

南阳彩色小麦中微量硒的测定

高向阳^{1,2}, 高道竹³, 朱盈蕊⁴, 王长青²

(1. 郑州科技学院 食品科学与工程系, 河南 郑州 450064;

2. 河南农业大学 食品科学技术学院, 河南 郑州 450002;

3. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122;

4. 郑州市质量技术监督检验检测中心, 河南 郑州 450006)

摘要: 为了研究小麦中微量元素硒的含量与分布, 以南阳灰麦、硬质紫麦、普通紫麦、蓝麦为样品, 以周麦16、偃展4110为对照, 用微波快速消解, 用分子荧光法分别测定了麦皮、麦仁和全麦粉中的微量硒。结果表明: 硒的检出限为 3.6×10^{-2} ng/mL, 回收率为 96.88% ~ 104.23%。小麦全粉中硒含量为 0.064 3 ~ 0.136 mg/kg, 麦皮硒含量为 0.100 ~ 0.155 mg/kg, 麦仁硒含量为 0.055 3 ~ 0.116 mg/kg。彩色小麦麦皮中硒含量大于两种普通小麦, 普通紫麦硒含量最高, 可作为人体日常补硒的膳食来源。

关键词: 小麦; 硒; 微波消解; 分子荧光光度法

中图分类号: S 512.1 + 9 ; O 613.52 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007 - 7561 (2015) 06 - 0067 - 04

Determination of trace selenium content in Nanyang color wheat

GAO Xiang - yang^{1,2}, GAO Qiu - zhu³, ZHU Ying - rui⁴, WANG Chang - qing²

(1. Department of Food Science and Engineering, Zhengzhou Institute of Science and Technology, Zhengzhou Henan 450064;

2. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou Henan 450002;

3. College of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi Jiangsu 214122;

4. Zhengzhou Quality and Technology Supervision and Testing Center, Zhengzhou Henan 450006)。

Abstract: Taking nanyang grey wheat and hard purple wheat, common purple wheat, blue wheat as the samples, zhoumai16 and yanzhan 4 110 as control group, the distribution and content of trace element selenium in wheat was digested by microwave; the trace element selenium in wheat skin, kernel and whole wheat flour were determined by molecular fluorescence. The results showed that the detection limit of selenium was 3.6×10^{-2} ng/mL, recovery was 96.88 ~ 104.23%. Selenium content was 0.064 3 ~ 0.136 mg/kg in all wheat flour, 0.100 ~ 0.155 mg/kg in wheat skin and 0.055 3 ~ 0.116 mg/kg in wheat kernel. Selenium content in the color wheat skin was more than that in two kinds of common wheat; selenium content was the highest in common purple wheat, which can be used as good dietary source of selenium for people.

Key words: wheat; selenium; microwave digestion; molecular fluorescence spectrophotometry

硒是人和动物生命活动必需的微量元素, 是构成谷胱甘肽过氧化物酶的重要组成成分^[1-2]。硒能维持细胞的正常功能, 防治动脉粥样硬化, 降低血液粘度, 减少血栓形成, 缩小心肌梗塞面积^[3]。饮水中硒含量高的地区, 其高血压死亡率较低。硒是天然解毒剂、能保护视器官健全、养肝护肝、抗衰老

老^[4], 适量硒是癌细胞的杀伤剂, 几乎能防止一切癌症的发生^[5]。但摄入过量, 会造成毛发、指甲及趾甲脱落, 皮肤充血、溃烂和神经系统损伤等中毒症状^[6]。研究表明, 我国大部分人口膳食中硒元素摄取不足, 通过食品科学补硒, 是维护人体健康的主要途径^[7]。

小麦及其面制品是人们消费的主食, 南阳彩色小麦是近年培育的小麦新品种, 是宝贵的种质资源, 其硒在小麦中的含量分布特性未见文献报道。选择

收稿日期: 2015 - 01 - 02

基金项目: 河南省科技攻关项目 (JB02 - 0624430003)

作者简介: 高向阳, 1949 年出生, 男, 教授。

准确、简便、灵敏、快速测定食品中硒含量的分析方法,对推动区域性经济的发展和硒功能性食品的研发具有重要意义。

本实验用微波消解小麦样品,用分子荧光法测定,并与国标第一方法即氢化物—原子荧光光度法^[8]对照测定,结果令人满意。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备

970CRT型荧光分光光度计:上海分析仪器总厂;MDS-6型温压双控微波消解仪:上海新仪微波化学科技有限公司;PF6-3型多道全自动原子荧光光度计:北京普析通用公司;FW80微型高速万能试样粉碎机:天津市泰斯特仪器有限公司;HH-501型数显超级恒温水浴锅:金坛市杰瑞尔电器有限公司;pH213型酸度计:意大利哈纳HANNA公司。

1.2 主要试剂

氢氧化钠、硒粉、盐酸、环己烷和氨水(AR):天津科密欧化学试剂开发中心;2,3-二氨基萘(2,3-Di-aminoaphthalene, DAN)(AR):New Jersey USA & Geel Belgium公司;盐酸羟胺(AR):开封化学试剂总厂;高氯酸、双氧水(GR):天津科密欧化学试剂开发中心;硝酸(GR):天津化学试剂三厂。

100 μg/mL 硒标准储备液:精确称取 0.100 0 g 硒,溶于少量浓硝酸中,加入质量分数 70%~72% 高氯酸 2 mL,置沸水浴中 3~4 h,冷却后加入 0.1 mol/L 盐酸 8.4 mL,置沸水浴中 2 min,冷至室温后,准确稀释至 1 000 mL。用 0.1 mol/L 盐酸稀至 0.5 μg/mL,置于 2~4 °C 冰箱内保存,用前稀释至所需浓度。

0.1% DAN 试剂:称取 DAN 200 mg 于一带盖三角瓶中,加入 0.1 mol/L 盐酸 200 mL,振摇约 15 min 使其全部溶解。加入约 40 mL 环己烷,继续振荡 5 min,将此液倒入塞有脱脂棉的分液漏斗中,待分层后滤去环己烷层,收集 DAN 溶液层,反复用环己烷纯化直至环己烷中荧光降至最低时为止(约纯化 5~6 次)。将纯化后的 DAN 溶液储于棕色瓶中,加入约 1 cm 厚的环己烷覆盖表层,置 2~4 °C 冰箱内保存。

EDTA 混合液:a. 0.2 mol/L EDTA 二钠盐:称取 37 g EDTA 二钠盐溶于热水中,冷却后稀释至 500 mL;b. 100 g/L 盐酸羟胺溶液:称取 10 g 盐酸羟胺溶于水中,稀释至 100 mL;c. 0.02% 甲酚红指示剂:称取甲酚红 50 mg 溶于少量水中,加氨水(1+1)1 滴,溶解后加水稀释至 250 mL。

取上述 a 及 b 液各 50 mL,加 c 液 5 mL,加水稀释至 1 L,混匀备用。

10% 盐酸溶液:10 mL 浓盐酸加 90 mL 水;氨水+水=1+1(V/V)。

1.3 实验材料

周麦 16、偃展 4110:郑州市种子分公司;硬质紫麦、普通紫麦、蓝麦、灰麦:河南省南阳市农科所小麦研究室提供。小麦样品用水快速洗三次,置 60 °C 烘箱中烘干表面水分;一部分用不锈钢万能粉碎机磨成粉状,另一部分润麦后,用研钵小心将麦皮研出,分为麦皮和麦仁,分别烘干后粉碎,储于塑料袋中。用前于称量瓶中 60 °C 烘至恒质量,置于干燥器中保存,备用。

1.4 实验方法

将样品用混合酸消化为 Se^{4+} ,酸性条件下 Se^{4+} 与 2,3-二氨基萘(DAN)反应生成 4,5-苯并苯硒脑(4,5-Benzo piaselenenol)后,用环己烷萃取。在 $\lambda_{\text{ex}} 378.1 \text{ nm}$ 、 $\lambda_{\text{em}} 523.4 \text{ nm}$ 条件下测定荧光相对强度,从而计算出样品中硒的含量。主要反应式为:



1.4.1 样品消解

准确称取样品 0.500 0 g 左右分别置于 4 个溶样杯中,各加入 4.00 mL HNO_3 和 2.00 mL H_2O_2 ,装好后,按表 1 设定程序进行消解,同时做空白实验。

表 1 小麦微波消解程序的选择

	消解功率/W 压强/MPa				消解效果
	800, 0.2	800, 0.6	1000, 1.0	800, 1.4	
消解程序及 时间/min	(1) 2	3	4	6	黄色、浑浊
	(2) 2	4	6	8	黄色、浑浊
	(3) 2	5	8	10	绿色、澄清透明
	(4) 2	6	10	12	绿色、澄清透明

由表 1 可知,微波消解 25 min 以上可达较好效果。将消解液定容于 25 mL 容量瓶中,混匀备用。

1.4.2 标准曲线绘制

准确量取 0.05 μg/mL 硒标准溶液 0.00、0.20、1.00、2.00、4.00 mL,分别加水到 5 mL,加入 EDTA-2Na 混合液 20.00 mL,用氨水或盐酸调节溶液呈淡红橙色后,加入 3.00 mL 2,3-二氨基萘,置沸水浴中加热 5 min,冷却后加环己烷 5 mL,于振荡器上振荡 10 min,移入分液漏斗中,分层后弃去水层,将环己烷层倾入带盖试管中,于激发光波长 378.1 nm、荧光发射波长 523.4 nm 处测定荧光强度,以荧光相对强度为纵坐标、以 5 mL 环己烷中所含硒的质

量为横坐标绘制标准曲线。

1.4.3 样品测定

准确吸取 1.4.1 定容消解液 5.00 mL 于锥形瓶中,加 EDTA 混合溶液 20.00 mL,用氨水或盐酸调节溶液呈淡红橙色后,加入 2,3-二氨基萘 3 mL,置沸水浴中加热 5 min,冷却后加环己烷 5 mL,于振荡器上振荡 10 min,移入分液漏斗,分层后弃去水层,将环己烷层倾入带盖试管中,于激发光波长 378.1 nm、荧光发射波长 523.4 nm 处测定环己烷层荧光强度。从标准曲线上查出或代入线性回归方程,计算出待测离子的浓度,按公式(1)计算样品的质量分数。

$$\omega/\text{mg/kg} = \frac{\rho \times 5.00}{m} \quad (1)$$

式中: ω —样品中硒的质量分数,mg/kg; m —样品质量,g; ρ —标准曲线查得或回归方程计算的硒的质量浓度, $\mu\text{g}/5\text{ mL}$ 。

1.5 数据分析

用 SPSS 统计软件进行数据处理、单因素方差分析和样本 t 检验等相关分析。

2 结果与分析

2.1 消解剂用量的选择

小麦样品用 HNO_3 、 H_2O_2 混合液消解,准确称取 0.500 0 g 左右干基样品 4 份,空白 2 份,按 2+1 比例分别加 HNO_3 和 H_2O_2 于聚四氟乙烯消化罐中,摇匀,装好后按表 2 条件消解。

表 2 消解剂用量的选择

溶解剂	HNO_3/mL	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{mL}$	消解效果
1	2.00	1.00	黄色、浑浊
2	3.00	1.50	消解液黄色、透明
3	4.00	2.00	消解液呈淡绿色、澄清透明
4	5.00	2.50	消解液呈淡绿色、澄清透明

从表 2 可知: HNO_3 用量为 4.00 mL, H_2O_2 用量为 2.00 mL,消解效果较好。

2.2 激发光和荧光波长的选择

分别对硒与配位剂 2,3-二氨基萘的生成产物 4,5-苯并苝硒脑进行激发光和荧光光谱扫描,如图 1、图 2。从图可以看出,最大的激发光波长为 378.1 nm,最大荧光波长 523.4 nm。

2.3 仪器参数的选择

为节省时间扫描速度采用高速扫描,灵敏度档选择为“2”档,激发光缝宽 Ex、荧光缝宽 Em 均选择为 10 nm,激发光波长为 378.1 nm,荧光波长为 523.4 nm。

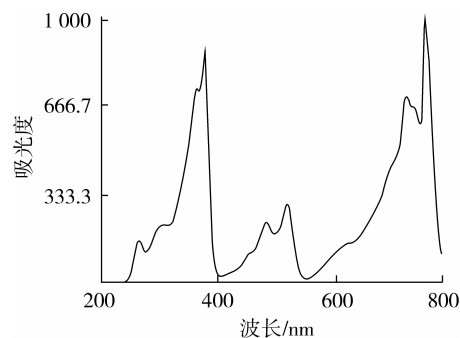


图 1 激发光扫描图谱

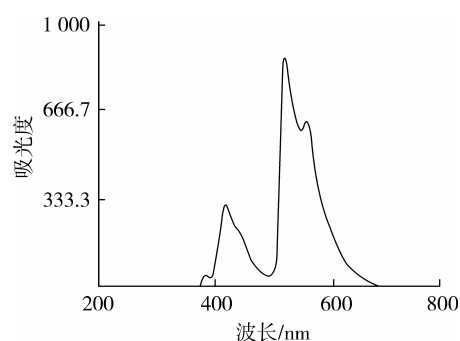


图 2 荧光扫描图谱

2.4 线性方程及相关系数

按 1.4.2 方法操作,在 0~0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 硒的浓度范围内呈线性关系,回归方程为 $y = 4462.3x + 6.1868$,相关系数 r 为 0.9992,线性关系良好。

2.5 干扰的消除

实验表明,测定 0.05 μg 硒时,100 倍量 Fe^{2+} 、 V^{5+} ;50 倍量 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} ;40 倍量 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} ;30 倍量 As^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Co^{2+} 、 Be^{2+} ;20 倍量 Ni^{2+} ;5 倍量 Cd^{2+} 不干扰。 Mo^{6+} 、 Fe^{3+} 及大量氧化性物质对测定的干扰,可加入 20 mL EDTA-2Na 和盐酸羟胺进行消除。

2.6 检测限

对空白溶液进行 11 次平行测定,按 3 倍标准偏差计算的检出限为 $3.6 \times 10^{-2} \text{ ng/mL}$ 。

2.7 小麦中硒含量的测定结果

按实验方法对各品种小麦组织中硒含量进行测定,每个样品平行测定 3 次,检验无可疑值后,取平均值报告,结果如表 3 所示,同时进行方差分析。

表 3 小麦样品各组织中硒的含量 mg/kg

样品	全麦粉 ($\bar{X} \pm S$) $\times 10^{-2}$	麦仁 ($\bar{X} \pm S$) $\times 10^{-2}$	麦皮 ($\bar{X} \pm S$) $\times 10^{-2}$
硬质紫麦	11.8 $\pm$ 0.036 ^b	10.9 $\pm$ 0.178 ^b	13.6 $\pm$ 0.096 ^b
普通紫麦	13.6 $\pm$ 0.227 ^a	11.6 $\pm$ 0.142 ^a	15.5 $\pm$ 0.282 ^a
灰麦	6.43 $\pm$ 0.208 ^e	5.53 $\pm$ 0.133 ^e	11.1 $\pm$ 0.335 ^d
蓝麦	8.68 $\pm$ 0.033 ^d	7.78 $\pm$ 0.248 ^d	11.8 $\pm$ 0.241 ^e
偃展 4110	10.5 $\pm$ 0.208 ^e	8.60 $\pm$ 0.249 ^e	10.2 $\pm$ 0.195 ^e
周麦 16	10.4 $\pm$ 0.252 ^e	8.87 $\pm$ 0.272 ^e	10.0 $\pm$ 0.224 ^e

注:表中相同字母表示差异不显著,不同字母代表差异显著($P=0.05$)。

由表 3 知,偃展 4110 和周麦 16 全麦粉、麦皮、麦仁之间没有显著性差异,但与彩色小麦间均有显著性差异,四种彩色小麦间也存在显著性差异。麦皮中的硒含量均高于同品种麦仁和全麦粉,彩色小麦麦皮硒含量均高于偃展 4110 和周麦 16,各小麦麦仁中的硒含量相对较低。

2.8 测定结果比较

取硬质紫麦、普通紫麦、周麦 16 样品用本法进行硒含量测定,并与氢化物原子荧光法比较,结果如表 4。通过 t 检验分析,两方法之间没有显著性差异,结论的置信度为 95%。

表 4 分子荧光法与氢化物原子荧光法测定结果的比较

样品	分子荧光法 测定结果	氢化物原子 荧光法测定结果	P 值
硬质紫麦	13.8 ± 0.288	13.9 ± 0.351	0.640
普通紫麦	19.4 ± 0.172	19.5 ± 0.462	0.207
周麦 16	12.0 ± 0.053	12.2 ± 0.300	0.158

2.9 回收率

按实验方法进行加标回收率试验,分别加入相当于 0.05、0.10、0.20 mg/kg 硒的标准溶液,测定结果如表 5。

表 5 回收率测定结果

加标水平	硬质紫麦	普通紫麦	周麦
加标前/(mg/kg)	0.138	0.194	0.120
加标量/(mg/kg)	0.096	0.189	0.388
加标后/(mg/kg)	0.231	0.391	0.499
加标回收率/%	96.88	104.23	97.68

由表 5 可知,本方法的回收率为 96.88% ~ 104.23%。

3 结论

用微波消解样品,省时省力,减小污染,降低成本。实验结果表明,小麦样品最佳处理条件为:消解时间 25 min,消解剂 4.00 mL HNO₃ + 2.00 mL H₂O₂;对分子荧光光度法与国标氢化物原子荧光法进行比较,测定结果表明二者没有显著性差异($P=0.05$)。硒的检出限为 3.6×10^{-2} ng/mL,回收率为 96.88% ~ 104.23%。用本法测定全麦粉样品,硒含量为 0.064 3 ~ 0.136 mg/kg,麦皮硒含量为 0.100 ~ 0.155 mg/kg,麦仁硒含量为 0.055 3 ~ 0.116 mg/kg,彩色小麦麦皮中硒含量均比两种普通小麦高。南阳彩色小麦间硒含量存在显著性差异,普通紫麦硒含量最高,可作为人体日常补硒的良好推广品种。

参考文献:

[1] 张俊杰. 硒的生理功能及富硒强化食品的研究进展[J]. 微量元素与健康研究,2006,23(3):58-60.

[2] 柏林洋,刘文. 食品中痕量硒分析方法研究进展[J]. 广州化工,2012,40(20):40-42.

[3] 张笑天,熊咏民. 硒与心血管疾病的研究进展[J]. 国外医学医学地理分册,2006,27(2):49-52.

[4] 李娟. 硒的生理功能及在食品生产中的应用[J]. 科学中国人,2014,(9):14-14.

[5] 刘培杏. 微量元素硒的生理学功效及富硒功能性食品简介[J]. 广西轻工业,2010,(3):3-4.

[6] 马玉富. 富硒食品研究综述[J]. 农民致富之友,2013,(22):79,81.

[7] 孙新涛,马往校,张双隼. 食品中有机硒的测定方法的研究[J]. 陕西农业科学,2014,60(2):35-37.

[8] GB 5009.93—2010,食品安全国家标准 食品中硒的测定[S].

