

全麦鲜湿面褐变机制及抑制方法的研究

牛 猛,于 琦,幸新干,王 莉,陈正行*

(江南大学粮食发酵国家工程实验室,江苏无锡 214122)

摘要:以全麦面粉为原料制作鲜湿面条,追踪其褐变过程,研究其褐变机制,并尝试采用超声波与抗氧化剂联合处理的灭酶方法抑制面条中的褐变反应。结果表明:全麦鲜湿面的24h内的褐变过程可以分为三个阶段;多酚氧化酶酶促反应是影响全麦鲜湿面褐变的主要因素之一;超声波与抗氧化剂联合处理的方法可以有效抑制多酚氧化酶(PPO)的酶活,控制褐变的发生,并且短时间(2min之内)超声处理不会对全麦面粉中矿质元素的含量产生显著影响($p>0.05$)。

关键词:全麦鲜湿面,褐变,超声波,抗氧化剂

Study on mechanism and inhibiting method of darkening in whole-wheat fresh noodle

NIU Meng, YU Qi, XING Xin-gan, WANG Li, CHEN Zheng-xing*

(National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Whole-wheat flour was used as material to produce fresh noodles. The experiment was designed to understand the process and the mechanism of darkening and attempt to inhibit browning by using combination of ultrasound and antioxidants. Results showed that there were three stages in the process of darkening in 24 hours. PPO enzymatic reaction was one of major factors influencing darkening in whole-wheat fresh noodles. The combined treatment with ultrasound and antioxidant was an effective method to reduce PPO activity and inhibit darkening process in whole-wheat fresh noodles, ultrasonic treatment in 2min showed no significant effect on the content of minerals in whole-wheat flour in this experiment ($p>0.05$).

Key words: whole-wheat fresh noodle; darkening; ultrasound; antioxidant

中图分类号:TS213.2

文献标识码:A

文 章 编 号:1002-0306(2013)18-0090-05

全谷物食品中含有大量的生理活性物质,这些生理活性物质可以通过单个组分或相互结合或协同增效来产生各种保健作用^[1]。面条是亚洲国家居民的重要主食之一,据统计在亚洲每年用来生产面条的小麦要占到小麦年产量的40%^[2]。因此,以全麦面粉生产面条,对于增加生理功能性物质摄入,改善居民膳食结构具有重要意义的。

鲜湿面近几年来受到消费者的广泛喜爱,但其生产和开发需要突破的一个难点即褐变,它严重影响了鲜湿面的受欢迎程度。尽管国内外学者已经对面条等面制品的褐变进行了一些研究,但关于褐变的机理目前尚未明了。Jiang等^[3]发现麦麸中存在大量的酚类物质,这些酚类物质在多酚氧化酶(PPO)的作用下能够形成色素类物质,对加工制品的外观产生影响。另外,Asenstorfer等^[4]发现在没有多酚氧化酶活性的小麦品种中,褐变也会发生,产生原因与小麦种子中的其他成分有关,但机理尚不清楚。

超声波作为一种高效的灭酶方法,可以在液体媒质中产生短暂而激烈的瞬态空化效应。由于它具

有时间短,效率高,对品质影响小等特点,近年来被广泛应用与食品保鲜工艺中。目前还没有发现使用超声波降低小麦中PPO活性的研究和报道。

本实验追踪了全麦面条褐变过程,探究面条褐变规律和机制,并尝试采用超声波与抗氧化剂结合处理的灭酶方法,降低麦麸中多酚氧化酶酶活,抑制面条中的褐变反应的发生。本实验还研究了全麦面条褐变的机理并采用超声波与其他技术相结合的方法抑制褐变反应,对改进面条及其他面制品的保鲜技术具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

优质小麦面粉(出粉率为80%)、优质小麦麦麸 山东滨州泰裕麦业有限公司;环庚三烯酚酮、抗坏血酸、谷胱甘肽、左旋多巴、福林酚试剂、没食子酸 美国Sigma公司;食用盐 江苏省盐业集团有限责任公司。

HM4400型和面机 上海客浦电器有限公司;JMTD-168/140型实验面条机 北京东方孚德;实验超微粉碎机;Q-200A2型实验粉碎机 上海冰都电器有限公司;Vcx750型超声波破碎仪 美国Sonics and Materials公司;ZK-82型真空干燥箱 上海实验仪器厂有限公司;UV-1800型分光光度仪 上海美

收稿日期:2013-03-27 * 通讯联系人

作者简介:牛猛(1985-),男,在读博士,研究方向:食品科学。

基金项目:江南大学大学生创新训练计划项目。

谱达仪器有限公司;CR-400型色差计 日本Konica Minolta公司;AA220型原子吸收分光光度计 美国Varian公司。

1.2 实验方法

1.2.1 制粉工艺 将优质小麦麦麸在实验超微粉碎机中进行碾磨,至全部颗粒通过50目筛,混合均匀后按比例回添到优质小麦面粉中得到全麦面粉。

1.2.2 面条制作工艺 将100g全麦面粉或普通面粉、1g食盐和33g自来水在和面机中混匀形成面团,静置20min后,经实验面条机轧片、切条、切断制作成鲜湿面,宽度和厚度分别为2mm和1mm,制作完成的面条放入自封袋内保存。

1.2.3 颜色测定 采用色差计分别记录鲜湿面在制作完成后0、2、5、10、20、30min和1、1.5、2、2.5、3、4、12、24h时面条的L*(亮度值),计算 ΔL^* (Lightness_{0h}-Lightness_{sh}),每次测定取面片上8个不同部位采集数据,结果取平均值。在2.3.3对抑制褐变效果的考查中取制作完成后2、4、8、12、24h的面条分别进行L*的测定。

1.2.4 超声波与抗氧化剂协同处理的灭酶方法 将100g碾磨后的麦麸放入2L的烧杯中,加入1L质量分数为1%抗坏血酸溶液或0.5%谷胱甘肽溶液,搅拌后将超声探头浸入悬浊液液面以下50mm进行超声处理,超声处理每25s间歇一次,间歇时间为5s,振幅为80%,为保证麦麸不受高温破坏,超声时间不能太长,超声处理总时间分别设定为1、2、3min(包括间歇时间)。在整个超声处理过程中,磁力搅拌子不停对麦麸悬浊液进行搅拌。抗氧化剂单独处理时将悬浊液搅拌3min,不做超声处理,表1为超声波与抗氧化剂协同处理灭酶方法的不同组合。将灭酶处理后的麦麸悬浊液过滤,滤渣40℃下真空干燥至水分含量到达14%,碾磨后得到灭酶处理的麦麸,并回填到面粉中得到全麦面粉。

1.2.5 多酚氧化酶(PPO)的测定 参照文献[6]并进行改进:将灭酶处理过的0.5g全麦面粉放入50mL离心管中,加入7.5mL含有10mmol/L左旋多巴的50mmol/L3-(N-吗啉基)丙磺酸缓冲液溶液(pH为6.5),20℃放置1h后8000g下离心3min,取上清液在475nm下测定吸光值,对照组不含底物左旋多巴。多酚氧化酶活以 $\Delta A_{475\text{nm}}/(\text{min}\cdot\text{g}\text{面粉})$ 来表示。

1.2.6 游离多酚含量的测定 参照文献[7]并进行改进:5g全麦面粉与20mL 80%的冷酒精混合后放置10min,然后在转速为3000g下离心10min,取出上清液后沉淀进行再一次抽提,将上清液混合在45℃下旋转蒸发到体积为10mL,然后用蒸馏水定容到25mL

得到浸提液。

取125μL浸提液加入到0.5mL的蒸馏水中,再加入125μL福林酚试剂混合后反应6min,取1.25mL 7%碳酸钠溶液加入到反应液中然后用蒸馏水定容到3mL。将反应液在室温下放置90min后,在760nm处测定吸光值。本实验采用没食子酸作为标准,多酚含量以没食子酸当量表示。

1.2.7 矿质元素的测定 采用湿法消化的方法将全麦面粉消解,加入HNO₃将灰分溶解后采用原子吸收光谱法测定Fe、Zn和Ca的含量。

1.2.8 数据处理 采用Origin 7.5进行线性和非线性回归分析,采用SPSS 17.0对所得数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 全麦鲜湿面的褐变过程

如图1所示,根据全麦鲜湿面褐变曲线的变化规律可以将褐变过程分为三个阶段:I阶段:0~0.5h;II阶段:0.5~4h;III阶段:4~24h。I阶段曲线可以用一次函数来表示,其中t表示时间,单位为h;II阶段曲线呈非线性指数变化趋势,III阶段曲线可以用一次函数表示但斜率相对于I阶段减小很多。普通面条的褐变趋势与全麦面条相似,但从2h开始,褐变程度小于全麦面条。

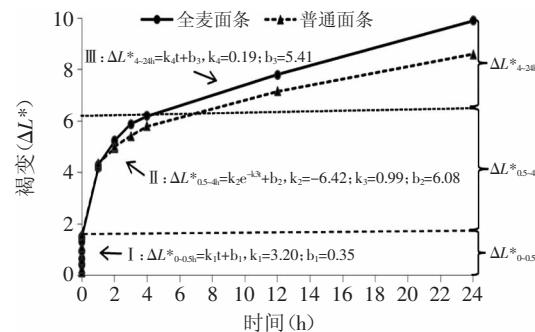


图1 全麦鲜湿面与普通鲜湿面褐变过程的对比

Fig.1 Comparison of darkening process between whole-wheat fresh noodle and ordinary fresh noodle

Asenstorfer等^[8]在对黄碱面褐变的研究中根据褐变曲线将褐变过程分为两个阶段,回归分析后得到第一阶段和第二阶段的函数分别为 $\Delta L_1^*=ae^{-k_1t}+k_2t+c$ 和 $\Delta L_2^*=k_3t+b$,与本实验II阶段和III阶段拟合函数相似。面条褐变是多种因素共同影响的结果,这些因素大体可归为两类:酶促褐变因素和非酶褐变因素^[9]。不同的因素影响褐变的方式和时间不同,造成褐变在不同阶段表现出不同趋势。研究各因素在褐变过程中所起到的作用和作用方式即褐变机制,能够为

表1 超声波与抗氧化剂协同处理的不同组合

Table 1 Different combinations of ultrasound and antioxidant

操作参数	组别											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
超声时间(min)	0	0	0	1	1	1	2	2	2	3	3	3
谷胱甘肽(%)	0	0.5	0	0	0.5	0	0	0.5	0	0	0.5	0
抗坏血酸(%)	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1

筛选有效抑制褐变的方法提供重要参考。

2.2 全麦鲜湿面的褐变机制

本实验采用环庚三烯酚酮作为多酚氧化酶抑制剂,对全麦鲜湿面的褐变机制进行了研究。由图2可以看出:普通面条加入抑制剂后褐变程度减小,24h后的 ΔL^* 从8.60减小到5.70;相对于普通面条,全麦面条在多酚氧化酶受到抑制后褐变程度减小更大,可见酶促褐变在全麦面条褐变中所占比重较普通面条中大;不论是全麦面条还是普通面条,抑制剂对褐变的I阶段影响很小,对II阶段和III阶段影响较大,因此可以推测,多酚氧化酶在II阶段和III阶段中是引起褐变的主要原因,而对褐变的I阶段影响较小。

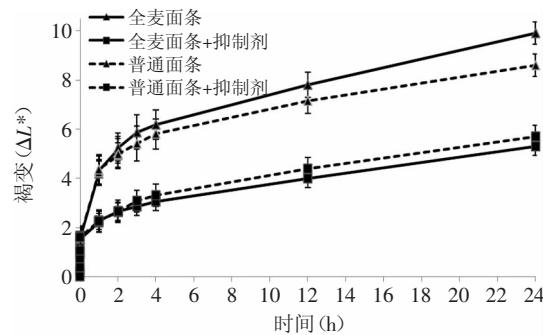


图2 全麦鲜湿面的褐变机制

Fig.2 Mechanism of darkening in whole-wheat fresh noodle

2.3 超声波与抗氧化剂协同处理灭酶方法对褐变的影响

酶促褐变是全麦鲜湿面发生褐变的主要原因,本实验采用超声波与抗氧化剂协同处理的方法降低多酚氧化酶活性从而减小全麦鲜湿面褐变的程度。

2.3.1 对多酚氧化酶酶活的影响 如图3所示,随着超声波作用时间的增加,麦麸中PPO的活性降低;相同超声波作用时间下,加入抗氧化剂要比单独超声处理的效果好,其中加入抗坏血酸后效果最好。如当超声波作用时间为1min,不加抗氧化剂时酶活降低到87.52%,加入还原型谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸(AA)后酶活残留分别为76.47%和67.54%;当超声波时间增加到3min时,效果更加明显,单独超声波处理后酶活为37.28%,与GSH和AA协同处理后酶活残留分别为23.43%和7.25%。

生物体中的酶在超声波作用下,由于受到空化

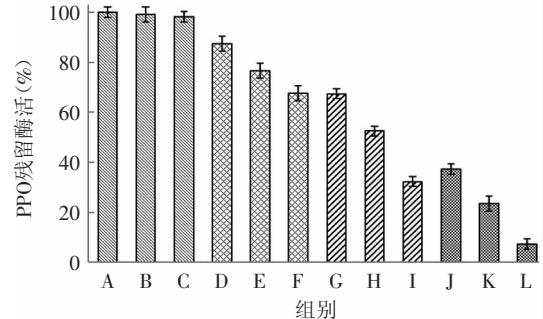


图3 灭酶处理对PPO酶活的影响

Fig.3 Effect of enzyme deactivation treatment on PPO activity

泡形成或者崩溃时激烈效应的影响,容易产生变性从而失去活性^[9]。Arias等^[10]在研究抗坏血酸对PPO抑制效应时发现在没有PPO底物如酚类物质存在时,抗坏血酸可以不可逆地与PPO活性部位组氨酸上的Cu²⁺结合从降低酶的活性。本实验中,超声波产生的空化效应很可能为抗坏血酸提供了更适宜的与PPO活性部位结合的环境,从而更有效的抑制了酶的活性。

GSH对PPO的抑制是依靠GSH的还原性将酶活性部位的Cu²⁺还原成Cu⁺,从而酶失去与底物结合的能力,但GSH与酶的结合是可逆的,当Cu⁺被O₂或其他氧化剂氧化为Cu²⁺,GSH的抑制作用便消失。

2.3.2 麦麸中游离多酚含量的变化 如图4所示,超声波处理对麦麸中的多酚含量也产生了影响。随着超声波作用时间的增加,麦麸中多酚含量不断减少。未经超声波处理时游离多酚含量为1.90μmol/g,分别经过1、2、3min超声波处理后含量分别减少到1.63、1.47、1.23μmol/g,抗氧化剂的加入几乎没有对游离多酚含量产生影响。

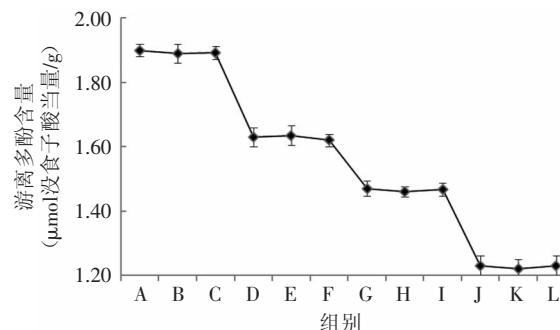


图4 灭酶处理对游离多酚含量的影响

Fig.4 Effect of enzyme deactivation treatment on free polyphenols content

小麦种子中的酚类物质大多是不溶性的,它们与多糖以酯键或者醚键结合一起存在于细胞壁中,只有少部分的酚类是以游离的方式存在^[11]。结合态的酚类物质由于流动性差,与PPO接触的机会较少,因此参与褐变反应概率较小;游离态的酚类物质流动性大,与PPO接触机会多,因此成为参加褐变反应的主要底物^[3]。本实验中,麦麸中的酚类物质经过超声波作用后部分被萃取的到溶液里(作用后溶液中含有酚类物质),从而减少了反应底物,一定程度上抑制了褐变反应的发生。另外,小麦中的酚类物质是人类摄取植物类抗氧化剂重要来源,是提高机体机能的重要途径。本实验中超声波作用时间较短,不足以将结合类酚类物质萃取出来,而且游离状态的酚类在总酚含量中比重很小,所以超声波作用对全麦面粉营养功能的影响较小。

2.3.3 对面条褐变的抑制效果 如图5结果所示,经过超声波和抗氧化剂协同处理后面条褐变程度明显减小,其中添加抗坏血酸效果最佳;单独超声波处理在一定程度上抑制了面条的褐变反应,但在同样超声波作用时间下没有与抗氧化剂协同处理效果好。

麦麸经过处理后PPO酶活的下降是褐变减少的直接原因,另外作用底物游离多酚含量减少也促进了褐变的减缓。GSH作为还原剂可以将PPO活性部位的Cu²⁺以及PPO氧化产物还原,随着还原力的不断减弱,抑制效果逐渐减小;抗坏血酸能够与PPO活性部位不可逆结合,产生理想的抑制效果;从结果中还可以看出,PPO酶活的大小是决定全麦鲜湿面褐变程度轻重的主要因素之一。

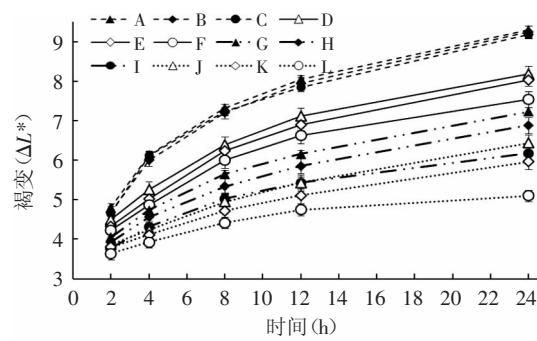


图5 不同灭酶处理组合对褐变的抑制效果

Fig.5 Inhibitory effect of different combinations on darkening in noodle

2.4 灭酶处理对矿质元素含量的影响

表2 灭酶处理对矿质元素含量的影响

Table 2 Effect of enzyme deactivation treatment on mineral element content

处理时间 (min)	矿质元素 (mg/kg)		
	Fe ²⁺ /Fe ³⁺	Zn ²⁺	Ca ²⁺
0	50.53±0.25 ^{NS}	22.30±0.15 ^b	482.5±9.4 ^{NS}
1	50.23±0.22	22.02±0.20 ^{ab}	472.4±8.1
2	49.82±0.19	21.84±0.14 ^{ab}	457.6±8.0
3	49.63±0.27	21.52±0.18 ^a	445.8±11.5

注: NS: 数据不具差异; 同列不同小写字母代表差异显著($p < 0.05$)。

表2为灭酶处理对全麦面粉中矿物营养的特性的影响。虽然随着超声波作用时间的增加,矿物元素损失也在增加,但是当处理时间达到最长的3min时,Fe²⁺、Fe³⁺、Ca²⁺含量没有显著减少,只有Zn²⁺的含量在3min处理后相对于对照组显著减少。实验还发现抗氧化剂的加入没有影响到矿质元素的减少程度(数据未列出)。

植物中的金属离子一般被包裹在细胞壁中,在强酸和超声波的联合作用下才会被萃取到溶剂中,强酸破坏植物细胞壁,超声波作为辅助方法促进金属离子转移到溶剂中^[12-13]。小麦中的矿物元素大多位于麸皮层坚硬的细胞壁中,因此短时间(2min之内)超声波作用不会对矿质元素含量产生较大影响。

3 结论

根据全麦鲜湿面褐变的趋势可将褐变过程为三个阶段,I阶段和III阶段曲线可以用一次函数来表示,II阶段曲线呈非线性指数变化趋势;以环庚三烯

酚酮作为PPO抑制剂,研究发现酶促褐变在全麦鲜湿面褐变中所占比重大于普通面条,抑制剂的加入减小II阶段和III阶段的褐变程度,对I阶段影响很小,推测I阶段褐变与非酶因素相关。

超声波与抗氧化剂协同灭酶处理可以有效地降低PPO的酶活,其中超声波与抗坏血酸协同效果最佳,相同作用时间下,单独超声波处理效果低于协同处理效果;麦麸中的游离多酚在灭酶处理过程中可以被部分地萃取到溶剂里,减少了PPO作用底物;酶活的降低和底物的减少促进了全麦鲜湿面褐变程度的减弱,PPO酶活的大小是决定全麦鲜湿面褐变程度轻重的主要因素之一。另外,短时间(2min之内)灭酶处理没有对矿质元素含量产生显著影响。

参考文献

- [1] 屈凌波. 谷物营养与全谷物食品的研究开发[J]. 粮食与食品工业, 2011, 18(5):7-9.
- [2] Hou G, Kruk M. Asian noodle technology[J]. American Institute of Baking Technical Bulletin, 1998(20):1-10.
- [3] Jiang H, Martin J, Okot-Kotber M, et al. Color of Whole-Wheat Foods Prepared from a Bright-White Hard Winter Wheat and the Phenolic Acids in Its Coarse Bran[J]. Journal of Food Science, 2011, 76(6):846-852.
- [4] Asenstorfer R E, Appelbee M J, Mares D J. Physical-Chemical Analysis of Non-Polyphenol Oxidase (Non-PPO) Darkening in Yellow Alkaline Noodles[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(12):5556-5562.
- [5] 梁华, 钮琰星, 黄凤洪, 等. 超声波在食品工业上的应用[J]. 食品工业科技, 2008, 29(7):293-296.
- [6] Anderson J V, Morris C F. An improved whole-seed assay for screening wheat germplasm for polyphenol oxidase activity [J]. Crop Science, 2001, 41(6):1697-1705.
- [7] Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-Raventos R M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent[J]. Methods Enzymol, 1999, 299:152-178.
- [8] Asenstorfer R E, Appelbee M J, Mares D J. Impact of Protein on Darkening in Yellow Alkaline Noodles[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(7):4500-4507.
- [9] Mason T J, Lorimer J P, Batters D M, et al. Dosimetry in sonochemistry: the use of aqueous terephthalate ion as a fluorescence monitor[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 1994(1): 91-95.
- [10] Arias E, Gonzalez J, Peiro J M, et al. Browning prevention by ascorbic acid and 4-hexylresorcinol: Different mechanisms of action on polyphenol oxidase in the presence and in the absence of substrates[J]. Journal of Food Science, 2007, 2(9):464-470.
- [11] Verma B, Hucl P, Chibbar R N. Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fractions[J]. Food Chemistry, 2009, 116(4):947-954.
- [12] Prat M L, Lopez-Gonzalvez A, Ruiz M A, et al. Ultrasound-assisted extraction for rapid determination of Zn, Cu, Fe, Mg and Mn in liver of diabetic rats under different antioxidant treatments [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2009, 49

不同腌制条件下大叶麻竹笋质构特性及色泽变化规律的研究

汪莉莎^{1,2,3}, 谭雁文^{1,2,3}, 陈光静^{1,2,3}, 张艺^{1,2,3}, 宋家芯^{1,2,3}, 武菁菁^{1,2,3}, 夏季¹, 阚建全^{1,2,3,*}

(1.西南大学食品科学学院,重庆 400715;

2.重庆市农产品加工及贮藏重点实验室,重庆 400715;

3.农业部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(重庆),重庆 400715)

摘要:以大叶麻竹笋为原料,研究了大叶麻竹笋腌制前后质构和色泽的变化与食盐浓度、温度的关系。研究结果表明:大叶麻竹笋经腌制后,反映其质构特性的硬度、内聚性和咀嚼性三个质地参数的数值都会降低,且腌制食盐浓度越低、温度越高,三个质地参数的数值降低的越多。同时,大叶麻竹笋经腌制后,会失去原有的色泽,腌制食盐浓度和温度越高,大叶麻竹笋失色越严重。

关键词:大叶麻竹笋,腌制,质构,色泽

Change in texture and color of bamboo shoots with different pickling conditions

WANG Li-sha^{1,2,3}, TAN Yan-wen^{1,2,3}, CHEN Guang-jing^{1,2,3}, ZHANG Yi^{1,2,3}, SONG Jia-xin^{1,2,3},
WU Jing-jing^{1,2,3}, XIA Ji¹, KAN Jian-quan^{1,2,3,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing Key Laboratory of Produce Processing and Storage, Chongqing 400715, China;

3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products on Storage and Preservation (Chongqing),
Ministry of Agriculture, Chongqing 400715, China)

Abstract: Effects of salt concentration and temperature on texture and color of bamboo shoots (*Dendrocalamus latiflorus*) were compared and investigated during pickling. Results showed that firmness, cohesiveness and chewiness of bamboo shoots declined during pickling. It was found that bamboo shoots pickled at high salt concentration has higher firmness, cohesiveness and chewiness than those at low salt concentration of them. Furthermore, bamboo shoots pickled at low temperature had higher firmness, cohesiveness and chewiness than high temperature. At the same time, these results indicated that bamboo shoots lost their color during pickling, especially at high salt concentration and temperature.

Key words: bamboo shoots (*Dendrocalamus latiflorus*); pickling; texture; color

中图分类号:TS255.53

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2013)18-0094-05

大叶麻竹笋(*Dendrocalamus latiflorus*)又称大叶乌竹、大绿竹、甜竹,属禾本科竹亚科,多年生禾本植物,广泛分布于我国南亚热带和热带地区,其食用部分为初生、嫩肥的芽或鞭,是著名的高产型竹笋,适宜鲜食和加工^[1]。大叶麻竹笋的食用方法众多,腌制大叶麻竹笋因其丰富的营养价值、独特的风味等特

收稿日期:2013-04-01 * 通讯联系人

作者简介:汪莉莎(1989-),女,硕士研究生,研究方向:食品化学与营养学。

基金项目:国家重大星火计划项目(2011GA811001)。

(4):1040-1044.

[13] Filgueiras A V, Capelo J L, Lavilla I, et al. Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion

点,深受消费者的喜爱。质地与色泽是决定腌制果蔬品质的两个重要因素,影响着消费者对产品的满意程度。果蔬腌制过程中,受相关酶、微生物、化学物质等作用,质地与色泽会发生改变,导致腌制果蔬失去原有的色泽、质地变软,影响了腌制果蔬的食用价值^[2-7]。因此,有必要加强对腌制果蔬质地与色泽的研究。目前,国内外对于腌制大叶麻竹笋质地与色泽的研究还鲜有报道,特别是对不同腌制条件下大叶麻竹笋质地与色泽进行的比较研究。因此,本实验研究不同食盐浓度和不同腌制温度对大叶麻竹笋腌制前后质地与色泽的影响,旨在为提高腌制大叶麻竹笋

for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry[J]. Talanta, 2000, 53:433-441.