

文章编号:1005-8737(2000)03-0085-04

## 氢化物发生原子荧光法测定食品、水产品 及饲料中硒的方法研究

郝林华, 刘 莉, 翟毓秀

(中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

**摘要:**应用 AFS-2201 型双道原子荧光光谱仪对氢化物发生原子荧光法测定食品、水产品及饲料中微量元素硒的方法进行研究。采用改进的  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  湿式消解法消解样品, 并对各种最佳分析条件进行探讨和验证。方法的检出限为 0.4 ng/ml, 线性范围为 0~400 ng/ml, 回收率为 88.4%~98.5%。用标准物质对照, 其测定数据完全在标准值范围内。该方法具较多优点, 适于各种含硒样品的测定。

**关键词:**氢化物发生原子荧光法; 食品; 水产品; 饲料; 硒  
**中图分类号:**O657.31 **文献标识码:**A

微量元素硒与机体健康有着密切关系, 摄入不足或过量都会导致疾病的发生<sup>[1]</sup>。目前硒的测定方法有比色法、电化学法、气相色谱法、原子吸收分光光度法、氢化物原子吸收法等<sup>[2]</sup>。比色法灵敏度低, 试剂不稳定; 电化学法干扰严重; 气相色谱法和原子吸收分光光度法灵敏度和选择性较好, 但操作繁琐, 所用试剂 2, 2-二氨基萘(DAN)需进口且毒性较大; 氢化物原子吸收法灵敏度高, 但线性范围窄, 样品用量大。为此, 本文对氢化物发生原子荧光法测定食品、水产品及饲料中硒的方法进行研究。该法既操作简便、较快速, 灵敏度、精密度和准确度又高, 且能满足各种样品的分析要求。所用仪器 AFS-2201 型双道原子荧光光谱仪属国产仪器, 价格较为低廉且性能稳定, 易于推广。

### 1 材料和方法

#### 1.1 主要仪器与设备

AFS-2201 型双道原子荧光光谱仪(北京海光

仪器公司), 配有计算机处理系统和特制硒编码空心阴极灯(北京真空电子技术研究所); LNK-872 型自动控温消化炉(江苏宜兴科教仪器研究所), 控温精度  $\pm 5^\circ\text{C}$ ; 消化管 100 ml, 定制, 具塞、有刻度, 磨口, 与控温消化炉配套。

#### 1.2 试剂

测定用水全部为二次石英蒸馏水,  $\text{HNO}_3$ 、 $\text{HCl}$ 、 $\text{HClO}_4$  均为优级纯。牛肝标样(ESA-1)和牡蛎标样(ESA-2)均由中国环境监测总站提供。

**1.2.1 硒标准贮备液(1 mg/ml)** 准确称取高纯硒粉 1.0 g 于 100 ml 烧杯中, 加入 20 ml  $\text{HNO}_3$  和 20 ml 水, 置沸水浴中加热 3~4 h, 冷却后再加 2 ml  $\text{HClO}_4$ , 继续加热至溶解, 移入 1 L 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀。

**1.2.2 硒标准应用液(1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )** 精取硒标准贮备液 1 ml 于 1 L 容量瓶中, 加入 (1+1)  $\text{HCl}$  30 ml, 用水定容至刻度, 摇匀。

**1.2.3 还原剂(0.8%  $\text{NaBH}_4$  或 1.2%  $\text{KBH}_4$ )** 称取分析纯  $\text{NaBH}_4$  0.8 g (或 1.2 g  $\text{KBH}_4$ ) 于 100 ml 0.5%  $\text{NaOH}$  溶液中。

**1.2.4 10%  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  溶液** 称取 10 g 分析纯  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ , 用水稀释至 100 ml。

收稿日期:1999-01-25

**作者简介:**郝林华(1971-), 女, 山东烟台人, 中国水产科学院黄海水产研究所助研, 硕士, 从事食品、水产品分析及水产动物营养学研究。

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 最佳仪器分析条件的选择 见表1。

表1 仪器工作参数

Table 1 Parameters of the instrument

项目 Item	参数值 Parameter
灯电流 Lamp current	60 mA
PMT 负高压 Negative voltage	340V
原子化温度 Furnace temp.	低温炉 Low temp. furnace
原子化器高度 Observation height	10 mm
载气流量 Carrier gas	500 ml/min
屏蔽气流量 Shielded gas	700 ml/min
读数时间 Record time	11.0 s
延迟时间 Delay time	0.0 s
进样体积 Sampling volume	0.5 ml
测量方法 Determination mode	标准曲线法 Standard curve
读取方式 Record mode	峰面积 Peak area
重复次数 Repeat times	2

1.3.2 标准曲线的绘制 按表2 配制硒的标准系列。依表1 的仪器分析条件用 AFS-2201 型原子荧光光谱仪测定硒的标准系列,并绘制标准曲线,见

图1。

1.3.3 样品处理及测定 称取样品 2 g(干样)或 5 g(湿样)于消化管中,加入 15 ml 浓 HNO<sub>3</sub>, 摇匀,浸泡过夜;置于消化炉上,缓缓加热至 200℃ 消化,至无大量泡沫产生;升温至 250℃,蒸发至近干,再加入 10 ml 浓 HNO<sub>3</sub>,再蒸发至近干;加入 5 ml HClO<sub>4</sub>,继续加热消化至冒大量白烟,此时消化液澄清透明或呈淡黄色;冷却后再加入 5 ml(1+1) HCl,继续加热至溶液清亮无色并伴有白烟出现。消化液转至 50 ml 容量瓶中,并加 5 ml 浓 HCl 和 3 ml 110% K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>,用水定容至刻度,摇匀,放置 30 min 后上机测定。同时作试剂空白试验。

1.3.4 计算 根据下式可得样品中硒的含量/(mg·kg<sup>-1</sup>)。

$$C_{\text{se}} = \frac{(C_{\text{样}} - C_{\text{空}}) \times V \times 10^{-3}}{m}$$

V - 定容体积/ml; m - 称样量/g;

C<sub>样</sub> - 测得试液中硒质量浓度/(ng·ml<sup>-1</sup>);

C<sub>空</sub> - 测得试剂空白硒质量浓度/(ng·ml<sup>-1</sup>)。

表2 硒的标准系列

Table 2 Se standard series

项目 Item	标样号 Standard No.					
	0	1	2	3	4	5
加入 1 μg/ml 硒标准液体积/ml Volume of Se standard solution	0	0.5	1	1.5	2	2.5
加入浓 HCl 体积/ml Volume of HCl	6	6	6	6	6	6
加入 10% K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> 体积/ml Volume of 10% K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	3	3	3	3	3	3
终体积/ml Final volume	50	50	50	50	50	50
硒质量浓度/(ng·ml <sup>-1</sup> ) Se concentration	0.0	10.0	20.0	30.0	40.0	50.0

注:用水稀释至最终体积为 50 ml,摇匀,放置 30 min 后测定。The solution was diluted to final volume of 50 ml by water, shaken up and determined after 30 min stationary.

## 2 结果

### 2.1 标准曲线线性范围

由图1 可见,硒在 0~400 ng/ml 范围内呈线性关系,其相关系数 r 为 0.999 9,线性很好,符合比

尔定律。

### 2.2 检出限和方法准确度

按仪器软件所设定的方法测得检出限为 0.4 ng/ml。用牛肝标样、牡蛎标样进行验证,测定值均在给定值范围内(表3)。

表3 标样测定结果

Table 3 Determination results of standard samples

标样 Standard sample	标样代号 No.	标准值/(μg·g <sup>-1</sup> ) Standard value	平均测定值/(μg·g <sup>-1</sup> ) Average determined value	标准偏差 Standard deviation	相对标准偏差/% RSD
牛肝 Bovine liver	ESA-1	0.492 ± 0.016	0.485	0.027	5.57
牡蛎 Oyster	ESA-2	4.37 ± 0.58	4.19	0.33	7.88

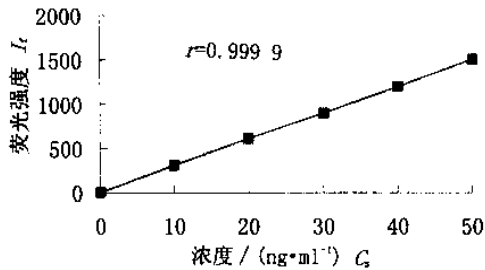


图1 硒的标准工作曲线

Fig.1 Se standard curve

### 2.3 精密度和回收率

以配合饲料、奶粉、鳕鱼糜为试验样品,分4批测定4次,其相对标准偏差(RSD)分别为1.22%、9.56%、1.22%。用加标法进行回收率试验,测得其回收率在88.4%~98.5%。验证结果较为满意。

## 3 讨论

### 3.1 仪器参数的选择

**3.1.1 灯电流及PMT负高压** 灯电流和负高压的增大可提高测定的灵敏度,但其空白噪音也相应增大且影响到灯的寿命。综合考虑,选择硒的灯电流为60 mA,负高压为340 V。

**3.1.2 炉温及炉高** 取40.0 ng/ml的硒标液进行试验,发现采用高温炉和低温炉对测定结果无明显

影响,但后者明显比前者稳定性好。而炉高(原子化器高度)直接影响所测硒的灵敏度,试验发现炉高在10 mm时,其信噪比最大,空白噪音较小。

**3.1.3 载气及屏蔽气** 载气气流过高会稀释氢化物,过低则又有拖尾现象及记忆效应等。当载气流量为500 ml/min时,其灵敏度及信噪比最大,峰形也好。屏蔽气是为避免石英管在加热过程中氧化及产生背景吸收,当其为1 000 ml/min时,效果较好;若大于1 000 ml/min,火焰稳定性较差。

**3.1.4 读数时间和延迟时间** 试验发现,在选定条件下的出峰时间为0.5~10 s。考虑到测定效率、稳定性及测量的方式等,选择延迟时间0.0 s,读数时间11.0 s。

### 3.2 氢化物反应介质及酸度的影响

不同的酸介质对硒氢化物生成有较大的影响,许多文献<sup>[3,4]</sup>推荐使用HCl,而HNO<sub>3</sub>、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、HClO<sub>4</sub>介质的灵敏度较低,本试验证明了这一点。

由于酸的用量与氢化物的发生及测定的稳定性关系很密切,因此通过试验选择了盐酸介质的最佳酸度(表4)。由表4可见,酸度增高则所测荧光强度有所下降。当酸度范围为3.7%~5.3%时,相对于测定的荧光强度有一酸度平台,这对测定的稳定性非常有利。因此选择平台的中央,即最佳酸度确定为4.4%~4.6%。

表4 酸度对测定结果的影响

Table 4 Effect of acidity on the determination results

项目 Item	编号 No.				
	1	2	3	4	5
加入1 μg/ml 硒标液体积/ml Volume of Se standard solution	2	2	2	2	2
加入浓HCl体积/ml Volume of HCl	4	5	6	7	8
加入10% K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> 体积/ml Volume of 10% K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	3	3	3	3	3
终体积/ml Final volume	50	50	50	50	50
酸度/% Acidity	3.0	3.7~3.8	4.4~4.6	5.2~5.3	5.9~6.1
相应空白荧光强度 I <sub>0</sub> Fluorescence intensity of blank	229.4	233.8	228.1	232.2	223.7
标液测定荧光强度 I <sub>f</sub> Fluorescence intensity of standard	1 076.9	1 034.9	1 031.1	1 038.0	996.7
ΔI = (I <sub>f</sub> - I <sub>0</sub> ) Intensity difference	847.5	801.1	803.0	805.8	773.0

注:标液酸度是按浓盐酸的体积分数(37%~38%)来进行换算的。The acidity of standard solution was converted from the concentration of HCl(37%~38%).

### 3.3 还原剂及其用量的选择

在氢化物反应中,通常选用NaBH<sub>4</sub>或KBH<sub>4</sub>作还原剂,两者可以替换使用,只要其浓度(mol/L)相同即可。所配制的NaBH<sub>4</sub>(或KBH<sub>4</sub>)溶液必须含有一定的NaOH(或KOH),以保证溶液的稳定性。

还原剂的浓度与其中碱的浓度直接影响所测硒的灵敏度,因而离开它们来讨论最佳酸度是毫无意义的。通过试验,确定NaBH<sub>4</sub>的质量分数为0.8%(或KBH<sub>4</sub>为1.2%),NaOH的质量分数为0.5%,且配制时需准确称量。

### 3.4 样品消解及处理条件的选择

HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub> 湿式消解法是测定微量元素最常用的消化方法,一般文献上都采用 HNO<sub>3</sub> 和 HClO<sub>4</sub> 同时加入的方法<sup>[2]</sup>。而本实验发现, HNO<sub>3</sub> 和 HClO<sub>4</sub> 分别加入,消解效果更好。样品加入 HNO<sub>3</sub> 后放置一段时间再缓缓加热,样品不会由于反应激烈冲出管口而损失,而大部分样品消化后再加入 HClO<sub>4</sub> 也增加了安全可靠。且这样能尽量减少酸的用量,即降低了试剂空白,同时对硒的提取效率较高。样品消解后加入(1+1)HCl 继续加热至溶液清亮无色,目的是将+6价硒完全还原成+4价,以保证硒氢化物最大发生。

### 3.5 共存离子的干扰及消除

在测定过程中, Cu、Bi、Ag 等元素的存在对硒的

荧光信号有严重干扰,文献[5]报道加入一定量的 K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 作掩蔽剂可以明显消除许多重金属的干扰,并使硒氢化物较好的发生。本试验证实了这一点。

### 参 考 文 献

- [1] 孔祥瑞. 必需微量元素的营养、生理及临床意义[M]. 安徽: 科学技术出版社, 1982. 136-138.
- [2] 杨惠芬. 食品中硒的测定[A]. 食品卫生理化检验标准手册[S]. 北京: 中国标准出版社, 1996. 171-175.
- [3] 徐宝玲, 刘晓林. HG-AFS 测定生物样品中 Se[J]. 理化检验(化学分册), 1984, 20(3): 18.
- [4] 郝守进, 王亚光. 氢化物发生原子吸收和荧光法食物中硒的比较研究[J]. 卫生研究, 1992, 21(2): 9.
- [5] 徐宝玲. HG-AFS 测 Se 时元素干扰及消除[J]. 分析化学, 1985, 13(1): 29.

## A method study on determination of micro-Se by using hydride generation-atomic fluorescence spectrum

HAO Lin-hua, LIU Li, ZHAI Yu-xiu

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

**Abstract:** A method for determining the content of Se in food, seafood and feed has been studied by using AFS-2201 type double-beam hydride generation-fluorescence spectrum (HG-AFS). During the preliminary treatment, the samples were digested with a modified method of HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub> wet oxidation. The optimal conditions of all analytical factors were discussed and tested. The detection limit is 0.4 ng/ml, and the recovery rate is 88.4%~98.5%, and the linear range is 0~400 ng/ml. The values of Se content determined in standard samples are in the standard range. The method has many advantages in determining micro-Se in various samples.

**Key words:** HG-AFS; food; aquatic product; feed; Se