

茶叶中有机硒的检测方法研究

刘铁兵¹,屠海云²,陈美春²,翁 昆³,郭小青¹,吕敏媛¹,张贤忠¹

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院,杭州 310023;2. 杭州市质量技术监督检测院,杭州 310019;
3. 中华全国供销合作总社杭州茶叶研究院,杭州 310016)

摘 要: 为确立茶叶中氢化物-原子荧光光谱法检测有机硒的含量,采用4+1混合酸将茶叶中的有机硒氧化成无机硒后测定总硒含量;用1:1盐酸提取茶叶中的无机硒,并用4+1混合酸消解,然后测定无机硒含量,再通过差减法获得有机硒的含量。结果表明,有机硒的检出限为4.89 $\mu\text{g/L}$,总硒加标回收率为86.74%~93.20%,相对标准偏差(RSD)为0.83%~1.79%;无机硒加标回收率为81.00%~92.88%,相对标准偏差(RSD)为1.68%~2.23%。通过采用标准物质对照,偏差在合理的范围,该方法适合茶叶中有机硒和无机硒的测定。

关键词: 原子荧光光谱法;茶叶;有机硒;无机硒

中图分类号: TS237;TS272

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2013)05-0373-07

Research of detection methods of organic selenium in tea

LIU Tiebing¹, TU Haiyun², CHEN Meichun², WENG Kun³, GUO Xiaoqing¹,
LYU Minyuan¹, ZHANG Xianzhong¹

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology,
Hangzhou 310023, China; 2. Hangzhou City Institute of Calibration and Testing,
Hangzhou 310019, China; 3. Hangzhou Tea Research Institute of China
Cooperatives, Hangzhou 310020, China)

Abstract: Hydride generation atomic fluorescence spectrometry was used to detect the content of organic selenium in tea. Firstly, 4+1 mixed acid was used to determine the total content of selenium by changing organic selenium to inorganic selenium in tea; then inorganic selenium was extracted with 1:1 hydrochloric acid in tea, and was digested with 4+1 mixed acid to determine the content of inorganic selenium; finally the content of organic selenium was obtained by subtraction. The results showed that the detection limit of selenium is 4.89 $\mu\text{g/L}$; the recovery rate of total selenium is 86.74%—93.20% by recovery experiment with detection

收稿日期: 2013-08-22

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局、国家标准化管理委员会农业标准体系专项研究项目(2012(5));浙江省质量技术监督系统科研计划项目(20110236)

作者简介: 刘铁兵(1959—),男,浙江省嵊州人,教授级高级工程师,博士,主要从事食品及环境质量安全的教学与研究。

of actual samples; the relative standard deviation (RSD) is 0.83%—1.79%; the recovery rate of inorganic selenium is 81.00%—92.88%; the relative standard deviation (RSD) is 1.68%—2.23%. Compared with the standard substance, the data measured is in the permitted range, which indicates the method suitable for content determination of organic and inorganic selenium in tea.

Key words: atomic fluorescence spectrometry; tea; organic selenium; inorganic selenium

随着人们生活水平的提高,富含有益的微量元素的食品日益得到人们的重视,富硒茶是其重要一员。富硒茶具有降脂减肥、防止心脑血管疾病、防癌、抗毒灭菌、益寿的作用。而硒的功效成分以有机硒为主,无机硒(如亚硒酸钠)含量达到一定的限度则会有害,且生物效价低,因而其使用量有一定的限制^[1]。茶叶中的有机硒经生物转换而来,生物活性强、有利于人体吸收、保健、安全。目前,对硒的限量要求是根据茶叶中总硒的含量而定,未考虑无机硒作为限量。鉴于硒对人体的生理功能越来越为人们所重视,建议在茶叶中的硒测定时,要对无机硒和有机硒的含量分别测定,从而全面、有效地指导消费,科学补硒。

本研究用氢化物发生-原子荧光光谱法来检测茶叶中总硒、无机硒及有机硒的含量;经回收试验、重复性试验等来验证该方法的合理性^[2-3],发挥了现有方法的优势,弥补了不足。

1 实验部分

1.1 实验材料

国家标准物质绿茶 GBW10052(GSB—30),中国地质科学院地球物理与化学勘查研究所富硒地区茶叶样品。

1.2 实验试剂

硒元素国家标准溶液 GSBG 62029—90:1 000 $\mu\text{g/mL}$ (国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院);硒元素标准储备液:10 $\mu\text{g/mL}$,取硒标准溶液 1 mL 于 100 mL 容量瓶中,加入 20 mL 浓盐酸,用超纯水定容至刻度;浓盐酸;1:1 盐酸;4+1 混酸(硝酸与高氯酸质量比为 4:1);硼氢化钾;氢氧化钠。试剂均为优级纯。

1.3 仪器设备

AFS-9800 原子荧光光度计(北京科创海光仪器有限公司),硒编码空心阴极灯,超纯水仪(美国 Millipore 公司),KQ-500DE 型数控超声波清洗器,电热板,水浴锅,分析天平。

1.4 仪器条件

AFS-9800 原子荧光光度计,光电倍增管负高压 300 V;原子化器高度 8 mm;灯电流 80 mA;载气流量 400 mL/min;屏蔽气流量 1 000 mL/min。

1.5 实验方法

1.5.1 茶叶中总硒测定前处理

用分析天平准确称取 1 g 茶叶样品于烧杯中,加 4+1 混合酸 20 mL,置于电热板上消解,温度调至 185 $^{\circ}\text{C}$ 。加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现,近干;冷却后加入 5 mL 的 1:1 盐酸,再置于电热板上赶酸至近干;冷却后加入 5 mL 浓盐酸,用超纯水稀释至 25 mL,用于茶叶中总硒含量的测定。同时检测空白样品^[4-8]。

1.5.2 茶叶中无机硒检测的前处理

1.5.2.1 提取茶叶中的无机硒 用分析天平准确称取 2 g 样品于有刻度具塞试管中,加 1:1 盐酸 20 mL,置于超声波器中混匀 30 min 后,沸水浴中 30 min,冷却、过滤。

1.5.2.2 样品消化 取茶叶中无机硒提取液过滤 5 mL 于烧杯中,加 4+1 混合酸 10 mL,置于电热板上进行消化,温度调至 185 $^{\circ}\text{C}$ 。加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现,近干;处理液冷却后加入 5 mL 的 1:1 盐酸,再置于电热板上赶酸至近干;处理液冷却后加入 5 mL 浓盐酸,用超纯水稀释至 25 mL,用

于茶叶中总硒含量的测定,同时检测空白样品^[9-13]。

1.5.3 标准曲线及检出限

吸取硒 1 000 mg/L 标准液 20 mL 于 100 mL 容量瓶中,加 20 mL 浓盐酸,用超纯水稀释至质量浓度为 0.2 mg/L 的硒标准中间液,然后吸取 10 mL 中间液于 100 mL 容量瓶中,加 18 mL 浓盐酸,用超纯水定容至质量浓度为 0.02 mg/L 的硒标准工作液。检测时仪器自动稀释成不同质量浓度为 2、4、8、16、20 $\mu\text{g/L}$ 。以测得的荧光强度为纵坐标,相应的质量浓度为横坐标,在选定的最佳工作条件下绘制标准曲线,通过仪器工作站求出回归方程、相关系数。

1.5.4 重复性实验

1.5.4.1 总硒重复性实验 用电子天平准确称取 6 个平行样各 1 g,然后按步骤 1.5.1 进行分析和分析。

1.5.4.2 无机硒重复性实验 用电子天平准确称取 6 个平行样各 2 g,然后按步骤 1.5.2 进行分析和分析。

1.5.5 回收率与精密度

1.5.5.1 总硒回收率与精密度 用分析天平准确称取样品 1 g,分别将硒的标准溶液 0.20、0.50、1.00 mg/kg 添加到待测的样品中,按 1.5.1 处理和分析,每个浓度做 3 个平行实验。

1.5.5.2 无机硒的回收率与精密度 用电子天平准确称取样品 2 g,分别添加 0.10、0.20、0.50 mg/kg 的 3 个标准工作液,然后按步骤 1.5.2 进行分析和分析,每个浓度做 3 个平行实验。

1.5.6 标准物质验证

实验采用标准物质验证总硒的测定方法。用分析天平准确称取绿茶国家标准物质 2 g(标准物质的样品与处理同 1.5.1),对结果的准确性进行分析^[14]。

1.5.7 富硒地区茶叶样品分析

茶叶样品的处理同 1.5.1 和 1.5.2,按 1.5.5 的要求,检测茶叶中总硒和无机硒含量;有机硒含量通过总硒减去无机硒得出。

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的优化

实验考察了负高压和灯电流对检测信号的影响。结果表明,随着电压的增加,硒的信号明显增强,但随着负高压的增加,仪器测量噪声也会随着增大,同时过高的负高压会造成硒灯的寿命缩短。因此,综合考虑,选择负高压 300 V。调整灯电流的大小,硒的信号随着电流的增大明显增大,但同时,仪器测量噪声增大,灯的寿命也随之变差。因此,选择灯电流为 80 mA。

2.2 还原剂的选择

在原子荧光法分析中,NaBH₄ 或 KBH₄ 通常作为还原剂使用,也用作本实验的还原剂,其质量分数将对氢化物生成的反应速率和氩氢焰的质量有直接影响。但其质量分数相同条件下,两者可以替换使用。在 NaBH₄ 或 KBH₄ 溶液中通常采用一定量的 NaOH(或 KOH),以使其稳定性增强。为提高检测硒的灵敏度,必须考虑原子化过程中还原剂和碱的浓度。本实验选择硼氢化钾作还原剂,分别配制了质量分数为 1.0%、2.0%、2.5%、3.0% 的硼氢化钾溶液,在其他条件相同的情况下比较其荧光强度的大小。结果如图 1 所示。

由图 1 可知,当硼氢化钾在 2% 质量分数条件时,

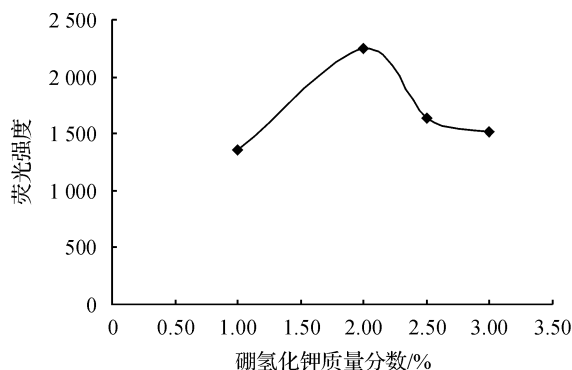


图 1 硼氢化钾质量分数对荧光强度的影响

Fig. 1 Effects of mass fraction of KBH₄ on fluorescence intensity

可获得最大荧光强度；当硼氢化钾在大于或小于 2% 质量分数条件时，荧光强度向减小的方向移动；为使本实验的灵敏度提高，改善信噪比具有重要意义，故实验采用在 0.5% 的 KOH 溶液中、硼氢化钾为 2% 质量分数条件下进行。

2.3 载流液的选择

实验以盐酸作为载流液，研究了不同体积分数 2.0%、3.0%、5.0%、8.0%、10.0% 的盐酸，在其他条件不变的情况下对荧光强度的影响。结果如图 2 所示。

由图 2 可见，当盐酸体积分数由 2.0% 增加时，荧光强度也在增加，当达到 5.0% 时，获得最大荧光强度，但当盐酸体积分数继续增加时，荧光强度反而开始减小。因此，实验载流液选择体积分数为 5.0% 的盐酸。

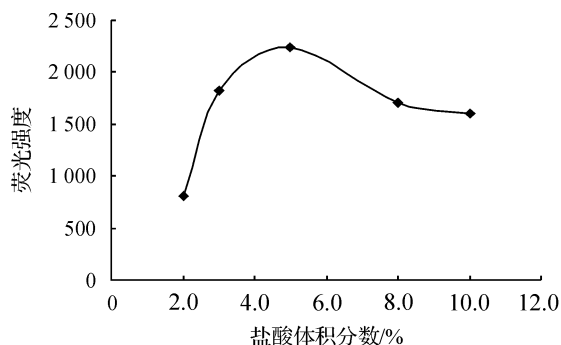


图 2 载流液盐酸体积分数对荧光强度的影响

Fig. 2 Effects of HCl volume fraction of carrier liquid on fluorescence intensity

2.4 盐酸体积分数对无机硒提取的影响

茶叶中的无机硒通常为四价的亚硒酸钠，少数为六价的硒酸钠，浸提过程能否将无机硒提取效率最大化，且在盐酸介质中经硼氢化钠还原成 SeH_2 ，进入氢化物原子化器，是结果准确的关键。本实验考察了不同体积分数 10%、20%、50%、70% 的盐酸溶液对无机硒提取的影响。结果如表 1 所示。

表 1 盐酸体积分数对无机硒提取的影响

Table 1 Effects of HCl concentration on extraction of inorganic selenium

盐酸体积分数/%	标准溶液质量比/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	测定值/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)			平均回收率/%
10	0.2	0.138	0.141	0.142	70.17
20		0.167	0.162	0.165	82.33
50		0.186	0.181	0.183	91.67
70		0.173	0.169	0.171	85.50

由表 1 可见，当盐酸体积分数较低时，回收率也较低，当体积分数增加，回收率也增高，在体积分数为 50% 时回收率达到最高点，但当盐酸体积分数继续增大时，回收率又有所降低。本实验采用 50% 的盐酸溶液作为提取剂。

2.5 温度和时间对无机硒提取的影响

研究了不同浸提温度、浸提时间对茶叶中无机硒提取的影响。结果如表 2 所示。

表 2 浸提温度和时间对无机硒提取的影响

Table 2 Effects of temperature and time on extraction of inorganic selenium

浸提温度/ $^{\circ}\text{C}$	时间/min	标准溶液质量比/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	测定值/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)			平均回收率/%
70	60	0.200	0.116	0.112	0.109	56.17
100	30	0.200	0.180	0.179	0.183	90.33

由表 2 可见，沸水浴 30 min，茶叶中无机硒的平均回收率可达到 90.33%，由于在 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴的条件下，无机硒的平均回收率较低，仅为 56.17%，因此本实验提取茶叶中的无机硒，选择沸水浴 30 min 进行。

2.6 标准曲线及检出限

硒的标准曲线绘制如图 3 所示。

结果表明，取硒在 0~20 $\mu\text{g}/\text{L}$ 质量浓度范围内进行的检出限实验，线性方程为 $y=114.69x-42.941$ ，相关系数 $R^2=0.9995$ ， $R=0.9997$ 。对空白试剂进行连续 11 次测定，根据检出限的计算公式 $L=3S/R$ (S 为空白多次测量的标准方差， R 为回归方程的斜率)，得出最低检出

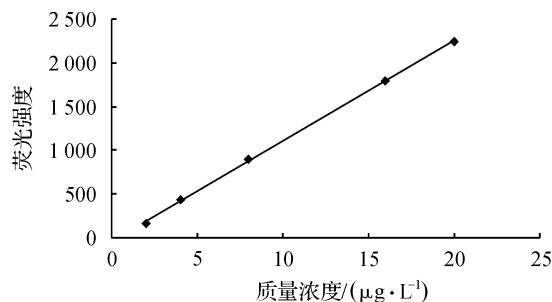


图 3 硒标准曲线

Fig. 3 Standard curve of selenium

限为 4.89 $\mu\text{g/L}$ 。

2.7 重复性实验

2.7.1 总硒重复性实验

茶叶总硒重复性实验结果见表 3。

表 3 茶叶中总硒重复性实验结果

Table 3 Repeatability experimental results of total selenium content in tea

样品名称	测定值/(mg · kg ⁻¹)		平均值/(mg · kg ⁻¹)	相对标准偏差 RSD/%
富硒产地茶样 1	0.598	0.612	0.604	1.34
	0.613	0.607		
	0.592	0.604		

由表 3 可见,富硒产地茶样 1 中总硒平均值为 0.604 mg/kg,相对标准偏差为 1.34%,表明该方法准确度高,重复性好,能满足茶叶中总硒的检测要求。

2.7.2 无机硒重复性实验

茶叶中无机硒重复性实验结果见表 4。

表 4 茶叶中无机硒重复性实验结果

Table 4 Repeatability experimental results of inorganic selenium content in tea

样品名称	测定值/(mg · kg ⁻¹)		平均值/(mg · kg ⁻¹)	相对标准偏差 RSD/%
富硒产地茶样 1	0.122	0.129	0.126	2.00
	0.127	0.125		
	0.127	0.124		

由表 4 可见,富硒产地茶样 1 中无机硒平均值为 0.126 mg/kg,相对标准偏差为 2.00%,表明该方法准确度高,重复性好,能满足茶叶中无机硒的检测要求。

2.8 回收率与精密度实验

2.8.1 总硒回收率与精密度

用分析天平准确称取样品 1 g,分别添加标准溶液 0.20、0.50、1.00 mg/kg 于样品中,按 1.5.1 处理分析,每个标准溶液质量比做 3 个重复。结果见表 5。

表 5 茶叶中总硒的回收率与精密度

Table 5 Recovery and precision of total selenium in tea

样品名称	本底值/ (mg · kg ⁻¹)	标准溶液质量比/ (mg · kg ⁻¹)	测定值/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
富硒产地 茶样 1	0.604	0.200	0.783	89.30	91.00	1.79
		0.200	0.791	93.20		
		0.200	0.785	90.50		
		0.500	1.054	90.02	88.84	1.68
		0.500	1.038	86.74		
		0.500	1.053	89.76		
		1.000	1.514	90.96	90.70	2.23
		1.000	1.485	88.10		
		1.000	1.535	93.05		

由表 5 可见,茶叶中总硒的回收率达到 86.74%~93.20%,相对标准偏差为 1.68%~2.23%,表明该方法回收率高,精密度高,能满足检测茶叶中总硒的检测要求。

2.8.2 无机硒回收率与精密度

用电子天平准确称取样品 2 g,分别添加标准溶液 0.10、0.20、0.50 mg/kg 于样品中,按 1.5.2 处理

分析,每个标准溶液质量比做 3 个重复。结果见表 6。

表 6 茶叶中无机硒的回收率与精密度

Table 6 Recovery and precision of inorganic selenium in tea

样品名称	本底值/ (mg · kg ⁻¹)	标准溶液质量比/ (mg · kg ⁻¹)	测定值/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
富硒产地 茶样 1	0.126	0.100	0.209	82.80	81.67	0.79
		0.100	0.207	81.00		
		0.100	0.207	81.20		
		0.200	0.300	87.40	87.42	1.00
		0.200	0.303	88.50		
		0.200	0.298	86.35		
		0.500	0.590	92.88	92.19	0.84
		0.500	0.589	82.58		
		0.500	0.581	91.10		

由表 6 可见,无机硒在茶叶中的平均回收率在 81.67%~92.19%,相对标准偏差为 0.84%~1.00%,结果表明该方法回收率好,精密度高,能满足检测茶叶中无机硒的检测要求。

2.9 标准物质验证

根据优化的检测条件,采用标准物质对总硒的测定方法进行验证。用分析天平准确称取绿茶标准物质 2 g,按 1.5.1 进行前处理,进行检测,对结果的准确性进行分析。结果见表 7。

表 7 标准物质验证

Table 7 Verification by standard substance

样品名称	样品代号	标准参考值/(mg · kg ⁻¹)	测定值/(mg · kg ⁻¹)	合格性评价
绿茶	GBW10052(GSB-30)	0.10±0.03	0.092	测定值在标准范 围内,符合要求
			0.084	
			0.088	

由表 7 可见,由该方法测定的绿茶标准物质中的硒含量在标准参考值内,表明该方法准确、可靠,符合茶叶中总硒的检测要求。

2.10 有机硒的测定

通过总硒减去无机硒得出茶叶样品中有机硒的含量。本实验测定了 10 种不同的茶叶样品,茶叶样品中有机硒含量占总硒含量及其百分比如表 8 所示。

表 8 样品中有机硒质量比占总硒质量比的百分比检测结果

Table 8 Results of organic selenium percentage of total selenium in tea samples

样品序号	总硒质量比/(mg · kg ⁻¹)	无机硒质量比/(mg · kg ⁻¹)	有机硒质量比/(mg · kg ⁻¹)	有机硒占总硒质量比/%
1	0.60	0.13	0.47	78.33
2	0.33	0.09	0.24	72.73
3	2.76	0.66	2.10	76.09
4	0.31	0.08	0.23	74.19
5	0.79	0.07	0.72	91.14
6	0.11	0.08	0.03	27.27
7	0.13	0.06	0.07	53.85
8	0.40	0.07	0.33	82.50
9	0.27	0.06	0.21	77.78
10	0.11	0.04	0.07	63.64

由表 8 可见,经检测富硒产地的 10 种茶叶中有机硒含量除了样品 6 都占总硒的 50%以上,7 种茶样甚至达到 70%以上,样品 5 更是达到 91.14%,无机硒含量则相对较低。结果表明大部分富硒地区的茶

叶中有机硒的含量较高,有益健康。

3 结 语

本研究为茶叶中有机硒的检测提供了一个简便的方法。研究了用氢化物发生-原子荧光光谱法测定硒中还原剂、载流、提取剂等因素对硒测定结果的影响。结果表明,当还原剂硼氢化钾质量分数为2%,载流液盐酸体积分数为5%时,有较大的荧光强度;用50%盐酸溶液,沸水浴密闭30 min,无机硒的在茶叶样品中的提取和回收率满足检测要求。检测的10种富硒地区的茶叶中的有机硒含量除了样品6外,都超过总硒的50%,7种茶样达到70%以上,样品5更是达到91.14%,无机硒含量则相对较低,饮用在富硒地区出产的富硒茶,有益健康。在仪器优化的条件下,氢化物还原法原子荧光光谱法测定茶叶中的硒,灵敏、线性、检出限低、回收率高、操作性强。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB 2762—2005,食品中的污染物限量[S]. 北京:中国标准出版社,2005.
- [2] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.93—2010,食品中硒的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [3] Alegria A, Barberá R, Farré R, et al. Optimization of selenium determination in human milk and whole blood by flow injection hydride atomic absorption spectrometry[J]. Journal of AOAC International, 1998, 81(2): 457-461.
- [4] De Leon C A P, Sutton K L, Caruso J A, et al. Chiral speciation of selenoamino acids and selenium enriched samples using HPLC coupled to ICP-MS[J]. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2000, 15: 1103-1107.
- [5] Zhao Y Q, Zheng J P, Yang M W, et al. Speciation analysis of selenium in rice samples by using capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Talanta, 2011, 84(3): 983-988.
- [6] 沈娥芬. 食用菌中硒元素含量的测定[J]. 现代农业科技, 2011(13): 329-330, 333.
- [7] 刘曲滨,刘康,包惠燕,等. 富硒酵母中硒含量的测定[J]. 广州食品工业科技, 2000, 16(3): 33-35.
- [8] 刘禹,刘秀梅,肖白曼,等. 氢化物-原子荧光法测定乳粉中的微量硒[J]. 中国乳品工业, 1999, 27(2): 30-32.
- [9] 王世成,王颜红,刘艳辉,等. 氢化物发生-原子荧光法测定鸭蛋中无机硒和有机硒[J]. 食品科学, 2013, 34(4): 183-185.
- [10] 高建忠,秦顺义,黄克和. 氢化物发生-原子荧光光谱法测定富硒酵母中的有机硒和无机硒[J]. 分析科学学报, 2006, 22(2): 157-160.
- [11] 肖辉,吴向阳,仰榴青,等. 氢化物-原子荧光法测定姬松茸子实体中硒含量[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 247-249.
- [12] 郝素娥,滕冰. 硒酵母中有机硒及硒代氨基酸含量的测定方法[J]. 分析测试学报, 1999, 18(3): 72-74.
- [13] 孙汉文,冯波. 悬浮进样-氢化物发生原子荧光法用于面粉和富硒盐中微量硒形态分析[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 225-228.
- [14] Abdulah R, Miyazaki K, Nakazawa M, et al. Chemical forms of selenium for cancer prevention[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2005, 19(2): 141-150.