

原子荧光紧密内插法快速测定莲藕中砷的生物吸收比

高向阳^{1,2*}, 王彦花^{1,2}, 郭楠楠^{1,2}

(1. 郑州科技学院食品科学与工程学院, 郑州 450064; 2. 郑州市食品安全快速检测重点实验室, 郑州 450064)

摘要: 目的 建立原子荧光法快速测定莲藕中微量砷和生物吸收比。方法 按照 GB 5009.11—2014《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》中的原子荧光法对照测定, 用微波辅助消解样品, 用紧密内插法测定莲藕各组织和土壤中的砷。结果 方法线性关系好($r^2=0.9997$), 检出限为 0.00732 ng/mL, 定量限为 0.0244 ng/mL。平均回收率为 99.80%~101.19%, 相对标准偏差小于 1%。各组织砷的生物吸收比为 22.03%~79.54%, 与国标法相比, 通过显著性检验, 方法之间没有显著性差异($P>0.05$)。结论 该法不需要绘制标准曲线和测定空白, 快速简便、计算简单、成本低廉, 拓展了原子荧光分析技术的应用范围, 具有一定的创新性和推广价值。

关键词: 紧密内插法; 原子荧光法; 莲藕; 砷; 生物吸收比

Rapid determination of biological absorption ratio of arsenic in lotus root by atomic fluorescence close interpolation

GAO Xiang-Yang^{1,2*}, WANG Yan-Hua^{1,2}, GUO Nan-Nan^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Zhengzhou University of Science and Technology, Zhengzhou 450064, China; 2. Zhengzhou City Food Safety Rapid Test Key Laboratory, Zhengzhou 450064, China)

ABSTRACT: Objective To establish an atomic fluorescence method for rapid determination of trace arsenic and biological absorption ratio in lotus root. **Methods** According to GB 5009.11—2014 National food safety standard -Determination of total arsenic and inorganic arsenic in food, the samples were digested by microwave-assisted digestion, and the arsenic in lotus root tissues and soil was determined by close interpolation method. **Results** The linear relationship of the method was good ($r^2=0.9997$), the detection limit was 0.00732 ng/mL and the quantitative limit was 0.0244 ng/mL. The average recovery rates were 99.80%–101.19%, and the relative standard deviations were less than 1%. The biological absorption ratios of arsenic in each tissue were 22.03%–79.54%. Compared with the national standard method, there was no significant difference between the methods through the significance test ($P>0.05$). **Conclusion** This method does not need to draw the standard curve and determine the blank, it is fast and simple, the calculation is simple, and the cost is low. It expands the application scope of atomic fluorescence analysis technology, and has a certain innovation and promotion value.

KEY WORDS: close interpolation; atomic fluorescence; lotus root; arsenic; biological absorption ratio

*通信作者: 高向阳, 教授, 主要研究方向为食品质量与安全快速检测新方法、新技术的研究。E-mail: ndgaoxy@163.com

*Corresponding author: GAO Xiang-Yang, Professor, College of Food Science and Engineering, Zhengzhou University of Science and Technology, Zhengzhou 450064, China. E-mail: ndgaoxy@163.com

0 引言

砷是剧毒物质, 是食品安全重点检测项目。砷污染是人类活动引起的重要污染^[1-2], 如果长期食用含砷较高的食物, 会导致慢性中毒, 危害人体健康。因此, 食品安全国家标准 GB 2762—2017《食品安全国家标准 食品中污染物限量》对常见食品中砷的含量制定了严格的限量指标。莲藕(*Nelumbo nucifera* Gaertn)是一种多年生水生蔬菜^[3], 具有降血糖、抗氧化和清除自由基等生理功效^[4-5]。其营养十分丰富, 含有碳水化合物、多酚、氨基酸、卵磷脂、膳食纤维等^[6-7], 是大众喜爱的药食两用性食品^[8]。莲藕质量倍受消费者的关注, 由于生长环境对莲藕中砷的影响很大^[9], 所以研究莲藕中砷的含量及在各组织中的分布, 对安全食用莲藕、保护人体健康具有现实的指导意义。

目前, 测定食品中砷的方法有电感耦合等离子体质谱法^[10-13]、高效液相色谱法^[14-16]和原子荧光法^[17-19]等。这些方法多用工作曲线法定量, 操作繁杂、成本较高。紧密内插法是传统的经典分析技术^[20-21], 该法所用试剂少, 无需绘制标准曲线, 无需测定空白溶液, 简便快速, 成本较低, 可获得更好的测定精密度, 工作效率得到提高, 已在饲料检测中得到应用^[22], 但原子荧光紧密内插法快速测定莲藕各组织的砷含量文献报道较少。本研究建立原子荧光-紧密内插法联用技术测定莲藕各组织中砷的含量及分布的分析方法, 以期为莲藕食品的安全提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

5 份新鲜全莲藕和泥土均取自山东省菏泽市东明县海头村农家池塘。

1.2 主要仪器与试剂

RGF-6200 型原子荧光光度计(北京博辉创新有限公司); MD8H 型微波消解/萃取仪(成都奥普乐科技有限公司); DZKW-S-4 型电热恒温水浴锅(20~100 °C)、01-1AS 型电热鼓风恒温干燥箱(北京市永光明医疗仪器有限公司); KQ-100E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

浓硝酸(HNO₃)、硫脲、维生素 C、硼氢化钾(KBH₄)、氢氟酸(HF)、高氯酸(HClO₄)(分析纯, 国药集团上海化学试剂厂); 氢氧化钠(NaOH)(分析纯, 苏州晶锐化学股份有限公司); 浓硫酸(H₂SO₄)(优级纯, 北京化工厂); 砷标准溶液(1000 μg/mL, 国家标准物质中心)。

体积分数 2% 的 HNO₃ 溶液: 取 HNO₃ 10 mL 缓缓加入到有 490 mL 蒸馏水的烧杯中, 混匀备用。

硫脲与维生素 C 混合溶液: 取蒸馏水 80 mL 左右, 加入 10 g 硫脲, 轻轻摇动, 水浴加热, 冷至室温后加 10.0 g 维生素 C, 用水稀释至 100 mL, 混匀备用。

还原剂溶液(2% KBH₄+0.5% NaOH): 取 1 g NaOH 溶于 100 mL 纯净水, 溶解后加入 4 g KBH₄, 加水至 200 mL, 混匀, 备用。

载流(体积分数 10% 的 H₂SO₄ 溶液): 量取 450 mL 怡宝水至烧杯, 缓慢加 50 mL 硫酸, 混匀备用。

1.00 μg/mL As 标准溶液: 用移液枪取 1000 μg/mL As 标准储备溶液 0.10 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用体积比 2% 的 HNO₃ 溶液定容、混匀, 现配现用。

100 ng/mL As 标准使用溶液: 吸取 1.00 μg/mL As 标准溶液 10.00 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用 2% HNO₃ 溶液定容, 混匀, 现配现用。

所用水为怡宝纯净水(电导率为 5.6 μS/cm)

1.3 仪器条件

光电倍增管负高压: 280 V; 灯电流: 60 mA; 原子化器高度: 8 mm; 载气流速: 400 mL/min; 屏蔽气流速: 1000 mL/min; 载流: 体积分数为 10% 的硫酸溶液; 还原剂: 2% KBH₄+0.5% NaOH。

1.4 测定原理及方法

1.4.1 测定原理

紧密内插法需用比试液浓度较低和较高的 2 个标准溶液^[20-21], 与试液在相同条件下测定荧光相对强度, 按(1)式计算试液的质量浓度, 按(2)式计算样品的质量分数。

$$\rho_x = \rho_1 + \frac{(\rho_2 - \rho_1)}{(I_2 - I_1)} \times (I_x - I_1) \quad (1)$$

式中: I_1, I_2 为标准溶液的荧光相对强度, I_x 为试液的荧光相对强度; ρ_x 为试液的质量浓度(ng/mL), ρ_1, ρ_2 为标准溶液的质量浓度(ng/mL), 要求 $\rho_2 > \rho_x > \rho_1$ 。

$$\omega = \frac{\rho_x \times 25.00}{m} \quad (2)$$

式中: m 为所称取干基样品的质量, g; ω 为样品中砷的质量分数, ng/g。

1.4.2 测定方法

称取经自然风干、研磨过 80 目尼龙筛的土壤样品 0.20 g (精确到 0.001 g) 于微波消解管中, 加少许水润湿样品, 依次加入 2 mL HF, 1 mL HClO₄, 2 mL HNO₃, 摆匀放置过夜, 参照 GB 5009.11—2014《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》定附录 A, 按表 1 操作步骤进行消解后, 移至 25 mL 塑料比色管中, 用少量水分 3 次洗涤内罐, 洗涤液移入比色管中, 加硫脲与维生素 C 混合溶液 2 mL, 用水稀至刻度, 混匀, 放置 30 min, 待测。

将同一莲藕的藕皮、藕肉、藕节、藕尖分开, 分别切成细碎块, 在 80 °C 恒温箱中烘干, 分别研磨过 100 目尼龙筛。各称取 0.20 g (精确到 0.001 g) 于微波消解罐中, 加入 5 mL 硝酸, 放置过夜后按表 1 步骤消解, 冷却后在 80 °C 控温电热板上加热约 10 min, 赶去棕黄色气体, 移至 25 mL 具塞比色管中, 用少量水分 3 次洗涤内罐, 洗涤液移入比

色管中, 加硫脲与维生素C混合溶液2 mL, 用水稀至刻度, 混匀, 放置30 min, 待测。

表1 微波消解参数的设定
Table 1 Setting of microwave digestion parameters

步骤	温度/°C	升温时间/min	保持时间/min	功率/W
1	120	5	5	6
2	160	5	15	6
3	180	5	25	6

取1.00、4.00 ng/mL的砷标准溶液和上述待测定试液各1.00 mL, 在仪器条件下进行紧密内插法测定, 按式(1)计算各试液中砷的质量浓度, 按式(2)计算样品中砷的质量分数。

2 结果与分析

2.1 标准曲线测定结果

按照GB 5009.11—2014, 分别吸取100 ng/mL砷标准使用液0.00、0.50、1.00、2.00、4.00、5.00于50 mL容量瓶中, 各加硫酸溶液(体积比1+9)25 mL, 硫脲+抗坏血酸溶液4 mL, 用水定容, 混匀, 配制质量浓度为0.00、1.00、2.00、4.00、8.00、10.00 ng/mL的砷系列标准溶液, 30 min后在相同条件下测定, 以相对荧光强度 I_f 为纵坐标, 以砷标准溶液质量浓度 ρ 为横坐标作图表明: 标准曲线回归方程为 $I_f=117.017\rho+11.891$, 相关系数 $r^2=0.9997$, 方法线性关系较好。

按GB 5009.11—2014对各样品进行测定, 每个样品进行6次平行测定, 检验无可疑值后取平均值, 并代入回归方程计算砷的质量浓度, 结果如表2。

由表2可知, 同一来源地的莲藕干基样品, 藕肉和藕节中含砷较少, 藕尖和藕皮中含砷较多, 但均小于土壤中

砷的含量。

表2 样品测定结果(ng/mL)(n=6)
Table 2 Determination results of samples (ng/mL)(n=6)

样品名称	藕肉	藕节	藕皮	藕尖	土壤
1	0.238	0.296	0.592	0.853	1.071
2	0.236	0.291	0.595	0.850	1.065
3	0.239	0.294	0.591	0.852	1.069
4	0.241	0.290	0.594	0.847	1.074
5	0.237	0.291	0.591	0.852	1.062

2.2 检出限和定量限

在原子荧光仪器条件下, 对1.00 ng/mL的As标准溶液进行11次平行测定, 按3倍标准偏差计算检出限, 按10倍标准偏差计算定量限。砷平行测定的标准偏差为0.00244 ng/mL, 检出限为0.00732 ng/mL, 定量限为0.0244 ng/mL, 方法灵敏度较高。

2.3 加标回收率

以藕肉为样品, 分别向消解液中加入1.00、2.00、5.00 mL的1.00 ng/mL砷的标准溶液后再用水稀至刻度, 在仪器条件下每个加标水平各进行3次平行测定, 按(1)式计算试液中砷的质量浓度, 按(2)式计算样品中砷的质量分数, 结果如表3。砷的平均回收率在99.80%~101.19%之间, 相对标准偏差小于1%, 方法准确性较好。

2.4 对照测定结果

参照GB 5009.11—2014中的原子荧光标准曲线法和原子荧光紧密内插法对样品各进行5次平行测定, 检验无可疑值后取平均值, 同时计算标准偏差和相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs), 结果如表4所示。

表3 加标回收率
Table 3 Standard recoveries

加标前测得砷质量分数/(ng/g)	加标量/ng	加标后测得砷质量分数/(ng/g)	加标回收率/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
0.0295	1.00	1.0308		100.13	
	1.00	1.0217	99.22	100.13	0.92
	1.00	1.0400		101.05	
	2.00	2.0256		99.80	
	2.00	2.0134	99.20	99.81	0.61
	2.00	2.0378		100.42	
	5.00	5.0487		100.38	
	5.00	5.0083	99.58	100.38	0.81
	5.00	5.0891		101.19	

表 4 对照测定结果($n=3$)
Table 4 Control measurement results ($n=3$)

样品	国标法测定结果 /(mg/kg)	标准偏差/(mg/kg)	RSD/%	紧密内插法测定结果 /(mg/kg)	标准偏差 /(mg/kg)	RSD/%
藕肉	0.0298	2.4×10^{-4}	0.82	0.0295	2.9×10^{-4}	0.99
藕皮	0.0741	2.3×10^{-4}	0.32	0.0742	2.0×10^{-4}	0.26
藕节	0.0366	3.0×10^{-4}	0.82	0.0367	2.9×10^{-4}	0.79
藕尖	0.1064	2.8×10^{-4}	0.27	0.1065	2.0×10^{-4}	0.19
土壤	0.1335	5.8×10^{-4}	0.44	0.1339	2.4×10^{-4}	0.18

根据表 4 数据, 在置信度为 95% 时进行 F 检验和 T 检验等显著性检验^[23], 结果表明 2 种方法之间无显著性差异 ($P>0.05$)。由表 4 可知, 样品中砷的含量均符合国家标准 GB 2762—2017 中砷 $\leq 0.5 \text{ mg/kg}$ 的要求, 土壤样品砷含量远低于国家标准 GB 15618—2018《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准(试行)》中砷 $\leq 30 \text{ mg/kg}$ 的规定。

2.5 砷的生物吸收比

莲藕各组织砷的生物吸收比是干基样品中砷含量占生长环境土壤干基砷含量的百分比, 它反映了各组织从环境中吸收、富集砷的能力, 是衡量莲藕食用安全的重要参考指标。莲藕样品各组织砷生物吸收比的结果见表 5。

表 5 莲藕中砷的生物吸收比($n=5$)Table 5 Biological absorption ratio of arsenic in lotus root ($n=5$)

样品	砷含量 /(mg/kg)	土壤砷含量 /(mg/kg)	生物吸收比 /%
藕肉	0.0295	0.1339	22.03
藕皮	0.0742	0.1339	55.41
藕尖	0.1065	0.1339	79.54
藕节	0.0367	0.1339	27.41

由表 5 可知, 莲藕样品各组织对砷的生物吸收比在 22.03%~79.54% 之间, 藕尖大于藕皮, 藕皮大于藕肉, 说明藕皮对藕肉吸收砷有一定阻碍作用, 食用去皮的藕肉则更为安全。

3 结 论

本研究用微波消解法和原子荧光光谱紧密内插法相结合, 测定食品中的砷, 无需绘制标准曲线和测定空白, 无需进行复杂计算, 操作简单、成本降低、灵敏度高、准确性好、工作效率得到提高。

研究表明, 莲藕各组织对砷的生物吸收比在 22.03%~79.54% 之间, 藕皮的生物吸收比是藕肉的约 2.5 倍, 说明藕皮对藕肉吸收砷有一定的阻碍作用。因此, 食用莲藕时, 削去藕皮后食用藕肉更为安全。研究结果为广大消费者提供

了有益的参考, 有一定的社会意义和推广实用价值。

参 考 文 献

- ALKA S, SHAHIR S, IBRAHIM N, et al. Arsenic removal technologies and future trends: A mini review [J]. J Clean Prod, 2021, 278: 123805.
- 杨刚, 马云龙, 白银萍, 等. 人工湿地砷污染去除研究进展[J]. 农业现代化研究, 2021, 42(2): 349~356.
- YANG G, MA YL, BAI YP, et al. Progress on arsenic contamination removing by constructed wetlands [J]. Res Agric Mod, 2021, 42(2): 349~356.
- 张翰卿, 刘瑞玲, 吴伟杰, 等. 苹果多酚对鲜切莲藕品质及褐变的影响 [J]. 浙江农业学报, 2019, 31(9): 1549~1554.
- ZHANG HQ, LIU RL, WU WJ, et al. Effect of apple polyphenols on quality and browning of fresh-cut lotus root [J]. Acta Agric Zhejiang, 2019, 31(9): 1549~1554.
- TING M, LI FN, XIANG YF, et al. The effects of different temperatures on the storage characteristics of lotus (*Nelumbo nucifera* G.) root [J]. Food Chem, 2021, 348: 129109.
- TU J, ZHANG M, XU B, et al. Effects of different freezing methods on the quality and microstructure of lotus (*Nelumbo nucifera*) root [J]. Int J Refrig, 2015, (52): 59~65.
- 王瑞璇, 张莉, 周霞, 等. 响应面法优化芋头莲藕复合醋酿造工艺的研究 [J]. 中国调味品, 2021, 46(5): 93~97, 106.
- WANG RX, ZHANG L, ZHOU X, et al. Optimization of brewing technology of taro and lotus root compound vinegar by response surface method [J]. China Cond, 2021, 46(5): 93~97, 106.
- 韩丽娟, 黄楚雄, 李洁, 等. 不同品种莲藕水煮风味物质比较 [J]. 食品科学, 2020, 41(22): 245~251.
- HAN LJ, HUANG CX, LI J, et al. Comparison of flavor substances of water-boiled lotus roots from different varieties [J]. Food Sci, 2020, 41(22): 245~251.
- 吴茜, 刘智勇, 李国文, 等. 莲藕的功能特性及其产品开发前景分析 [J]. 食品与发酵科技, 2020, 56(6): 108~112.
- WU Q, LIU ZY, LI GW, et al. Functional characteristics of lotus root and analysis of its product development prospects [J]. Food Ferment Sci Technol, 2020, 56(6): 108~112.
- 胡文勇, 马陶武, 易浪波, 等. 受污藕塘中莲藕对重金属的生物富集特征 [J]. 贵州农业科学, 2010, 38(3): 229~231.
- HU WY, MA TW, YI LB, et al. Biological enrichment characteristics of heavy metals in lotus root in polluted lotus ponds [J]. Guizhou Agric Sci, 2010, 38(3): 229~231.

- [10] 代华均, 吴青菊, 庄晓洪, 等. 电感耦合等离子体质谱法测定莲藕中的铅、镉、铬、砷和汞[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(6): 1715–1721.
- DAI HJ, WU QJ, ZHUANG XH, et al. Determination of lead, cadmium, chromium, arsenic and mercury in lotus root by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(6): 1715–1721.
- [11] 林湜, 黄建立, 林秀, 等. 电感耦合等离子体质谱及其联用技术在稻米中砷及其形态分析中的研究进展[J]. 食品科技, 2020, 45(11): 289–294.
- LIN H, HUANG JL, LIN X, et al. The application of ICP-MS in the detection of arsenic and its speciation in rice [J]. Food Sci Technol, 2020, 45(11): 289–294.
- [12] 王丙涛, 赵旭, 涂小珂, 等. ICP-MS/MS 检测食品中磷、硒、砷的含量[J]. 现代食品科技, 2017, 33(7): 295–300.
- WANG BT, ZHAO X, TU XK, et al. Determination of phosphorus, arsenic, and selenium contents in food by triple quadrupole inductively coupled plasma tandem mass spectrometry [J]. Mod Food Sci Technol, 2017, 33(7): 295–300.
- [13] 叶少丹, 姚春霞, 杨海锋, 等. 电感耦合等离子体质谱法测定大米中35种元素的含量[J]. 上海农业科技, 2019, (4): 22–24.
- YE SD, YAO CX, YANG HF, et al. Determination of 35 elements in rice by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Shanghai Agric Sci Technol, 2019, (4): 22–24.
- [14] 吴思霖, 于健, 王欣美, 等. 高效液相色谱-原子荧光联用技术测定水产品中无机砷[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(7): 2658–2662.
- WU SL, YU J, WANG XM, et al. Determination of inorganic arsenic in aquatic products by high performance liquid chromatography-atomic fluorescence [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(7): 2658–2662.
- [15] 孙胜枚, 谈咏南, 邓悦峰. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法测定海产调味品中无机砷的含量[J]. 中国调味品, 2020, 45(12): 154–158.
- SUN SM, TAN YN, DENG YF. Determination of inorganic arsenic content in seafood condiments by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. China Cond, 2020, 45(12): 154–158.
- [16] 董喆, 高明义, 李梦怡, 等. 高效液相色谱-氢化物发生原子荧光联用法检测不同基质食品中的砷含量及其形态[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(3): 927–932.
- DONG Z, GAO MY, LI MY, et al. Determination of arsenic content and speciation in foods of different matrixes by high performance liquid chromatography-hydride generation atomic fluorescence spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(3): 927–932.
- [17] 焦萍, 赵碧琳, 吕桂英. 氢化物发生-原子荧光法测定莲藕中的微量砷[J]. 广东化工, 2010, 37(4): 254, 258.
- JIAO P, ZHAO BL, LV GY. Determination of micro arsenic in lotus by hydride generation atomic fluorescence spectrometry [J]. Guangdong Chem, 2010, 37(4): 254, 258.
- [18] 马娜, 顾雪, 张灵火, 等. 微波消解-原子荧光光谱法测定植物样品中的砷和硒[J]. 化学分析计量, 2020, 29(1): 9–12.
- MA N, GU X, ZHANG LH, et al. Determination of arsenic and selenium in plant samples by atomic fluorescence spectrometry with microwave digestion [J]. Chem Anal Metrol, 2020, 29(1): 9–12.
- [19] 田静, 贾铮, 李兰, 等. 饲料中砷的分析技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(9): 2693–2700.
- TIAN J, JIA Z, LI L, et al. Research advance on the analytical techniques of arsenic in feed [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(9): 2693–2700.
- [20] 郑国经. 原子光谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2019.
- ZHENG GJ. Atomic spectral analysis [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2019.
- [21] 高向阳. 新编仪器分析(第五版)[M]. 北京: 科学出版社, 2021.
- GAO XY. New Instrumental analysis (5th Edition) [M]. Beijing: Science Press, 2021.
- [22] 高向阳, 石珍奇. 分子荧光紧密内插法快速测定饲料中的硒[J]. 中国饲料, 2019, (5): 74–77.
- GAO XY, SHI ZQ. Rapid determination of selenium in feed by molecular fluorescence compact interpolation [J]. China Feed, 2019, (5): 74–77.
- [23] 高向阳. 现代食品分析(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 2018.
- GAO XY. Modern food analysis (2nd Edition) [M]. Beijing: Science Press, 2018.

(责任编辑: 李磅礴 于梦娇)

作者简介



高向阳, 教授, 主要研究方向为食品品质与安全快速检测新方法、新技术的研究。

E-mail: ndgaoxy@163.com