

南黄海沿岸滩涂文蛤中痕量硒的周年变化探讨

凌云, 万夕和, 王李宝, 黎慧, 沈辉, 陈玉生

(江苏省海洋水产研究所, 江苏 南通 226007)

摘要: 采用 4:1 混合酸湿法消解, 氢化物发生原子荧光光谱法(HG-AFS)测定了南黄海沿岸滩涂文蛤生物体中微量元素硒的周年变化, 并用质控样和加标回收保证结果的可靠性。结果显示:硒的周年含量为 0.2~0.5 mg/kg, 平均值为 0.330 mg/kg, 文蛤体内硒的含量呈一定规律性变化, 春、秋季高, 夏、冬季低。说明文蛤中硒含量因不同季节而具有明显差异, 其含量变化与海水温度、饵料生物及文蛤生长繁殖等因素有关。

关键词: 原子荧光光谱法; 南黄海; 文蛤(*Meretrix meretrix* Linnaeus); 硒; 周年变化

中图分类号: O657.32 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2014)01-0039-05

doi: 10.11759/hyxx20121227003

文蛤(*Meretrix meretrix* Linnaeus)是常见的可食用双壳贝类, 属软体动物门(Mollusca)、双壳纲(Bivalvia)、真瓣鳃目(Eulamellibranchia)、帘蛤科(Veneridae)、文蛤属(*Meretrix*)^[1]。文蛤属于广温性贝类, 在我国沿海各省均有分布, 是我国海水养殖的重要经济贝类之一。南黄海沿岸滩涂是文蛤的重要栖息地, 其产量占全国 50% 以上。文蛤是蛤中上品, 被誉为“天下第一鲜”, 不但味道鲜美, 而且具有很高的营养价值^[2]。

硒(Se)是人体和动物体必需的重要微量元素, 是谷胱甘肽过氧化酶的重要组成成分, 它参与多种代谢, 具有抗氧化、增强免疫力、调节机体代谢以及降低有毒元素毒性等功能^[3-5]。硒在一般生物样品中含量较低, 并因种类不同而差异较大。动物制品的硒含量比植物体高, 海洋生物中硒类的含量也比陆地生物多^[6]。海洋生物是硒良好的食物来源, 硒的摄入不足会给人和动物造成多种伤害, 影响生物体的正常功能, 损害机体免疫力, 造成多种疾病, 而过量的硒又会在体内造成毒性伤害^[7]。

目前, 测定 Se 含量的方法主要有 2,3-二氨基萘荧光法、石墨炉原子吸收法、催化极谱法、高效液相色谱法和氢化物-原子荧光光谱法(HG-AFS)等^[8-9]。HG-AFS 法具有检出限低, 操作简便, 基体干扰少, 灵敏度高, 分析结果稳定可靠, 且避免使用有机和有毒试剂等优点^[8], 故选用此法进行测定。

已有学者开展过硒在贝类体内的分布特点^[10]及存在形式^[11]研究、各种海洋贝类中硒的含量测定分析^[12-14]、采用新方法测定硒的含量^[15]等方面研究, 但

连续研究贝类中硒的含量变化未见报道, 本研究从南黄海沿岸滩涂养殖贝类文蛤入手, 研究了文蛤生物体内硒含量的周年变化, 分析不同生物季节文蛤体内硒含量差异, 并探讨了相关影响原因, 为合理食用贝类、了解其生理周期代谢提供基础研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料及处理

样品文蛤取自南黄海滩涂典型辐射沙脊群-腰沙, 于每月农历十五大潮退潮后取样, 取样量至少 1.5 kg, 连续取样 1 年(从 2011 年 6 月~2012 年 5 月, 2012 年 1 月未取样), 样品经现场海水冲洗干净, 采样后放于海水中暂养排掉泥沙, -20 °C 冷冻保存备用。采样同时测定海水温度, 取两次平均值记录。

样品制备: 冷冻文蛤样品经室温解冻, 剖开壳体, 取所有柔软组织用自来水和纯水冲洗干净, 沥水, 用匀浆机搅碎后, 混匀备用。

扇贝质控样(GBW10024)购自中国计量科学院化学所。

1.2 仪器与试剂

AFS-9800 型原子荧光光谱仪(北京海光仪器有

收稿日期: 2012-12-27, 修回日期: 2013-08-06

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项(2013418007-1); 国家科技支撑计划项目(2012BAC07B03); 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(13)3094)

作者简介: 凌云(1982-), 女, 江苏南通人, 助研, 硕士研究生, 主要从事海洋生态学研究, 电话: 0513-85228274, E-mail: lingyun 20110520@163.com; 万夕和, 通信作者, 研究员, 博士, E-mail: wxh1708@163.com

限公司), 附带硒空心阴极灯和纯度为 99.99% 的氩气作载气; EH35APlus 型数显电热板(北京莱伯泰科公司);

实验用水为超纯水, 硝酸、高氯酸、盐酸、氢氧化钾、硼氢化钾均为 GR; 硒标准物质(1000 mg/L): GBS04-1751-2004, 购自国家有色金属及电子材料分析测试中心, 硒标准中间液质量浓度为 10 μg/mL, 硒标准工作液质量浓度为 100 μg/L; 100 g/L 铁氰化钾溶液。

1.3 标准曲线的配制

分别吸取硒标准工作液 0.0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mL 于 20 mL 比色管中, 定容至 10 mL。再分别加入 2.0 mL 浓盐酸, 1.0 mL 铁氰化钾溶液, 混匀, 放置 20 min。还原剂为 1.5% 硼氢化钾, 载液为 5% 盐酸。

1.4 样品前处理

采用湿法消解方法, 称取处理好的文蛤样品约 2 g (精确至 0.0001 g), 放入 150 mL 三角烧瓶中, 加 10 mL HNO₃+HClO₄(4+1)混合酸, 摇匀, 冷消解过夜。次日于电热板上低温加热消化, 当溶液变为清亮无色并伴有白烟时, 继续加热至剩余体积 2 mL 左右, 冷却至室温。再加 5 mL(1+1)盐酸溶液, 继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟冒出。冷却至室温, 转移至 50 mL 比色管中, 用纯水定容, 摇匀后静置。取 10 mL 文蛤消解液置于比色管中, 加入 2 mL 浓盐酸、1 mL 铁氰化钾溶液, 混匀待测。同时做空白试验。

1.5 仪器测定及计算

仪器条件设置: 负高压: 300 V; 灯电流: 80 mA; 原子化高度: 8 mm; 屏蔽气流量: 900 mL/min; 载气流量: 400 mL/min; 测量方式: 标准曲线法; 读数方式: 峰面积; 延迟时间: 2 s; 读数时间: 12 s。待仪器稳定 20 min 后开始测量。

试样测定结果按以下公式计算:

$$X = \frac{(C - C_0) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000}$$

式中, X 为试样中硒的含量, mg/kg; C 为试样消解液测定浓度, mg/L; C_0 为试样空白消解液测定质量浓度, mg/L; m 为试样质量, g; V 为试样消解液总体积, mL。

表 2 质控样加标回收率测定

Tab.2 Measurement on recovery of the labeled quality control samples

| 加标质量浓度(μg/L) | 加标量(μg) | 测得值 1(μg) | 测得值 2(μg) | 测得值 3(μg) | 平均值(μg) | 回收率(%) |
|--------------|---------|-----------|-----------|-----------|---------|--------|
| 5 | 250 | 921.4 | 897.2 | 916.3 | 911.6 | 114.4 |
| 10 | 500 | 1176.4 | 1163.2 | 1196.4 | 1178.7 | 110.6 |
| 20 | 1000 | 1587.3 | 1592.2 | 1614.7 | 1598.1 | 97.3 |

1.6 数据统计分析

采用 SPSS statistics19 软件进行单因素方差分析和 LSD 多重比较, 以 $P < 0.05$ 作为显著性水平。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线、检出限和精密度

按仪器条件, 以 5% HCl 为载体, 1.5% KBH₄ 为还原剂, 测得的 Se 元素的线性回归方程为 $y = 35.006x + 8.3404$, 相关系数 R^2 为 0.9990, 拟合度良好, 结果可靠, 见表 1。

表 1 硒标准曲线测定

Tab.1 Standard curves of selenium

| C 质量浓度(μg/L) | 荧光值 f_i | $f_i - f_{i0}$ |
|--------------|-----------|----------------|
| 0 | 3.197 | — |
| 2.5 | 93.083 | 89.886 |
| 5 | 179.604 | 176.407 |
| 10 | 356.911 | 353.714 |
| 20 | 742.063 | 738.866 |
| 40 | 1398.987 | 1395.79 |

交替测定预处理空白和标准溶液, 取 11 次连续测量空白溶液的荧光信号的标准偏差, 乘以标准曲线的斜率, 得出检出限为 0.255 μg/L。以质量浓度为 20 μg/L 的硒标准溶液进行精密度的测定, 实验测得精密密度为 5%, 满足精密密度要求。

2.2 质控样含量及回收率测定

质控样扇贝(GBW10024)称样量为 0.5 g (精确至 0.0001 g), 在上述实验条件下, 对扇贝中的硒进行测定。连续 3 次测定扇贝中硒含量分别为 1.208、1.310、1.241 mg/kg, 平均值为 1.253 mg/kg, 相对标准偏差 RSD 为 4.15%, 扇贝标准物质证书上给出的硒含量值为 1.5 mg/kg ± 0.3 mg/kg, 测定结果在误差允许范围内。则扇贝称样量为 0.5 g 时, 含硒量为 625.5 μg。

称取 0.5 g 扇贝质控样 9 份, 分别加入 3 种不同浓度的 Se 标准溶液进行加标回收实验, 平行 3 次, 按上述方法测其含量, 取其平均值, 由表 2 结果可

见, 加标回收率为 97.3%~114.4%。可见采用该方法测硒具有很好的可行性和准确性。

2.3 测定结果与分析

2.3.1 检测结果数据

将一年内不同月份的文蛤进行总硒含量测定, 测定结果见表 3。每份样品进行 3 次平行样测定, 计算平均值及相对标准偏差, 结果显示 RSD 值 ≤ 10%,

能满足食品中硒的测定要求。一年内文蛤硒含量的平均值为 0.330mg/kg, 最高值出现在 5 月份, 为 0.447 mg/kg, 最低值出现在 8 月份, 为 0.247 mg/kg。测定结果可以看出文蛤新鲜样品中硒含量呈一定规律性变化, 5 月份和 11 月份相对较高, 3 月份和 8 月份相对较低, 呈现由高到低再到高的周期性变化趋势。

表 3 一周年内文蛤生物体中硒含量测定结果

| 项目 | 2011年 6月 | 2011年 7月 | 2011年 8月 | 2011年 9月 | 2011年 10月 | 2011年 11月 | 2011年 12月 | 2012年 2月 | 2012年 3月 | 2012年 4月 | 2012年 5月 |
|-------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 测定 1 | 0.402 | 0.364 | 0.246 | 0.246 | 0.309 | 0.341 | 0.324 | 0.299 | 0.293 | 0.297 | 0.446 |
| 测定 2 | 0.425 | 0.396 | 0.243 | 0.268 | 0.296 | 0.359 | 0.298 | 0.303 | 0.275 | 0.290 | 0.437 |
| 测定 3 | 0.434 | 0.369 | 0.253 | 0.275 | 0.325 | 0.369 | 0.326 | 0.311 | 0.286 | 0.326 | 0.458 |
| 平均值 | 0.420 | 0.376 | 0.247 | 0.263 | 0.310 | 0.356 | 0.316 | 0.304 | 0.285 | 0.304 | 0.447 |
| RSD | 3.96% | 4.54% | 2.67% | 5.70% | 4.72% | 4.04% | 4.88% | 2.05% | 3.09% | 6.36% | 2.43% |
| 年平均値: | 0.330 | | 最大值: | | 0.447 | | 最小值: | | 0.247 | | |

2.3.2 不同季节硒含量的变化差异分析

一周内不同月份采集文蛤时记录的海水温度制成的海水表层温度变化趋势见图 1, 2011 年 8 月海水温度为最高, 2012 年 2 月海水温度为最低。将不同月份采集文蛤时海水温度变化与文蛤中硒含量变化进行相关性分析, 通过图 1 可以看出, 2011 年 6 月至 2011 年 10 月文蛤体中硒含量与海水温度变化呈相反趋势, 在 2011 年 11 月至 2012 年 5 月, 海水温度与文蛤体中硒含量呈相同趋势。

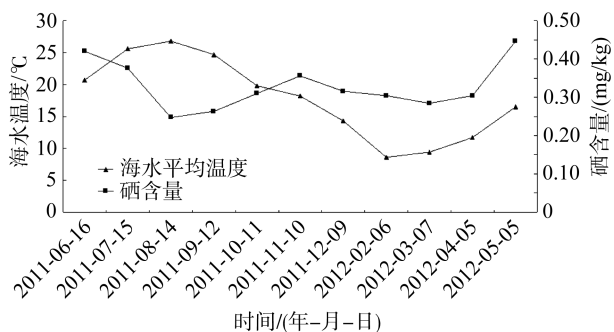


图 1 不同月份海水温度与文蛤硒含量的变化趋势

Fig. 1 Variation tendency of sea water temperature and the selenium content in *Meretrix meretrix*

将取样文蛤按照生物季节划分, 10~20 °C 左右的 4 月、5 月、6 月为春季, 20~30 °C 的 7 月到 9 月为夏季, 15~20 °C 的 10 到 12 月为秋季, 10 °C 以下的 1 月到 3 月为冬季, 将文蛤生物体中硒的含量根据不

同季节用 SPSS 软件进行单因素 ANOVA 分析和 LSD 多重比较(表 4), 结果表明文蛤生物体内硒含量在季节间差异极显著($P < 0.01$)。

将不同季节文蛤中硒的含量进行 LSD 多重比较, 可以得出春季文蛤中硒含量与夏季、冬季文蛤中硒含量差异极显著($P < 0.01$), 与秋季文蛤中硒含量差异显著($P < 0.05$); 夏季文蛤中硒含量和秋季、冬季比较相近, 差异不显著($P > 0.05$), 秋季文蛤中硒含量和冬季差异不显著($P > 0.05$)。

2.3.3 文蛤体中硒含量周年变化原因讨论

文蛤常栖息在河口附近沿岸的潮间带以及浅海区的细沙或泥沙滩中, 营埋栖生活, 通过滤水作用摄取海洋中的浮游植物和有机碎屑为食。张安国等^[1]研究了不同地理种群文蛤体内营养成分差异, 认为文蛤缺乏严格的选择饵料能力, 其摄食的最主要种类是硅藻, 这有很大的地区性和季节性的变化, 不同地区和不同季节, 水中饵料生物和底栖藻类繁殖情况不一。季节变化对文蛤摄食生理参数的影响主要表现为水温和饵料浓度的影响。

硒在海洋环境中含量极少, 属微量元素, Donald B 等^[16]、George L. Bowie 等^[17]研究认为, 硒是海洋微藻的一种基本生长调节剂, 是生物必需的微量元素, 极易被浮游植物所吸收, 并且可随食物链传递, 在生物体内累积。杨逸萍等^[18]通过研究海水和藻液中硒的含量, 得出海洋浮游植物对硒的富集系数高

表 4 不同季节文蛤生物体中硒含量的平均值和标准差及单因子方差分析(ANOVA)结果

Tab.4 The mean, standard deviations and results of one-way ANOVA for the selenium content in *Meretrix meretrix* in different seasons

| 文蛤中硒含量(mg/kg) | | | |
|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 春季 | 夏季 | 秋季 | 冬季 |
| 0.391 ^a ± 0.067 | 0.296 ^b ± 0.062 | 0.327 ^b ± 0.025 | 0.295 ^b ± 0.013 |

注: 上标英文小写字母表示季节间的差异程度, 字母相同表示差异不显著, 字母不同表示差异显著

达 10^4 以上。毛文君等^[10-11]研究了贝类中硒的分布特点, 认为贝类生物体的外套膜中硒含量最高。外套膜是贝类与外界沟通的唯一管道。由此推测文蛤体内的硒是因摄食饵料微藻而获取, 硒含量高低受摄取微藻含量多寡影响。

文蛤是变温动物, 环境温度对其生长发育影响也很大。徐东等^[19]、林小涛等^[20]研究了海水温度对贝类摄食生理的影响, 结果表明, 在一定适温范围内, 贝类的摄食率随温度升高而增大, 到达某一温度达到最大, 其后温度升高摄食率反而下降。探究其机理, Joergensen 等^[21]认为温度和贝类鳃丝纤毛的摆动呈正相关性。当温度过低时, 纤毛摆动的强度与频率下降, 使其摄食能下降; 随着温度升高使纤毛的摆动频率加快, 且高温可以减少海水的黏滞性, 从而使其滤水能力增加, 使摄食能增加。徐东等^[19]认为适宜的温度范围内, 温度升高使贝类的生命活动加强, 新陈代谢加快, 滤水率加快, 摄食率随之增大; 当水温超过一定的范围, 环境条件变得不再适宜时, 贝类的生命活动受到限制, 摄食率则下降。作者认为两者说法都有一定道理, 贝类摄食受温度影响存在被动吸收和主动运输两方面的因素, 温度影响着贝类本身的生理代谢状态。

通过对文蛤体内硒的周年测定可见, 文蛤体内硒含量呈一定规律性变化, 在春秋两季比较高, 而在冬夏两季相对较低。在前人的研究基础上, 作者认为硒含量的变化是因为硒被海洋浮游藻类吸收, 通过食物链传递被贝类摄取, 参与了文蛤体内生理代谢。不同季节, 浮游藻类繁殖能力和数量随温度的变化而改变, 文蛤饵料中硒的含量也随之改变。在春秋两季海水温度相对适宜, 藻类繁殖旺盛, 饵料丰富, 文蛤摄食时间较长, 文蛤适合生长, 其体内硒含量比较高。

文蛤的繁殖期因海区水温不同各地早晚不一样, 一般在水温 20~30 °C 繁殖, 江苏文蛤在 6 月到 7 月繁殖。繁殖前, 软体积累大量营养物质, 为产卵作好准备, 此时软体最肥, 文蛤体内富集的硒含量也比较高, 因此 5 月份文蛤体中硒含量为最高。繁殖期间软体消瘦, 生长缓慢, 繁殖后肥满度降低, 营养物质损

失, 体质虚弱, 贝类生长速度较慢, 硒含量逐渐降低, 同时 8 月海水温度较高, 酶蛋白易变性, 文蛤生长代谢受到一定程度抑制, 因此表现为 6 月到 8 月份硒含量逐渐降低, 8 月份文蛤体中硒含量为最低; 随着 9 月到 11 月海水温度的逐渐下降到适宜范围内, 藻类生长旺盛, 文蛤由繁殖期转为生长期, 文蛤的生理代谢增强, 硒含量逐渐增加; 到 12 月份时海水温度降至 15 °C 以下, 文蛤的生长代谢下降, 文蛤体内硒含量则由高降低, 在次年 2 月、3 月海水温度低于 10 °C 以下, 饵料相对少, 文蛤体内酶活性受抑制, 文蛤生长缓慢, 文蛤体内硒含量处于较低状态; 而到 4 月份时海水温度上升至 10 °C 以上, 海洋藻类逐渐丰富, 贝类摄食量增大, 体内酶活性高, 生长旺盛, 到 5 月份文蛤体内营养物质丰富, 为繁殖做准备, 文蛤体中硒含量比较高。综上所述, 可以推测文蛤体内硒含量呈周期性变化的原因在于受到海水温度、饵料生物环境因子及文蛤本身生理状态(繁殖期、生长期)的影响所致。

3 结论

通过本实验表明不同月份不同季节文蛤贝类中的硒含量呈现一定规律变化, 表现为春、秋两季硒含量高, 夏、冬两季硒含量低, 不同季节文蛤体中硒含量差异显著。这提醒我们在采集样品检测营养成分时, 要选择合适的采集时间, 肥满度比较高的季节即在其繁殖节前采集才能检测其最高的含量。不同采集时间, 采集地域跨度大, 对测定结果会有直接影响。

本研究初步探讨了文蛤体中硒含量周年变化的形成原因, 认为与海水温度高低、饵料生物多寡以及贝类体内的生理状态(繁殖期、生长期)等因素有关, 但其深层次的机理还有待进一步实验验证。

参考文献:

- [1] 张安国, 李太武, 苏秀蓉, 等. 不同地理种群文蛤的营养成分研究[J]. 水产科学, 2006, 25(2): 79-81.
- [2] 杨晋, 陶宁萍, 王锡昌. 文蛤营养成分及其对风味的影响[J]. 中国食物与营养, 2007, 5: 43-45.
- [3] 罗海吉, 吉雁鸿. 硒的生物学作用及其意义[J]. 微量

- 元素与健康研究, 2000, 17(2): 70-72.
- [4] Rayman M P. The importance of selenium to human health[J]. *The Lancet*, 2000, 356(9225): 233-241.
- [5] 邓永强, 黄小丽. 硒的生物学作用及其在水产上的研究[J]. *中国饲料*, 2005, (16): 22-24.
- [6] 黄峙. 食品硒源的生物学研究进展[J]. *食品科学*, 2001, 22(5): 90-94.
- [7] 徐辉碧. 硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M]. 武汉: 华中理工大学出版社, 1994.
- [8] 管凌飞, 范必威, 周莉. 生物样品中硒的测定方法及形态分析研究进展[J]. *广州化学*, 2006, 31(4): 61-67.
- [9] 蒲家彬. 海洋环境样品中硒的测定[J]. *海洋环境科学*, 1990, 9(3): 48-54.
- [10] 毛文君, 管华诗. 紫贻贝和海湾扇贝生化成分中硒的分布特点[J]. *中国海洋药物*, 1996, 1: 16-18.
- [11] 毛文君. 几种海洋动物中硒化学形式和分布[J]. *海洋科学*, 1997, 2: 8-9.
- [12] 王雪影, 杨殿来, 林海, 等. 黄海牡蛎中锌和硒含量的测定与健康保健食用量分析[J]. *食品工业科技*, 2006, 4: 182-184.
- [13] 顾倍乔, 朱敬萍, 刘琴, 等. 氢化物原子荧光光谱法测定海洋生物体中的痕量硒[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2005, 24(4): 380-382.
- [14] 陈华絮. 雷州市沿海几种贝类营养成分的分析[J]. *中国食物与营养*, 2006, 7: 49-51.
- [15] 许卉, 贺萍. 催化褪色光度法测定海洋生物中痕量硒[J]. *分析化学*, 2003, 31(10): 1244-1246.
- [16] Donald B. Porcella, George L. Bowie, et al. Assessing Se cycling and toxicity in aquatic ecosystems. *Water, Air, and Soil Pollution*, 1991, 57-58(1), 3-11.
- [17] Bowie G L, James G Sanders, Gerhardt F Riedel, et al. Assessing selenium cycling and accumulation in aquatic ecosystems. *Water, Air, and Soil Pollution*, 1996, 90(1-2): 93-104.
- [18] 杨逸萍, 李河典, 胡明辉. 硒在海洋浮游植物生化组分中的分布[J]. *海洋学报*, 1994, 19(3): 143-148.
- [19] 徐东, 张继红, 王文琪, 等. 虾夷扇贝的摄食生理研究[J]. *渔业科学进展*, 2010, 31(4): 85-91.
- [20] 林小涛, 钟金香, 颜晓勇, 等. 温度对翡翠贻贝能量收支的影响[J]. *海洋科学*, 2002, 26(4): 13-17.
- [21] Joergensen C B, Larsen P S, Riisgaard H U. Effects of temperature on the mussel pump. *Marine ecology progress series*. 1990, 64(1-2): 89-97.

Annual variation of trace selenium content in *Meretrix meretrix* in the South Yellow Sea tidal flats

LING Yun, WAN Xi-he, WANG Li-bao, LI Hui, SHEN Hui, CHEN Yu-sheng
(Institute of Oceanology & Marine Fisheries, Nantong 226007, China)

Received: Dec, 27, 2012

Key words: HG-AFS, South Yellow Sea, *Meretrix meretrix*, selenium, annual variation

Abstract: The anniversary changes of trace element selenium in *Meretrix meretrix* in the South Yellow Sea tidal flats were measured by hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG - AFS) following a 4 : 1 mixed acid to wet digestion and the reliability of the method with quality control samples and the recovery of standard were studied and verified. The results showed the content of selenium was between $0.2\sim 0.5\times 10^{-6}$ mg/kg with an average value of 0.330×10^{-6} mg/kg. The selenium in *Meretrix* showed regularity changes in different seasons. The content of selenium is higher in spring and autumn, and lower in summer and winter. The selenium in *Meretrix* had obvious different content in different seasons, which was connected with seawater temperature, food organism and *Meretrix* grow and breed and so on.

(本文编辑: 梁德海)