ($RSD < 10\%$), and the recovery was 102.60%. Therefore, with colloid palladium as the matrix modifier, the GFAAS method is accurate, reliable, simple, and feasible for the direct determination of Se content in wolfberry wine.

Key words: wolfberry wine; selenium; graphite furnace; atomic absorption spectrometry; colloid palladium

硒是近年来极受人们重视的必需微量元素, 富硒食品受到市场青睐。硒对人体具有多方面作用^[1], 包括清除活性氧自由基、提高机体免疫力、预防和抑制肿瘤、维持心血管系统正常结构与功能和拮抗部分重金属元素毒性等等。人体缺硒可导致克山病与大骨节病, 易患癌症, 易衰老及其它病症, 但摄入过多也会发生硒中毒, 因此硒的适量摄取对人体很重要。枸杞作为一种质优价廉易得的药食同源的食物, 其重要功

收稿日期: 2016-02-24

作者简介: 梅灿辉 (1985-), 男, 工程师, 现从事食品安全检测及方法研究工作

效成分之一就是微量元素硒。枸杞可以加工成各种食品、饮料、保健酒和保健品等等, 我国自古就有酿造饮用枸杞酒的习惯。枸杞中的微量元素会在酿酒过程中溶出, 则需要对枸杞酒中的硒含量进行测定, 以便从微量元素的角度来评价枸杞酒的功效性和安全性, 以及为消费者日常饮用枸杞酒提供参考。

食品中硒含量的测定方法有: 氢化物原子荧光光谱法^[2]、二氨基萘荧光法^[2]、氢化物发生原子吸收分光光度法^[3,4]、石墨炉原子吸收法^[4,5]和电感耦合等离子体-质谱法^[6]等等。其中前三种方法都需要通过消解、赶酸、盐酸还原等多步繁琐的前处理将各种价态的硒转

化成为四价硒进行测定,并且二氨基萘荧光法需要用到有毒试剂,氢化物发生原子吸收分光光度法需要仪器另外配置氢化物发生装置,而后两种方法只需要消解定容后便可上机测定总硒,对于液体样品更是可以考虑直接上机,但电感耦合等离子体-质谱仪又价格昂贵,因此笔者认为石墨炉原子吸收法是相对便捷实用的方法。尽管如此,此法测硒依然存在难点,硒是低温元素,在灰化过程中容易损失^[7],因此石墨炉升温程序需要严格控制。添加合适的基体改进剂是改善此问题的关键,刘秀华等人的研究表明钼试剂的效果最佳^[7]。国外有关于石墨炉原子吸收法测定酒中硒含量的研究报道,Jaganathan等^[8]采用硝酸钼-盐酸羟胺-石墨炉原子吸收法直接测定红酒和白酒中硒含量,还指出了将六价硒还原成四价硒以消除双峰的重要性;Cvetković等^[9,10]则先消解,再分离硒元素,然后以不同的基体改进剂-石墨炉原子吸收法测定酒中硒含量。国内未见此法用于测定酒中的硒含量,但有用于直接测定饮料^[11]和牛奶^[12]等液体食品中的硒含量。

本文尝试采用胶体钼-石墨炉原子吸收直接测定枸杞酒中的硒含量。不经过繁琐的消解过程,将酒样酸化和稀释后直接上机测定,在石墨炉升温过程中去除酒样中的有机杂质,这将大大简化测定步骤。稀释酒样可以降低黏度,减少背景干扰。另外,添加胶体钼作为基体改进剂,有利于在原子化前保护硒元素,减少硒元素的损失,同时可以提高灰化温度从而更有效地去除酒样中的基体。这种测定方法,笔者曾用于测定白酒中的锰含量^[13],取得了很好的效果。枸杞酒的基体更复杂一些,硒又是低温元素,期待此法用于测定枸杞酒中的硒含量也能取得良好效果,这将对于酒类或其它液体食品的快速元素分析有很大的参考价值。

1 材料与amp;方法

表2 石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的升温程序

Table 2 GFAAS heating program for the determination of Se content in wolfberry wine

阶段	温度/℃	时间/s	斜坡/(℃/s)	气体类型	气体流量/(L/min)
干燥	100/110/120	30/40/50/60	10	高纯氦气	0.2
灰化	300~1300	20/30/40	10/30/50	同上	0.2
原子化	1900~2400	3.0	0	同上	关
清扫	2500	3.0	0	同上	0.2

(4) 石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的仪器条件见表1,升温程序见表2,添加胶体钼作为基体改进剂。

(5) 对于干燥、灰化和原子化三个阶段分别进行优化。

1.1 材料

(1) 试样:叶老根枸杞酒(酒精度30%体积分数),珠海青龙酒业有限公司。

(2) 试剂:65%硝酸,优级纯,广州化学试剂厂;ColpdTM胶体钼基体改进剂,成都微检生物科技有限公司;硒标准溶液(1000 μg/mL),国家有色金属及电子材料分析测试中心。

1.2 仪器

MKII-M6型原子吸收光谱仪(带石墨炉),美国热电公司;硒空心阴极灯,北京有色金属研究总院;超纯水机,艾科浦国际有限公司。

1.3 方法

(1) 所有玻璃器皿均冲刷洗净,用10%(V/V)的硝酸浸泡,再用超纯水反复冲洗,晾干,方可使用。

(2) 用超纯水和优级纯的硝酸配制1%(V/V)的硝酸,再以此酸配制浓度为20 μg/L的硒标准溶液。

(3) 为了降低枸杞酒样的背景吸收干扰,Jaganathan J等^[8]的处理方法,将枸杞酒稀释3倍,同时调整稀释酒样的酸度为1%(V/V)。

表1 石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的仪器条件

Table 1 Instrumental parameters of GFAAS for the determination of Se content in wolfberry wine

仪器条件	设定值	仪器条件	设定值
波长	196.0 nm	进样量	20 μL
灯电流	5 mA, 80%	基体改进剂	胶体钼湿加5 μL
狭缝宽度	0.5 nm	信号	峰高
背景校正	塞曼	测量时间	3.0 s
石墨管	ELC	重测次数	3次

(6) 按优化的升温程序测定硒标准曲线、酒样和加标样($n=6$)。

(7) 计算检出限、精密度(6次平行样品的RSD值),并通过加标回收率(加标前后浓度差除以加标浓度所得百分数)来评价方法的准确性。检出限公式^[14]:

$$D.L. = 3 * \sigma * V / b$$

式中, σ 为 11 次空白溶液的吸光值的标准偏差; V 为进样体积; b 为曲线斜率。单位: μg 。

2 结果与分析

2.1 胶体钯-石墨炉升温程序的优化

2.1.1 灰化温度

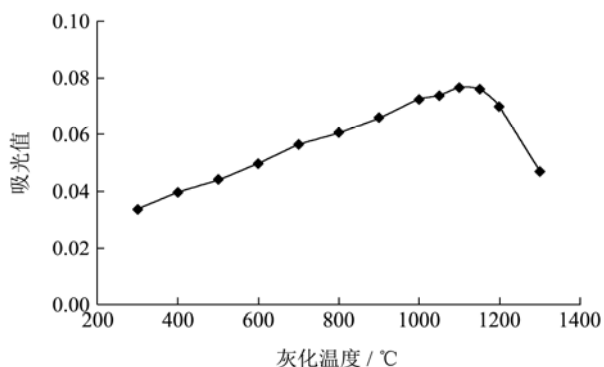


图 1 灰化温度对胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的影响

Fig.1 Effect of ashing temperature on the determination of Se content in wolfberry wine by GFAAS with colloid palladium

在石墨炉原子吸收光谱法测定微量元素过程中, 灰化温度是影响测定结果的关键因素, 要在保证被测元素没有明显损失的前提下使干扰基体尽可能排除, 需要进行灰化温度的优化。灰化温度过低, 则灰化不完全, 导致吸光值偏低; 灰化温度过高, 则被测元素在灰化过程中损失大, 也导致吸光值偏低。添加基体改进剂可以提高灰化温度, 使被测元素与样品基体更好分离, 消除基体干扰, 同时保护被测元素, 避免被测元素在原子化阶段前损失, 使被测元素在检测中获得更好的稳定性、重现性。固定干燥温度 110 °C、时间 40 s, 灰化时间 20 s、升温速率 10 °C/s, 原子化温度 2300 °C, 先在灰化温度 300 °C~1300 °C 区间内每隔 100 °C 测定吸光值进行初选, 再选出 1000 °C~1200 °C 区间每隔 50 °C 测定吸光值进一步优化, 得出最佳的灰化温度。灰化温度与吸光值的关系见图 1。

如图 1, 在添加胶体钯作为基体改进剂的条件下, 随着灰化温度的提高, 吸光值先增后减, 灰化温度 1100 °C 的吸光值最大。根据刘秀华等^[7], 无基体改进剂条件下石墨炉原子吸收测定硒含量时, 灰化温度升至 400 °C 就会产生灰化损失, 因此添加胶体钯的最佳灰化温度从 400 °C 提升到了 1100 °C, 硒元素依然稳定。

2.1.2 升温速率和灰化时间

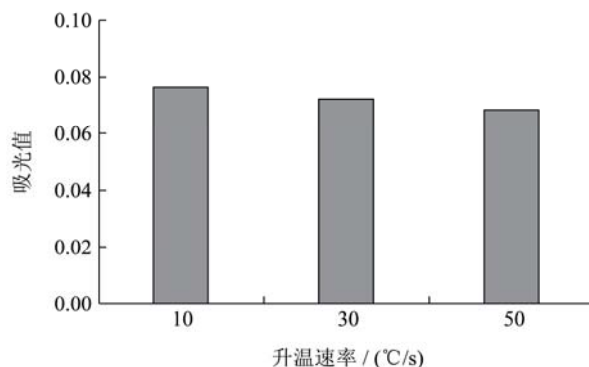


图 2 升温速率对胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的影响

Fig.2 Effect of heating rate on the determination of Se content in wolfberry wine by GFAAS with colloid palladium

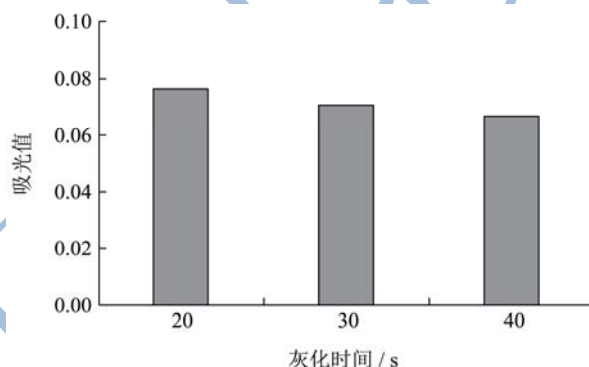


图 3 灰化时间对胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的影响

Fig.3 Effect of ashing time on the determination of Se content in wolfberry wine by GFAAS with colloid palladium

对于复杂基体的样品, 为了去除基体, 应选择斜坡升温方式, 将温度从低到高, 慢慢地升到沸点或分解点, 再保温一段时间^[15]。固定干燥温度 110 °C、时间 40 s, 灰化温度 1100 °C、灰化时间 20 s, 原子化温度 2300 °C, 考察升温速率对测定结果的影响。升温速率与吸光值的关系见图 2。固定干燥温度 110 °C、时间 40 s, 灰化温度 1100 °C、升温速率 10 °C/s, 原子化温度 2300 °C, 考察灰化时间对测定结果的影响。灰化时间与吸光值的关系见图 3。

如图 2, 随着升温速率的提高, 吸光值减小, 升温速率 10 °C/s 的吸光值最大, 升温速率过快会发生溅射造成硒元素损失。如图 3, 随着灰化时间的延长, 吸光值减小, 灰化时间 20 s 已经足够, 灰化时间过长会造成硒元素损失。

2.1.3 干燥温度和时间

干燥的主要目的是脱溶剂, 除去样品中的水分或溶剂, 以防止样品在后续过程中发生飞溅, 或在石墨管中流散面积过大^[15], 造成被测元素损失。干燥与灰化阶段一样对分离样品干扰组分有非常大的影响, 一

般干燥温度应高于溶剂的沸点,同时干燥时间要充分。固定灰化温度 1100 °C、灰化时间 20 s、升温速率 10 °C/s, 原子化温度 2300 °C, 考察干燥温度和时间对测定结果的影响。干燥温度和时间与吸光值的关系见图 4。不同干燥温度的干燥阶段的吸光值变化分别见图 5a(100 °C, 60 s)、5b(110 °C, 40 s)和 5c(120 °C, 30 s)。

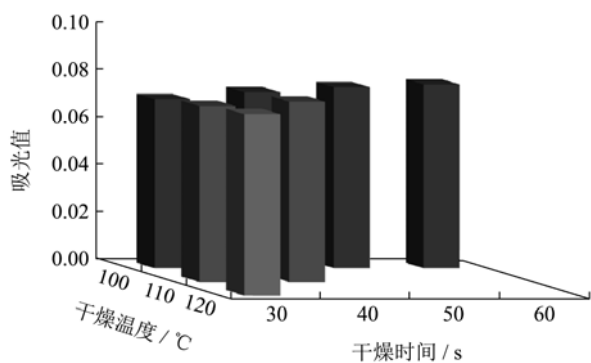


图 4 干燥温度和时间对胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的影响

Fig.4 Effect of drying temperature and time on the determination of Se content in wolfberry wine by GFAAS with colloid palladium

如图 4, 100 °C时, 随着干燥时间的延长, 吸光值初时增大快, 后来增大慢, 60 s 的吸光值最大, 但 50 s 的吸光值也已接近 60 s。110 °C干燥 40 s、120 °C干燥 30 s 的吸光值与 100 °C干燥 50 s 差不多。图 5a、5b 和 5c 是干燥温度分别为 100 °C、110 °C和 120 °C 的干燥阶段的吸光值变化, 由于进样后未干燥前样品呈弯液状占据着石墨管(在石墨炉实时监测视频中观察到), 对光路有吸收, 因此会有吸光值。而干燥过程中液体逐渐挥发消失, 于是吸光值逐渐回到基线, 吸光值归零后表明干燥完成。从图 5 可见, 100 °C干燥大约 40 s, 110 °C干燥大约 30 s, 120 °C干燥大约 20 s, 干燥基本完成; 100 °C干燥 50 s 以上, 110 °C干燥 40 s 以上, 120 °C干燥 30 s 以上, 干燥充分。考虑到样品的沸点和干燥的效率, 选择 110 °C、40 s 为干燥阶段的优化参数。

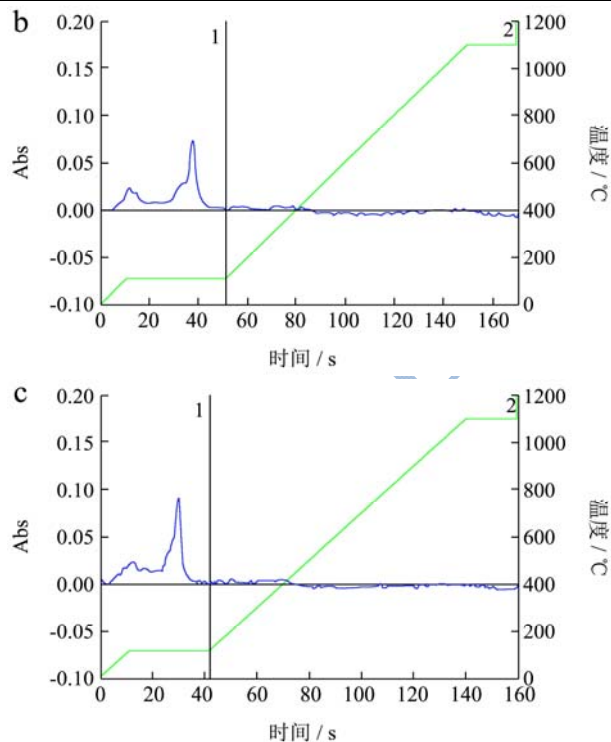
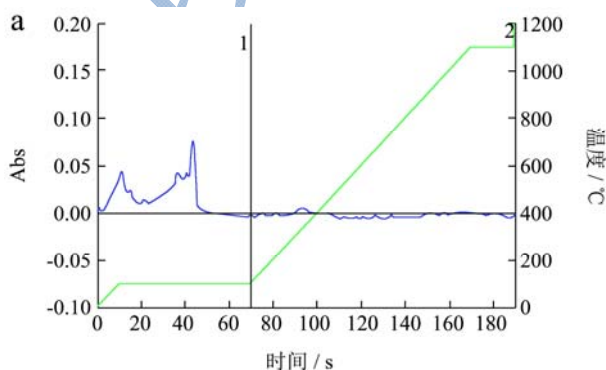


图 5 胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的干燥阶段的吸光值变化

Fig.5 Absorbance changes during the drying stage of the determination of Se content in wolfberry wine by GFAAS with colloid palladium

注: a、b 和 c 的干燥条件分别为: 100 °C干燥 60 s、110 °C干燥 40 s 和 120 °C干燥 30 s。

2.1.4 原子化温度

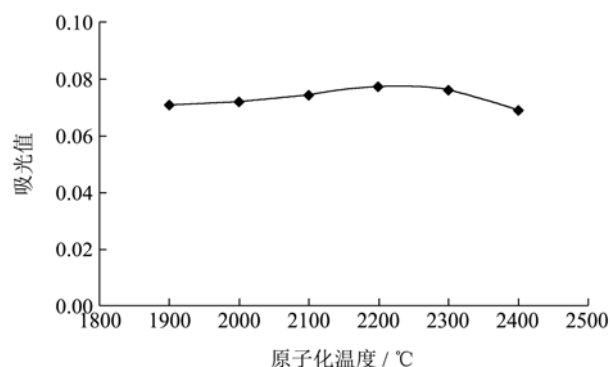


图 6 原子化温度对胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的影响

Fig.6 Effect of atomization temperature on the determination of Se content in wolfberry wine by GFAAS with colloid palladium

在石墨炉原子吸收光谱法测定微量元素过程中, 原子化温度也是影响测定结果比较明显的因素之一。原子化温度过低, 原子化不完全, 导致吸光值偏低和分析误差; 原子化温度过高, 被测元素在原子化过程中损失大, 也导致吸光值偏低, 还会损耗石墨管。选择原子化温度的原则是: 能得到最大吸收信号的最低

温度^[15]。固定干燥温度 110 °C、时间 40 s, 灰化温度 1100 °C、灰化时间 20 s, 升温速率 10 °C/s, 考察原子化温度对测定结果的影响。原子化温度与吸光值的关系见图 6。

如图 6, 随着原子化温度的提高, 吸光值先增后减, 原子化温度 2200 °C 的吸光值最大。因此, 最佳原子化温度为 2200 °C。

2.2 胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量

2.2.1 硒标准曲线

按表 1 的仪器条件和优化的升温程序: 干燥温度 110 °C、时间 40 s, 灰化温度 1100 °C、时间 20 s、升温速率 10 °C/s, 原子化温度 2200 °C, 添加胶体钯作为基体改进剂, 测得硒标准曲线见图 7。

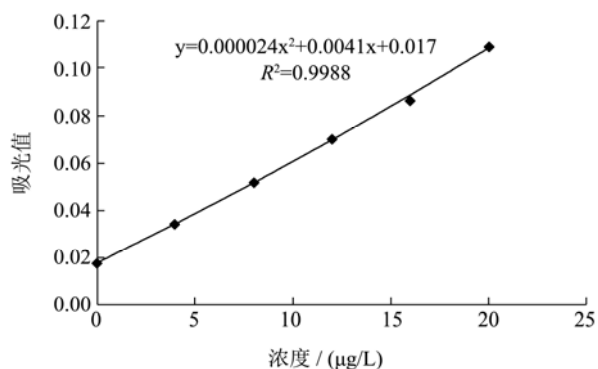


图 7 胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的标准曲线

Fig.7 Standard curve of the determination of Se content in wolfberry wine by GFAAS with colloid palladium

如图 7, 对 Se 在 0~20 μg/L 浓度范围内与吸光值的散点图做二次曲线拟合, 方程为: $Y=0.000024x^2+0.0041x+0.017$, 相关系数 $R^2=0.9988$ 。

2.2.2 方法的检出限

根据 1.3 的检出限公式, 计算出胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的检出限为: 26.74 pg。

2.2.3 测定结果及方法的精密度和回收率

表 3 胶体钯-石墨炉原子吸收测定枸杞酒中硒含量的结果及精密度和回收率

Table 3 Result, precision, and recovery of the determination of Se content in wolfberry wine by GFAAS with colloid palladium

试样	测定结果 (μg/L)	RSD %	加标浓度 (μg/L)	加标回收率 %
酒样	14.52	4.82	-	-
酒样+	19.65	5.48	5.00	102.60

注: “+”即为加标, 枸杞酒稀释 3 倍后加标进样。

按前述仪器条件和升温程序, 添加胶体钯作为基体改进剂, 测得枸杞酒中的硒含量结果及精密度和回收率见表 3。

由表 3 可知, 枸杞酒中硒含量的测定结果是 14.52 μg/L; RSD 值<10%, 符合要求; 加标回收率 102.60%, 在 90%~110%范围内, 符合要求。

3 结论

3.1 确定了添加胶体钯作为基体改进剂的优化升温程序为: 干燥温度 110 °C、时间 40 s, 灰化温度 1100 °C、时间 20 s、升温速率 10 °C/s, 原子化温度 2200 °C。

3.2 胶体钯-石墨炉原子吸收测定硒标准曲线方程为: $Y=0.000024x^2+0.0041x+0.017$, 相关系数 $R^2=0.9988$; 检出限为 26.74 pg; 测定枸杞酒中硒含量为 14.52 μg/L, RSD 值<10%, 加标回收率为 102.60%, 表明此法准确可行。

参考文献

- [1] 郑建仙. 功能性食品(第一卷)[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1995
ZHENG Jian-xian. Functional foods (Vol.1) [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1995
- [2] GB 5009.93-2010, 食品安全国家标准 食品中硒的测定[S]
GB 5009.93-2010, National food safety standard, determination of selenium in foods [S]
- [3] Díaz J P, Navarro M, López H, et al. Determination of selenium levels in dairy products and drinks by hydride generation atomic absorption spectrometry: correlation with daily dietary intake [J]. Food Additives & Contaminants, 1997, 14(2): 109-114
- [4] Stafilov T, Karadjova I. Atomic absorption spectrometry in wine analysis-a review [J]. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 2009, 28(1): 17-31
- [5] GB/T 15505-1995, 水质硒的测定 石墨炉原子吸收分光光度法[S]
GB/T 15505-1995, Water quality, determination of selenium, graphite furnace atomic absorption spectrometric method [S]
- [6] SN/T 2208-2008, 水产品中钠、镁、铝、钙、铬、铁、镍、铜、锌、砷、锶、钼、镉、铅、汞、硒的测定 微波消解-电感耦合等离子体-质谱法[S]
SN/T 2208-2008, Determination of sodium, magnesium, aluminium, calcium, chromium, iron, nickel, copper, zinc, arsenic, strontium, molybdenum, cadmium, lead, mercury, selenium in aquatic products-microwave digestion-ICP/MS method [S]

- [7] 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(化学分册),2014,50(2):264-268
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): 264-268
- [8] Jaganathan J, Dugar S M. Determination of selenium in wines using electrothermal atomic absorption spectrometry with zeeman background correction [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1998, 49(2): 115-118
- [9] Cvetković J, Stafilov T, Mihajlović D. Nickel and strontium nitrates as modifiers for the determination of selenium in wine by zeeman electrothermal atomic absorption spectrometry [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2001, 370(8): 1077-1081
- [10] Cvetković J D, Arpadjan S H, Karadjova I B, et al. Determination of selenium in wine by electrothermal atomic absorption spectrometry [J]. Bulgarian Chemical Communications, 2002, 34(1): 50-57
- [11] 任建成,王怀友,张晓凯,等.石墨炉原子吸收法测定饮料中硒[J].光谱学与光谱分析,1997,17(4):92-95
REN Jian-cheng, WANG Huai-you, ZHANG Xiao-kai, et al. Studies on determination of selenium in drink by GFAAS [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 1997, 17(4): 92-95
- [12] 李付江,刘萍,刘岩.石墨炉原子吸收法直接测定牛奶中硒[J].环境监测管理与技术,2005,17(3):34-35
LI Fu-jiang, LIU Ping, LIU Yan. Direct determination of se content in milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry [J]. Administration and Technique of Environmental Monitoring, 2005, 17(3): 34-35
- [13] 梅灿辉,吴海丽.石墨炉和火焰原子吸收测定白酒中锰的方法研究[C]//广东省食品学会年会论文集,2014.11:235-240
MEI Can-hui, WU Hai-li. Determination of Mn content in white wine by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) [C]// The Annual Conference Proceedings of Guangdong Institute of Food Science and Technology, 2014, 11: 235-240
- [14] JJG 694-2009,原子吸收分光光度计[S]
JJG 694-2009, Atomic absorption spectrophotometers [S]
- [15] 李昌厚.原子吸收分光光度计仪器及应用[M].北京:科学出版社,2006
LI Chang-hou. Instrument and application of atomic absorption spectrophotometer [M]. Beijing: Science Press, 2006