

植物中有机硒含量的测定

秦 日方

(无锡轻工大学中研所, 无锡 214036)

摘要 对有机硒和无机硒的测定进行了探讨, 利用压榨提取无机硒, 用荧光二阶导数法进行硒的定量测定, 通过标准添加法对提取率进行了测定, 回收率为93.2% ~ 98.4%, 变异系数为1.86.

关键词 硒; 荧光; 二阶导数; 压滤; 提取

分类号 O657.39

0 前 言

近年来, 随着对硒研究的深入, 各种富硒食品应运而生, 过多地摄入硒会发生中毒, 因此在生产和食用中对硒含量的监控就十分必要; 有机硒比无机硒的毒性低, 且易被人体吸收, 通过对植物喷洒无机硒, 将植物变成富含有机硒的产品, 这一方法已被采用, 因此对其中有机硒含量的测定势在必行。目前, 文献资料中所载的测定方法一般是测定总硒的, 对有机硒和无机硒的分别测定未见详细报导。笔者对此进行了探讨, 提出了植物中有机硒的测定方法。

1 材料与方法

1.1 材料

硒标准溶液: 称取0.1634 g 亚硒酸钠, 溶于蒸馏水中, 稀释至1 L, 此溶液浓度为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 取此液1.0 mL, 用0.1 mol/L HCl 稀释至500 mL, 得到0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 硒标准溶液。

2, 3-二氨基萘(DAN): 试剂级。

环己烷: AR.

盐酸: AR.

硝酸: AR.

蔬菜样品: 本校张愨副教授提供。

茶叶样品: 无锡新事业商贸公司提供。

650-60荧光分光光度计: 日立仪器公司生产。

1.2 方法

1.2.1 无机硒的提取 植物样品5~10 g 用搅拌机搅碎后压榨,用滤布过滤,收集滤液,用蒸馏水5~10 mL 洗涤滤渣,再压榨过滤,滤液与前次合并,洗涤3次,得到渣和汁两部分。汁再用环己烷萃取3次,所得无机相用于无机硒的测定。

1.2.2 样品的消化^[1] 总硒:取样品5~10 g,加入 $V(\text{硝酸}) \cdot V(\text{盐酸}) = 1 \cdot 3$ 的混酸12~20 mL,回流消化至澄清,冷却后定容至50 mL。

无机硒:由1.2.1所得的无机相,加热浓缩至5~10 mL,按上述方法消化,定容至50 mL。

1.2.3 测定液的制备 取2.0 mL 消化液,加1.0 mL 0.1 mol/L EDTA 溶液,1.0 mL 10% 盐酸羟胺溶液,混匀后静置1 min,再加1滴甲基紫指示剂,用浓氨水调节至浅兰色(pH 为1.0~1.5),加入4 mL 0.1% DAN 溶液(用0.1 mol/L HCL 配制),在60℃ 保持30 min,冷却后用10.0 mL 环己烷萃取,有机相用于测定。

1.2.4 硒含量的测定^[2] 激发波长378 nm,激发光狭缝15 nm,发射光狭缝4 nm,在480~600 nm 范围内对上述有机相进行荧光发射光谱的二阶导数微分扫描,波长宽度3 nm,记录谱图。读取516 nm 和526 nm 处的二阶导数值 d ,由二值之差($d_{516} - d_{526}$),可从标准曲线求得硒的含量。总硒和无机硒含量之差即为有机硒。

2 结果与讨论

2.1 无机硒的提取

植物体内硒以有机与无机两种形态存在,要测定有机硒的含量,首先必须将有机硒与无机硒分开。无机硒主要以 SeO_3^{2-} 和 SeO_4^{2-} 阴离子形式存在,而有机硒主要是与蛋白质、纤维和碳水化合物中的 C、N 等结合,以大分子有机物形态存在。因为植物中除去大量的水(90%~95%)外,蛋白质、纤维和碳水化合物是主要成份^[3],这些大分子物质的网状分子结构中含有许多空间位点,易与硒结合形成通常所说的有机硒。从理想状态考虑^[4],植物打碎成浆压榨过滤后,大部分有机硒由于结合在有机体上,形成大分子,不能透过滤布而留在滤渣中,少量小分子有机硒和全部无机硒通过滤布进入汁中,将汁用环己烷萃取,则有机硒被萃取到有机相中,水相中只留下无机硒,对水相进行分析,就可测定无机硒

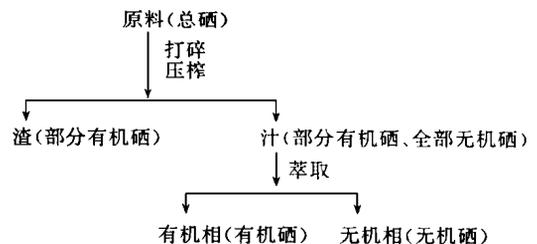


图1 无机硒提取流程图

的含量。如图1所示。

以上是从理想状态出发考虑问题,实际操作中主要在榨滤环节会产生误差,残渣中可能会包埋少许无机硒从而导致无机硒测定的偏低。所以要充分洗涤残渣,减少无机硒的损失。

2.2 测定方法

植物样品中硒含量很低,即使是人工培育的富硒植物,其含硒量也只有0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 左右,经过样品处理,测定液中硒的含量更低(约0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$)如采用荧光发射光谱的峰高进

行测定,由于520 nm 处的测定峰受到干扰(见图2)而使结果不准,所以不能直接利用峰高定量测定。

对图谱进行微分是排除杂峰干扰的有效措施^[2],通过对发射光谱进行二阶导数微分处理,就可将干扰峰排除。对图2进行二次微分后得到图3,图2中520 nm 处的峰对应的检测点为图3中516 nm 的A和526 nm 的B,A、B 两点的导数值之差在一定范围内与硒含量成正比,可用于硒含量的测定。

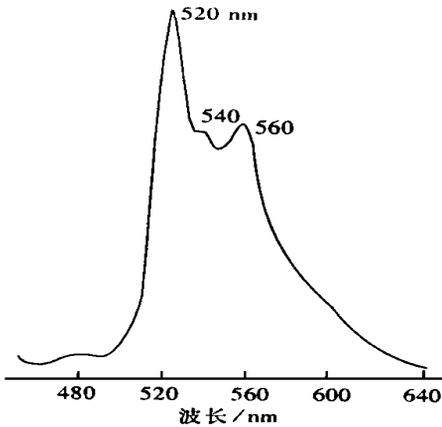


图2 0.08 μg/mL Se 的发射光谱

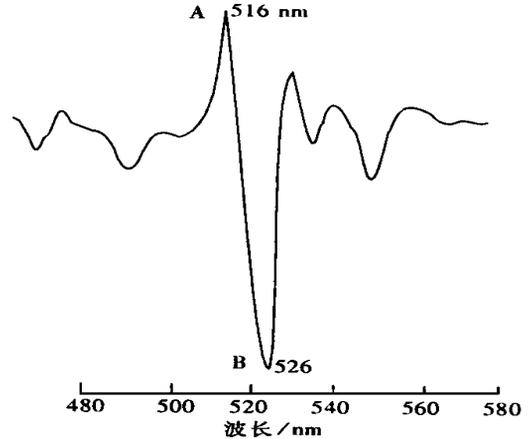


图3 0.08 μg/mL Se 发射光谱的二阶导数图

2.3 工作曲线的绘制

分别取0.5 μg/mL 标准硒溶液0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL,按1.2实验方法测定,以A、B 两处的导数值差 d ($d = d_A - d_B$) 与硒含量作图,得到工作曲线,见图4。

2.4 样品测试及回收率

用本方法对几种富硒蔬菜和茶叶中的有机硒进行测定,结果见表1。

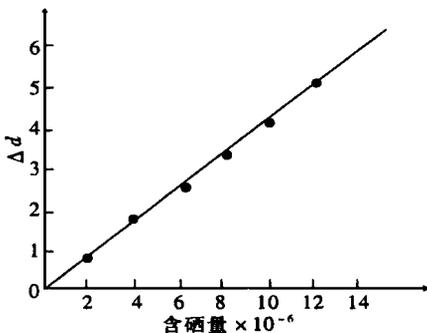


图4 标准工作曲线

以普通茶叶为基体,添加不同量的无机硒标准溶液,按本文所述方法测定无机硒含量,计算回收率,结果见表2。

表2 标准添加法测定无机硒回收率结果

样品含无机硒/ μg	添加无机硒/ μg	测定无机硒/μg				回收率/%				相对 标准偏差
		测试1	测试2	测试3	测试4	测试1	测试2	测试3	测试4	
0.15	0.15	0.292	0.293	0.296	0.290	94.7	95.3	97.0	93.3	0.016
0.15	0.30	0.430	0.440	0.435	0.444	93.2	96.7	95.0	98.0	0.022
0.15	0.45	0.581	0.572	0.593	0.583	95.8	93.9	98.4	97.3	0.020

表1 蔬菜和茶叶中的硒含量

样 品	总 硒*		有机硒
	总 硒*	无机硒*	
青 椒	0.0046	0.0034	0.0012
富硒青椒	0.169	0.081	0.088
茄 子	0.0063	0.0045	0.0018
富硒茄子	0.156	0.078	0.078
茶 叶	0.045	0.030	0.015
富硒茶叶	1.67	0.78	0.89

注* 测定值

偏低和波动,这主要是偶然误差,产生于有机硒与无机硒的分离提取阶段,残渣对有机硒的包埋或萃取不完全都会造成结果偏低,操作过程中的失误也会引起数据波动,这两点不足应能得到改善。

3 结 论

笔者所提出的将样品中有机硒和无机硒先分离,再测定总硒和无机硒的含量,进而计算出有机硒含量的方法,原理上是可行的,实际操作比较简单。对微量硒的测定采用荧光光谱二阶导数法,提高了方法的灵敏度。虽然回收率结果表明方法的精密度和精确度不太好,但只要在压榨过程中加强洗涤,回收率可以有所提高,操作熟练后可消除偶然误差,波动性也会减小,在目前尚缺乏简便而成熟的有机硒测定方法的情况下,可供参考。

另外,文献中尚未查到有机硒准确的化合物类别,我们所测定的有机硒是依据实际样品(植物、蔬菜)中主要含有蛋白质、纤维、碳水化合物,从这类物质的分子结构推断出有机硒是硒与这些成份的配合物,故而可以用有机溶剂进行萃取分离。对有机硒的化合物类别,笔者正在研究,将另文报道。

参 考 文 献

- 1 黄伟坤. 食品检验与分析. 北京: 轻工业出版社, 1989, 240 ~ 243
- 2 秦方. 荧光二阶导数法测定微量硒. 江苏食品与发酵, 1997, 4: 14 ~ 17
- 3 王光亚. 食物成份表. 北京: 人民卫生出版社, 1992, 36 ~ 41
- 4 Nyberg S. Multiple use of plants: studies on Se incorporation in some agricultural species for the production of organic-Se compounds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 1991, 41: 69 ~ 88

Determination of Organic Selenium in Plant

Qin Fang

(Centre Research and Design Institute, Wuxi University of Light Industry, Wuxi, 214036)

Abstract This paper reports the research on the determinations of organic-Se and inorganic-Se. Inorganic-Se was extracted from vegetable plants by cyclic-hexane and it could be completely separated with organic-Se. Both inorganic and organic Se were then quantitatively determined with Fluorescence Second-derivative Spectrometry. The recovery of the method was 93.2% ~ 98.4%. The variation coefficient of the measurement was 1.86.

Key words selenium; fluorescence; second-derivative

(责任编辑: 陈 娇)