

共振光散射法测定食品中锌含量

李咏梅¹, 李人宇², 施鹏飞¹

(1. 淮海工学院化学工程学院, 江苏 连云港 222005; 2. 连云港师范高等专科学校, 江苏 连云港 222006)

摘要: 基于在 pH8.5 氯化铵-氨水缓冲溶液中, Zn^{2+} 与邻菲罗啉和亮黄发生反应, 可使共振光散射显著增强, 建立共振光散射法测定锌的新方法。考察测定影响因素, 确定最佳测定条件为 10 mL 比色管中加入 pH8.5 氯化铵-氨水缓冲溶液 1.0 mL、 1.0×10^{-4} mol/L 邻菲罗啉溶液 1.5 mL 和 5.0×10^{-5} mol/L 亮黄溶液 0.8 mL, 反应温度 30℃, 反应时间 4 min; 最大共振光散射峰位于 359.4 nm, 共振散射光强度增加值与 Zn^{2+} 质量浓度在 0~10 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好, 方法的检出限为 0.11 $\mu\text{g/L}$, 对样品进行测定, 相对标准偏差为 0.96%~1.71% ($n=5$), 平均回收率为 98.00%~102.67%。本方法可用于测定香蕉、黄瓜和紫菜中锌含量, 结果与原子吸收光谱法一致。

关键词: 锌; 共振光散射; 邻菲罗啉; 亮黄; 食品

Resonance Light Scattering Method for Determination of Zinc Content in Food

LI Yong-mei¹, LI Ren-yu², SHI Peng-fei¹

(1. School of Chemical Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China;

2. Lianyungang Teacher's College, Lianyungang 222006, China)

Abstract: A new resonance light scattering (RLS) method for the determination of trace zinc in food was developed based on the reaction of Zn^{2+} with phen and bright yellow in ammonium chloride-ammonia buffer solution at pH 8.5, resulting in a great enhancement of RLS. The best results for zinc determination were achieved by using a reaction system made up of 1.0 mL of ammonium chloride-ammonia buffer solution at pH 8.5, 1.5 mL of 1.0×10^{-4} mol/L phenanthroline solution and 0.8 mL of 5.0×10^{-5} mol/L bright yellow in a 10-mL colorimetric tube for a reaction duration of 4 min at 30 °C. Maximum RLS peak was observed at the wavelength of 359.4 nm. There was a good linear relationship between RLS intensity and zinc concentration in the range of 0—10 $\mu\text{g/L}$. The limit of detection of the method was 0.11 $\mu\text{g/L}$. The relative standard derivations for 5 replicate determinations of banana, cucumber and laver by the method were between 0.96% and 1.71%, and the average spike recovery rates between 98.00% and 102.67%. The method was applicable to determine zinc content in banana, cucumber and laver with results consistent with those obtained by atomic absorption spectrometry.

Key words: zinc; resonance light scattering; phen; bright yellow; food

中图分类号: O657.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)24-0204-04

锌是人体必需的微量元素之一, 它能参与上百种酶的合成与激活, 直接参与生长发育和能量代谢。缺锌会导致侏儒症、不育症、厌食症等疾病; 但是锌摄入过量则会引起中毒^[1]。人体中的锌主要来源于食品, 人们应根据自身需要科学合理地选择食品。不同食品中的锌含量有显著差异, 因此, 准确测定食品中的锌含量具有重要意义。

目前, 测定锌的方法主要有原子吸收光谱法^[2-4]、电感耦合等离子体发射光谱法^[5]、荧光法^[6-7]、共振光散射法^[8-9]、分光光度法^[10-11]、质谱法^[12]、电化学法^[13-14]

等。共振光散射法自 20 世纪 90 年代创立以来, 因其操作简便、测定灵敏度高而广泛应用于生物大分子测定^[15-17]及药物分析^[18]等, 但在食品分析领域应用极少。本实验对 Zn^{2+} -邻菲罗啉-亮黄体系共振光散射法测定条件进行优化, 为建立适于准确测定食品中锌的方法提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

香蕉(新鲜)、黄瓜(新鲜)和紫菜(干) 市购。

收稿日期: 2011-02-13

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(21101069)

作者简介: 李咏梅(1973—), 女, 高级实验师, 硕士, 研究方向为应用化学。E-mail: liyongmei518@163.com

除硝酸和高氯酸为优级纯外,其他试剂均为分析纯,实验用水为去离子水。

Zn^{2+} 标准储备溶液(500mg/L):准确称取硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)0.2199g溶于适量水中,定容至100mL,贮于聚乙烯瓶中,于冰箱4℃保存。标准工作溶液(100μg/L)用 Zn^{2+} 标准储备液稀释即可;氯化铵-氨水缓冲溶液(pH8.5):称取40g氯化铵溶于适量水中,加入8.8mL氨水,稀释至500mL,经酸度计校正; $1.0 \times 10^{-4}\text{mol/L}$ 邻菲罗啉溶液; $5.0 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 亮黄溶液;混合酸:硝酸与高氯酸以体积比为4:1混合。

1.2 仪器与设备

970CRT 荧光分光光度计、PHS-3C 型酸度计 上海精密科学仪器有限公司; HH-2 数显恒温水浴锅 国华电器有限公司; XA-1 型微型高速粉碎机 姜堰市银河仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

先将香蕉、黄瓜可食部分用自来水、去离子水清洗干净,于35℃干燥箱中除去表面附着的水分,再按四分法取样,切碎,用榨汁机将果肉打成匀浆,贮于洁净烧杯中,封口备用;紫菜用粉碎机粉碎,过100目筛,贮于洁净烧杯中,封口备用。

准确称取(精确至0.0001g)以上处理的样品各1.00g于50mL具塞锥形瓶中,加入10mL混合酸,轻微振荡,放置过夜。次日于电热板上加热消化至溶液透明(必要时再加适量混合酸),稍冷加入10mL水再继续加热赶酸,直至近干。冷却后用水定容至50mL容量瓶中,混匀,备用。

1.3.2 实验步骤

在10mL比色管中,依次加入1.0mL pH8.5氯化铵-氨水缓冲溶液,一定量 Zn^{2+} 标准工作溶液(或样品溶液),1.5mL $1.0 \times 10^{-4}\text{mol/L}$ 邻菲罗啉溶液和0.8mL $5.0 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 亮黄溶液,用水稀释至刻度并摇匀,控温30℃反应4min。取适量溶液于石英比色皿中,置于荧光分光光度计上,在激发光和发射光狭缝宽度均为10nm,灵敏度为4, $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}} = 359.4\text{nm}$ 的条件下,测量溶液的共振散射光强度(I_{RLS})。以不加 Zn^{2+} 的溶液为试剂空白,测量其共振散射光强度(I_{RLS}^0),计算 $\Delta I_{\text{RLS}} = I_{\text{RLS}} - I_{\text{RLS}}^0$ 。

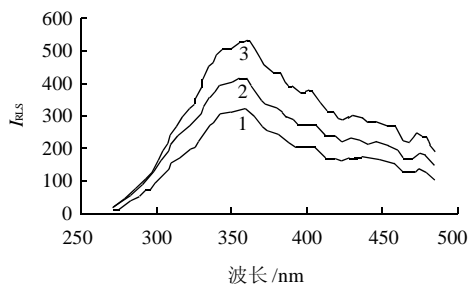
2 结果与分析

2.1 测定条件的优化

2.1.1 测定波长的选择

按1.3.2节方法在 $\lambda_{\text{ex}} - \lambda_{\text{em}} = \Delta\lambda = 0$ 条件下同步扫描获得共振散射光谱,结果如图1所示。在pH8.5氯化

铵-氨水缓冲溶液中,试剂空白的最大共振光散射峰位于359.4nm(曲线1)。当 Zn^{2+} 与邻菲罗啉和亮黄反应生成离子缔合物后,最大共振光散射峰仍位于359.4nm(曲线2、3),且此波长处共振散射光强度增幅最大。故选择 $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}} = 359.4\text{nm}$ 为测定波长。



1.试剂空白; 2.离子缔合物 $\rho(\text{Zn}^{2+}) = 4\mu\text{g/L}$; 3.离子缔合物 $\rho(\text{Zn}^{2+}) = 8\mu\text{g/L}$ 。

图1 共振散射光谱

Fig.1 Resonance light scattering spectra

2.1.2 酸度的影响

分别以HAc-NaAc(pH3.6~5.7)、 NH_4Ac (pH7.0)和氯化铵-氨水(pH8.5~10.5)缓冲溶液作为反应介质进行实验,结果表明,在pH8.5氯化铵-氨水缓冲溶液中反应,体系灵敏度最高。当缓冲溶液用量为1.0mL时, ΔI_{RLS} 值最大且稳定,如图2所示。选用1.0mL pH8.5氯化铵-氨水缓冲溶液。

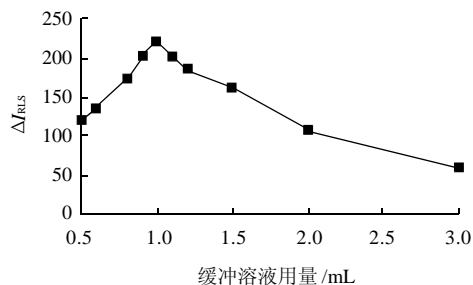


图2 缓冲溶液用量对 ΔI_{RLS} 值的影响

Fig.2 Effect of buffer solution dosage

2.1.3 邻菲罗啉用量的影响

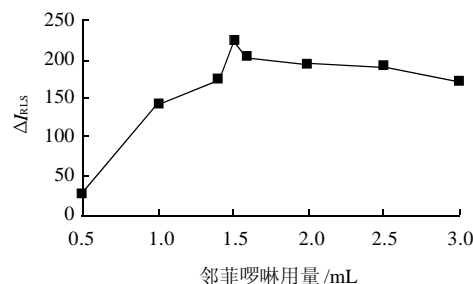


图3 邻菲罗啉用量对 ΔI_{RLS} 值的影响

Fig.3 Effect of phenanthroline dosage

为了保证 Zn^{2+} 完全反应, 需加入过量的邻菲罗啉。选择 $1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 邻菲罗啉溶液, 当用量在 $1.5 \sim 2.5 \text{ mL}$ 范围内, ΔI_{RLS} 值最大且稳定, 如图 3 所示。选用 1.5 mL 邻菲罗啉溶液。

2.1.4 亮黄用量的影响

当 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 亮黄溶液用量在 $0.7 \sim 1.0 \text{ mL}$ 范围内, ΔI_{RLS} 值最大且稳定, 如图 4 所示。选用 0.8 mL 亮黄溶液。

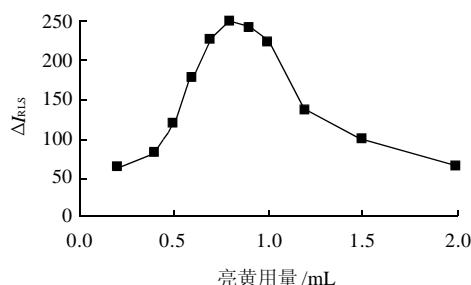


图 4 亮黄用量对 ΔI_{RLS} 值的影响
Fig.4 Effect of bright yellow dosage

2.1.5 反应温度的影响

当反应温度在 $10 \sim 20^\circ\text{C}$, ΔI_{RLS} 值随着温度升高而增大; 当反应温度在 $20 \sim 40^\circ\text{C}$, ΔI_{RLS} 值达到最大且稳定; 当反应温度在 $40 \sim 60^\circ\text{C}$, ΔI_{RLS} 值随着温度升高而减小, 如图 5 所示。故选择 30°C 为反应温度。若室温太低, 实验需在水浴加热条件下进行, 以保证测定的灵敏度。

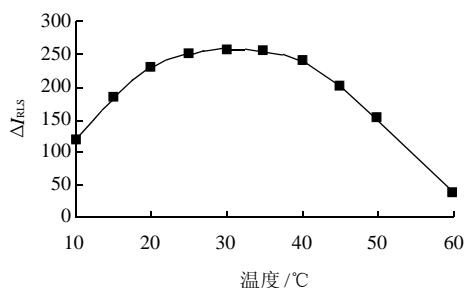


图 5 反应温度对 ΔI_{RLS} 值的影响
Fig.5 Effect of reaction temperature

2.1.6 反应时间与稳定性

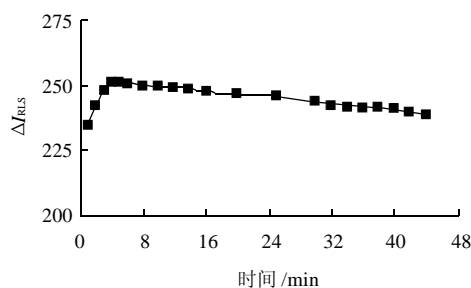


图 6 反应时间对 ΔI_{RLS} 值的影响
Fig.6 Effect of reaction time

反应开始后, ΔI_{RLS} 值迅速增大。当反应 4 min 时, ΔI_{RLS} 达到最大, 并保持 40 min 基本不变(相对误差 $< -5\%$), 如图 6 所示。故选择反应时间为 4 min 。

2.2 标准曲线与检出限

在一组 10 mL 比色管中, 分别准确加入 $100 \mu\text{g/L}$ Zn^{2+} 标准工作溶液 0.20 、 0.40 、 0.60 、 0.80 、 1.00 mL , 按实验方法测量其散射光强度, 绘制标准曲线。结果表明, 线性范围为 $0 \sim 10 \mu\text{g/L}$, 线性回归方程为 $\Delta I_{\text{RLS}} = 25.766c - 3.98$, c 为 Zn^{2+} 质量浓度 $(\mu\text{g/L})$, 相关系数 $r = 0.9984$ 。重复 11 次测定试剂空白溶液的散射光强度, 求得标准偏差 $s = 0.96$, 按式 $\text{DL} = 3s/k$ (k 为斜率) 计算出方法检出限为 $0.11 \mu\text{g/L}$ 。

2.3 共存离子的影响

在最佳条件下, 对 $10 \mu\text{g/L}$ Zn^{2+} 进行测定, 相对误差 $\leq \pm 5\%$ 范围内, 常见离子的允许倍量(未做上限)如下: Na^+ 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cd^{2+} 、 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 SO_3^{2-} 、 NO_3^- 、 SeO_3^{2-} (10000), CO_3^{2-} (2000), Ca^{2+} (300), Ni^{2+} 、 Cr^{3+} 、 HCO_3^- (200), Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 VO_3^- (100), Al^{3+} (50), Fe^{3+} (20)。加入 2 mL 1 g/L NaF 溶液可掩蔽 500 倍量的 Fe^{3+} 。结果表明, 方法有良好的选择性。

2.4 样品分析

按 1.3.1 节方法处理样品, 吸取 1.00 mL 样品溶液(测紫菜时样品溶液需稀释 10 倍)于 10 mL 比色管中, 加入 2 mL 1 g/L NaF 溶液, 按 1.3.2 节方法测定锌含量, 并与国标法对照^[19], 结果见表 1, 相对标准偏差为 $0.96\% \sim 1.71\%$ ($n = 5$), 然后进行加标回收实验, 结果见表 2, 平均回收率为 $98.00\% \sim 102.67\%$ 。

表 1 样品中锌的测定结果($n=5$)

Table 1 Results for the determination of zinc in samples ($n=5$)

样品	测定方法	测定值/(μg/g)						平均值/ (μg/g)	RSD/ %	相对 误差/%
香蕉	本法	1.64	1.59	1.61	1.66	1.61	1.62	1.71	— 1.82	
	国标法	1.69	1.64	1.66	1.61	1.63	1.65	1.95		
黄瓜	本法	3.13	3.18	3.21	3.19	3.16	3.17	0.96	0.63	
	国标法	3.15	3.12	3.20	3.18	3.11	3.15	1.25		
紫菜	本法	24.3	24.2	23.9	24.5	23.8	24.1	1.20	— 0.82	
	国标法	24.3	24.1	23.8	24.6	25.0	24.3	1.83		

表 2 加标回收实验结果

Table 2 Results for spiked recovery test

样品	样品含量 $(\mu\text{g/g})$					加入量 $(\mu\text{g/g})$	测定量 $(\mu\text{g/g})$	平均回收率/%
香蕉	1.62	1.50	3.18	3.16	3.14	3.17	3.15	102.67
黄瓜	3.17	1.50	4.66	4.67	4.63	4.62	4.64	98.00
紫菜	24.1	15.0	39.3	39.4	39.2	38.9	39.1	100.67

3 结 论

本实验根据 Zn^{2+} 对邻菲罗啉-亮黄在弱碱性介质中所产生的散射光具有显著的增强作用,建立了共振光散射法测定香蕉、黄瓜和紫菜中锌。方法准确、灵敏、试剂用量少,重现性和选择性好,条件易于控制,分析成本低,对环境友好,有推广应用价值。

参考文献:

- [1] MARET W, SANDSTEAD H H. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2006, 20(1): 3-18.
- [2] 关明, 张连波, 李茵萍, 等. 火焰原子吸收法测定天然蜂蜜中的锌含量[J]. *食品科学*, 2007, 28(7): 414-416.
- [3] 何绍攀, 范广宇, 蒋小明, 等. 钨丝电热原子吸收光谱分析法测定痕量锌[J]. *分析化学*, 2010, 38(5): 707-710.
- [4] IEGGLI C V, BOHRER D, DONASCIMENTO P C, et al. Determination of sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc, and iron in emulsified egg samples by flame atomic absorption spectrometry[J]. *Talanta*, 2010, 80(3): 1282-1286.
- [5] ESCUDERO L A, MARTINEZ L D, SALONIA J A, et al. Determination of $\text{Zn}(\text{II})$ in natural waters by ICP-OES with on-line preconcentration using a simple solid phase extraction system[J]. *Microchemical Journal*, 2010, 95(2): 164-168.
- [6] AL-KINDY S M, AL-BULUSHI S T, SULIMAN F E. Spectrofluorimetric determination of zinc using 8-hydroxy-7-(4-sulfo-1-naphthylazo)-5-quinoline sulfonic acid[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2008, 71(2): 676-681.
- [7] AKSUNER N, HENDEN E R, YENIGUL B, et al. Highly sensitive sensing of $\text{zinc}(\text{II})$ by development and characterization of a PVC-based fluorescent chemical sensor[J]. *Spectrochimica Acta: Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011, 78(3): 1133-1138.
- [8] 李少旦. 共振瑞利散射法检测水环境中痕量锌[J]. *光谱实验室*, 2007, 24(4): 671-674.
- [9] 赵长风, 周苏梅, 刘庆业. 微晶中锌的双硫脲螯合微粒共振散射光谱分析[J]. *分析测试技术与仪器*, 2005, 11(2): 103-106.
- [10] 杨会琴, 李桂琴, 韩士田. TNPP(四硝基吡啶)测定奶粉中锌的含量[J]. *食品科学*, 2007, 28(5): 278-280.
- [11] SÄBEL C E, SHEPHERD J L, SIEMANN S. A direct spectrophotometric method for the simultaneous determination of zinc and cobalt in metalloproteins using 4-(2-pyridylazo)resorcinol[J]. *Analytical Biochemistry*, 2009, 391(1): 74-76.
- [12] 王军, 赵墨田. 同位素稀释热电离质谱法测定人血清中痕量铜和锌[J]. *分析化学*, 2006, 34(3): 355-358.
- [13] KALIČANIN B M, NIKOLIĆ R S. Potentiometric stripping analysis of zinc and copper in human teeth and dental materials[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2008, 22(2): 93-99.
- [14] HOSSEINI M, DEHGHAN ABKENAR S, GANJALI M R, et al. Determination of $\text{zinc}(\text{II})$ ions in waste water samples by a novel zinc sensor based on a new synthesized Schiff's base[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2011, 31(2): 428-433.
- [15] 李原芳, 黄承志, 胡小莉. 共振光散射技术的原理及其在生化研究和分析中的应用[J]. *分析化学*, 1998, 26(12): 1508-1515.
- [16] 冯硕, 李正平, 张淑红, 等. 共振光散射技术测定核酸的研究进展[J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, 24(12): 1676-1680.
- [17] 栾吉梅, 张晓东. 有机染料共振光散射法测定蛋白质的研究进展[J]. *理化检验: 化学分册*, 2007, 43(2): 159-163.
- [18] 冯素玲, 潘自红, 樊静. 曙红 B 共振光散射法测定微量的盐酸异丙嗪[J]. *应用化学*, 2008, 25(12): 1444-1447.
- [19] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.14 — 2003 食品中锌的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.