

电驱动膜萃取法在蔬菜水果硒元素检测中的应用

Application of electric driven membrane extraction method in the detection of selenium in vegetables and fruits

李 勇 张周洋 田 芳 唐娇艳 邓 勇
LI Yong ZHANG Zhou-yang TIAN Fang TANG Jiao-yan DENG Yong
(湖南省郴州市食品药品检验检测中心, 湖南 郴州 423000)
(Chenzhou Center for Food and Drug Control, Chenzhou, Hunan 423000, China)

摘要:提出一种新方法,将样品通过混合酸消化后应用电驱动膜萃取技术富集其中的硒元素,然后测定其含量。结果表明,该方法缩短了检测时间,减少了试剂消耗,实际样品检出限可达到 0.005 mg/kg,平均回收率为 92.4%。通过国家标准物质验证,试验结果符合其不确定度要求。该方法适宜蔬菜水果中硒的检验。

关键词:蔬菜;水果;硒;样品检出限;电驱动;膜;萃取

Abstract: A new method for the determination of selenium (Se) in vegetables and fruits was developed using electric membrane extraction. The effects of several factors were investigated, such as Time spent, Consumption of reagents and Detection limit of sample. The results showed that the detection limit of sample was 0.005 mg/kg by spending few time and reagent. The recovery of Se was 92.4% on an average. Through the verification of the national standard reference materials, the experimental results meet the requirements of the uncertainty. The method is suitable for the detection of selenium in fruits and vegetables.

Keywords: vegetables; fruits; selenium; the sample detection limits; Electric drive; membrane; extraction

近年来,富硒产业尤其是富硒蔬菜、水果产业的发展方兴未艾,但其质量参差不齐,对其硒含量的检测也相对滞后。目前食品中硒元素的检测方法主要有氢化物原子荧光光谱法^[1](以下简称国标第一法)、荧光法^[2](以下简称国标第二法)、石墨炉原子吸收光谱法^[3]以及 ICP—MS(电感耦合等离子体质谱仪)法^[4]等。其中,石墨炉原子吸收光谱法硒元素样品检出限为 0.05 mg/kg^[5],达不到蔬菜、水果检测的要

求(低于 0.01 mg/kg^[6-7])。ICP—MS 法硒元素样品检出限为 0.002 mg/kg^[8-9],准确性高,能满足检测要求,但设备昂贵,操作难度大,日常保养、维护成本较高。荧光法只能检测硒含量为 0.02~1.00 mg/kg 的样品,并且样品需要提前烘干,耗时太长,使用的 DAN 试剂具有一定毒性,结果也不够准确。氢化物原子荧光光谱法因其样品检出限较低(0.025 mg/kg),且灵敏度较高和分析速度较快等特点,是当前硒检测的主要方法。但由于普通蔬菜、水果含水量高,硒含量低(低于 0.01 mg/kg),消化后样品待测液硒含量常常低于或接近仪器的样品检出限,结果可信度低。同时由于其基体复杂,在消化过程中,某些成分会与消化液作用产生难溶性絮状物,对结果产生干扰。因此急需创新适合蔬菜、水果中硒元素的检测方法。针对以上方法检测蔬菜、水果硒含量,存在样品检出限较高、操作繁琐、复杂基体干扰大、耗时长等系列问题,本研究拟将电化学经典方法与食品检验技术联用,设计一套电驱动膜萃取装置,将其加入试验的前处理阶段,预先富集样品中的硒元素,并利用离子交换膜的选择透过性排除复杂基体的干扰。目前,电驱动膜萃取或电驱动膜渗析的方法广泛应用于工业淡水预处理和环境污染治理中^[10-11],近年来在医药领域也有一些应用^[12],而食品领域相关的研究较少^[13-14]。本研究将电驱动膜萃取新方法应用到蔬菜、水果的硒含量检测当中,并对其实际检测效果进行了研究,为食品元素检验领域提供了一条新思路。

1 电驱动膜萃取装置与方法

1.1 装置原理与设计

1.1.1 装置原理 电驱动膜萃取是指通过电势差驱使带电化学离子发生迁移,使目标物质从复杂样品基底中分离、萃取和富集的一项技术。在样品前处理过程中引入电驱动膜萃取装置,利用电力驱动,使硒通过离子交换膜从样品池迁移到接收瓶中。试验中经反复摸索,确定电流、电导率以及萃取时间等最佳条件,排除复杂样品基体的干扰,实现了对硒元素的富集。由于同时采用较小的定容体积,保持测定液

基金项目:湖南省食品药品监督管理局食品药品安全科技项目(编号:湘食药科 R201621)
作者简介:李勇,男,湖南省郴州市食品药品检验检测中心高级工程师。
通信作者:张周洋(1987—),男,湖南省郴州市食品药品检验检测中心工程师。E-mail: eaton0362@163.com
收稿日期:2016—11—22

中硒含量较高,从而提高了样品中硒元素检出限。

1.1.2 电驱动膜萃取装置 装置由电泳仪电源、样品池、辅助瓶、接收瓶、电极和 115 膜构成。电泳仪电源提供稳定的电流,正负两极连接铂片电极,铂片电极分别置于辅助瓶、接收瓶中,115 膜裁剪成适合大小以中空环形螺帽固定在瓶上。装置设计图见图 1。

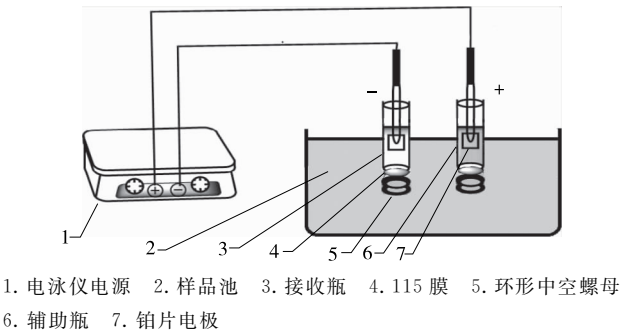


图 1 电驱动膜萃取装置图

Figure 1 Extraction device of electric driven membrane

1.2 材料与仪器

1.2.1 材料与试剂

样品来源:胡萝卜、莴笋、小白菜、花椰菜、茄子、苹果、香蕉、奇异果,郴州本地菜市场购买;

黄瓜、脐橙:郴州北湖区富硒产业基地;

苹果、大枣:山东枣庄富硒产业基地;

梨:湖北恩施富硒产业基地;

菠萝、番石榴、火龙果:福建诏安富硒产业基地;

猕猴桃:贵州开阳富硒产业基地;

硒标准溶液:国家钢铁材料测试中心 GSB G 62029-90 (3401),浓度 1 000 μg/mL,介质 10% HCl,批号 14072312;

高氯酸、硝酸、盐酸、硼氢化钾、硫脲、抗坏血酸、30%过氧化氢、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠:优级纯,国药集团化学试剂有限公司;

Nafion 115 膜:美国杜邦公司。

1.2.2 主要仪器设备

双通道原子荧光光度计:AFS-230E 型,配 IFS-30 双泵断续流动系统,AS-10 自动进样器,北京海光仪器公司;

电泳仪电源:DYY-4C 型,北京六一仪器厂;

铂片电极:铂片定制规格为 10 mm×10 mm×0.1 mm,定制。

1.3 方法

1.3.1 硒标准曲线的绘制 分别移取 100 ng/mL 硒标准使用液 0.00,2.00,4.00,6.00,8.00,10.00 mL 于 100 mL 容量瓶中(相当于 1 mL 含 0.00,2.00,4.00,6.00,8.00,10.00 ng 硒),依次加入 0.2 mol/L 中性磷酸盐缓冲溶液 50 mL,5%抗坏血酸 10 mL 和 5%硫脲溶液 10 mL,以 5%盐酸溶液定容。放置 15 min 后,测定其荧光值(检测条件:光电倍增管负高压 300 V;硒空心阴极灯电流 50 mA;加热温度 200 ℃;原子化器高度 8 mm;载气流量 400 mL;屏蔽气流量 900 mL),绘制标准曲线。

1.3.2 样品处理及硒含量测定 将蔬菜、水果取其可食部用水洗净后用纱布吸去水滴,打成匀浆后,称取 2.00 g(精确至 0.001 g)试样,置于消化瓶中,加 10.0 mL 混合酸(硝酸与高氯酸按体积比 9:1 混合)及几粒玻璃珠,以电热板加热消化。当溶液变为清亮无色并伴有白烟时,再继续加热至剩余体积 2 mL 左右,切不可蒸干。冷却,再加 5%盐酸 5.0 mL 预还原,不可超过 5 min。冷却后将消化液完全转移至电驱动膜萃取装置的样品池中。调整电极距离为 5 cm,接收瓶中加入 0.2 mol/L 中性磷酸盐缓冲溶液 5.0 mL,辅助瓶中加入 6 mol/L 盐酸溶液 5.0 mL,样品池中加入 0.1 mol/L KOH 溶液使 pH 值为 9.0 左右。打开电泳仪电源,设置电流为 100 mA,萃取 10 min,关闭电源,取出接收瓶。将接收瓶中溶液转移至样品管中,向样品管中加入 5%抗坏血酸 1 mL 和 5%硫脲溶液 1 mL,以 5%盐酸溶液定容到 10 mL。放置 15 min 后,测定荧光值,代入标准曲线中可知测定液硒浓度。同时做空白试验。

1.3.3 样品中硒的含量的计算

$$X = \frac{(C - C_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000 \times 1\,000}, \tag{1}$$

式中:

X——样品中硒的含量,mg/kg;

C——样品测定液测定浓度,ng/mL;

C₀——空白测定液测定浓度,ng/mL;

V——测定液总体积,mL;

M——样品质量,g。

2 结果与分析

2.1 准确度试验

与国标第一法进行对照,采用测定回收率的方式对方法的准确度进行评价。按照 1.3.1 绘制标准曲线,标准曲线数据见图 2。由图 2 可知,标准曲线相关系数为 0.998 1>0.995,线性良好。准确称取富含硒元素的苹果、菠萝、番石榴、黄瓜、火龙果、大枣、梨、猕猴桃、脐橙样品 2.00 g 于消化瓶中,按 1.3.2 方法和国标第一法分别消化和测定样品中硒含量,结果见表 1。根据配对 t 检验^[15] 计算可知 |t|=0.254<t,双尾临界值为 2.145,说明两方法之间没有明显差异。对 6 个不同样品的加标回收率试验结果见表 2。由表 2 可知,加标回收率为 88.0%~96.7%,平均回收率为 92.4%,加标回收率标准偏差 S=3.5%。说明本方法准确可靠。

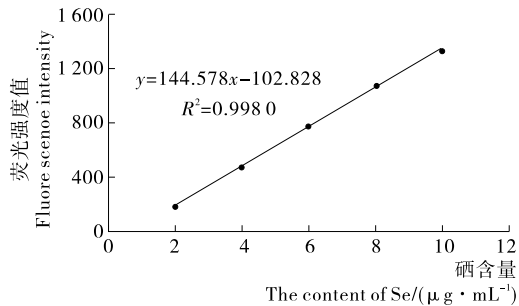


图 2 标准曲线

Figure 2 Standard curve

表 1 硒含量检测结果

Table 1 Selenium content test results mg/kg

方法	本法结果	国标第一法结果	方法	本法结果	国标第一法结果
苹果	0.072 2	0.075 8	大枣	0.081 6	0.085 9
菠萝	0.063 1	0.067 3	梨	0.051 3	0.054 4
番石榴	0.031 9	0.033 9	猕猴桃	0.028 9	0.030 7
黄瓜	0.115 1	0.121 2	脐橙	0.053 3	0.057 9
火龙果	0.041 7	0.043 5			

表 2 加标回收率试验结果

Table 2 The recovery of standard addition test results

样品	样品质量/g	底值/ng	加标量/ng	实测值/ng	加标回收率/%	平均回收率/%
1	2.080 6	29.75	25	51.76	88.04	92.39
2	2.048 8	43.64	50	88.32	89.36	
3	2.024 6	118.56	100	210.24	91.68	
4	2.086 6	126.88	150	265.66	92.52	
5	2.104 4	281.99	200	475.45	96.73	
6	2.037 8	293.44	500	773.65	96.04	

2.2 方法的精密度

取黄瓜样品 6 次平行测定结果,计算其相对标准偏差,结果见表 3。由表 3 可知,6 次平均结果为 0.117 mg/kg,相对标准偏差 S=0.8%。说明本方法重现性良好。

2.3 样品检出限

对应蔬菜、水果类别,取硒含量低的本地胡萝卜、莴笋、小白菜、花椰菜、茄子、苹果、香蕉、奇异果作为本底,分别加入硒

表 3 平行测定结果[†]

Table 3 Parallel determination results mg/kg

平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	平均结果
0.118	0.123	0.109	0.127	0.107	0.118	0.117

† 相对标准偏差 0.8%。

标准使用液 0.00,0.20,0.40,0.60,0.80,1.00 mL(当定容体积为 10 mL 时,相当于测定液 1 mL 含 0.00,2.00,4.00,6.00,8.00,10.00 ng 硒),按照 1.3.2 方法消化和测定其荧光值。根据其荧光值做标准曲线,得到线性方程 $If=KC+b$ 。当荧光值大于零时,试验有意义,可得到其检出限 $C\geqslant K/b$,并根据定容体积与样品量得到样品检出限,结果见表 4。由表 4 可知,8 种蔬菜水果的样品检出限范围为 0.004 8~0.005 4 mg/kg,相对标准偏差 S=0.02。按国标第一法和国标第二法方法分别做样品检出限,可得到国标第一法的样品检出限为 0.025 mg/kg;国标第二法的样品检出范围为 0.02~1.00 mg/kg。

2.4 国家标准物质验证结果

对国家标准物质豆角、芹菜、大葱中硒含量进行了测定,进一步验证方法的准确度。结果见表 5。由表 5 可知,实测结果符合其不确定度要求。说明本方法结果准确。

2.5 与第三方实验室比对验证结果

本方法分别与湖南省食品质量监督检验研究院、SGS 通标标准技术服务有限公司(上海)谱尼测试集团上海有限公司作三方试验比对。结果见表 6。结果表明,本方法结果与第三方结果相吻合,准确有效。

2.6 与国家标准方法的使用效果对比

将本方法与国家标准两种方法中一些关键点进行了比对和评价,结果见表 7。由表 7 可知,本方法相对于国标两种

表 4 样品检出限[†]

Table 4 The sample detection limit

类别	品种	线性方程	方法检出限/(ng·mL ⁻¹)	样品检出限/(mg·kg ⁻¹)
根菜类	胡萝卜	$If=159.366C-156.338$	0.981	0.004 9
茎菜类	莴笋	$If=184.359C-194.314$	1.054	0.005 3
叶菜类	小白菜	$If=168.177C-167.168$	0.994	0.005 0
花菜类	花椰菜	$If=146.362C-158.364$	1.082	0.005 4
果菜类	茄子	$If=190.425C-182.427$	0.958	0.004 8
常绿果树核果类	苹果	$If=175.385C-181.348$	1.034	0.005 2
香蕉类	香蕉	$If=147.346C-154.271$	1.047	0.005 2
常绿果树浆果类	奇异果	$If=177.821C-173.553$	0.976	0.004 9

† 定容体积 10 mL,样品质量 2.00 g,相对标准偏差 0.02%。

表 5 与国家标准物质比对结果

Table 5 The comparison verification results with china

certified reference materials mg/kg

标准物质	标准值及不确定度	本方法实测结果
豆角	0.043 0±0.015 0	0.042 0
芹菜	0.011 8±0.017 0	0.011 3
大葱	0.069 0±0.009 0	0.065 0

表 6 与第三方检验机构比对验证结果

Table 6 The comparison verification results with third test institution mg/kg

样品名	本方法结果	湖南省食品质量监督检验研究院结果	谱尼测试集团上海公司结果	SGS 通标标准技术服务有限公司(上海)结果
大米	0.790	0.770	0.763	0.730
大葱	0.065	0.076	0.082	0.050
豆角	0.042	0.046	0.096	0.030

表 7 与国家标准方法效果比对
Table 7 Effect comparison with the national standard method

方法	样品消化与预还原过程	试剂	样品检出限/ (mg·kg ⁻¹)	处理方式
本法	直接消化 2~3 h,加入 5% HCl 溶液至沸腾,不超过 5 min,电动萃取 10 min;硒元素态化:无	5%硫脲+5%抗坏血酸(毒性微弱)	0.005	萃取中通过离子交换膜选择性滤过
氢化物原子荧光光谱法	预消化 12 h,消化 2~3 h,加入 6 mol/L HCl 溶液,硒的预还原时间未明确说明;硒元素态化:超过 5 min,有损失	铁氰化钾(毒性较小)	0.025	未做说明
荧光法	烘干 6~24 h,消化 2~3 h,加入 10% HCl 溶液,硒的预还原时间未明确说明;硒元素态化:超过 5 min,有损失	DAN 试剂(毒性较大,需要暗室操作)	0.020~1.000	当某些蔬菜、水果出现沉淀,以加热出现滚滚白烟为终点

方法,在保证试验结果准确的前提下,具有耗时少、试剂毒性小、预还原过程准确稳定、样品检出限低和能消除复杂基体影响的优势。

3 结论

本研究将电驱动膜萃取技术应用于蔬菜、水果的硒元素检测中,设计了一种电驱动膜萃取装置,提出了新的检测方法,回收率达到 88.0%~96.7%,实际样品检出限达到 0.005 mg/kg,精密度高。同时做标准物质比对并与第三方检验机构进行能力验证,结果准确、符合要求。将本方法与国家标准方法关键步骤进行了比较,结果表明,本法具有更低的样品检出限和更高的工作效率,更适用于蔬菜、水果中硒含量的检测,将对中国富硒产业的发展起到积极促进作用。

试验中,因样品消化液含酸,转移入样品池中会导致其溶液电导率值不断变大。若样品池中溶液电导率值接近接收瓶中溶液电导率值,装置的富集效率和重复性会受到影响。研究符合试验要求的最低电导率差值和如何降低样品消化液对样品池溶液电导率值影响的方法,有待进一步研究。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.93—2010 食品安全国家标准 食品中硒的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2010:1-3.
[2] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.93—2010 食品安全国家标准 食品中硒的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2010:3-6.
[3] 国家环境保护局. GB/T 15505—1995 水质 硒的测定 石墨炉

原子吸收分光光度法[S]. 北京:中国标准出版社,1995:631-633.

[4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 2208—2008 水产品中钠、镁、铝、钙、铬、铁、镍、铜、锌、砷、镉、钼、铅、汞、硒的测定 微波消解-电感耦合等离子体-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2008:1-3.
[5] 弓巧娟,杨海英. 石墨炉原子吸收法测定黑花生中的硒[J]. 分析测试学报,2011,30(2):218-221.
[6] 张喜琦,张卉,王骏,等. 不同蔬菜中硒累积量及硒生物富集能力差异研究[J]. 江苏农业科学,2009(4):170-171.
[7] 刘兴艳,柏杉杉,张希. 水果中硒含量的研究[J]. 四川师范大学学报:自然科学版,2010,33(4):526-528.
[8] 王军,刘从强,王莹莹. 电感耦合等离子体质谱测量硒的研究进展[J]. 质谱学报,2008,29(5):311-320.
[9] 董文丽,李和平,徐刚. 离子缔合体系测定痕量硒(Ⅳ)的研究与应用[J]. 食品与机械,2006,29(5):81-83.
[10] 王玉军,骆广生,戴猷元. 膜萃取的应用研究[J]. 现代化工,2000,20(1):13-18.
[11] 徐铜文. 离子交换膜的重大国家需求和创新研究[J]. 膜科学与技术,2008,28(5):1-10.
[12] 孙建楠. 一种新型的样品前处理技术—电膜萃取的发展及应用[J]. 济宁医学院学报,2015,2(3):86-91.
[13] 黄森. 砷和硒的电动萃取/原子荧光光谱新分析方法研究[D]. 北京:中国科学技术大学,2014:3-7.
[14] 陈世洋,施周,李学瑞,等. 阴离子交换膜分离饮用水中 Cr(VI)的研究[J]. 膜科学与技术,2014,34(1):96-100.
[15] 盛聚,谢式千,潘承毅. 概率论与数理统计[M]. 北京:高等教育出版社,2008:184-187.
[16] 王赛赛. 蒜油的纯化及其微胶囊化研究[D]. 上海:上海海洋大学,2011:3-5.
[17] 郑平安,黄健,孙静,等. HS-SPME 结合 GC-MS 法分析鲐鱼肉加热前后挥发性成分变化[J]. 食品科学,2012,33(14):242-246.
[18] 阚建全. 食品化学[M]. 2 版. 北京:中国农业大学出版社,2008:376-377.
[19] 张丽娟. 恒顺香醋醋酸发酵过程中风味物质的变化分析[D]. 无锡:江南大学,2008:3-5.

(上接第 31 页)

[12] 朱成林,兰秋雨,李诚,等. 花椒添加量对卤兔腿挥发性风味物质的影响[J]. 食品与机械,2016,32(2):154-159.
[13] WANG Jun, HONG Xue-zhen, WANG Yong-wei, et al. Discrimination of storage time for pork using Metal Oxide Semiconductor (MOS)-type E-Nose [J]. Sensors and materials, 2013, 25(4): 257-268.
[14] 李宁,郑福平,李强,等. 电子鼻对牛奶,奶油,奶味香精检测参数的研究[J]. 食品科学,2009(18):335-339.
[15] 李华,刘曙东,王华,等. 葡萄酒感官评价结果的统计分析方法