

大豆中硒含量提取方法研究

杨玉玲¹, 刘元英²

(1. 东北农业大学 理学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 东北农业大学 资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:为快速测定大豆中硒含量,采用原子荧光光谱法研究了消解温度、消解液组成及样品质量对硒含量提取的影响。结果表明:在消解温度 60℃, HNO₃-HClO₄ 比例 1:4 样品质量 0.500 0 g 条件下进行消解,具有较好的测定效果,该方法的加标回收率为 97.8%~101.0%。

关键词:大豆; 硒含量; 提取方法

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2014)03-0100-04

硒是人体必需的微量元素^[1],在体内以硒酶和硒蛋白等形式存在,具有抗癌、抗氧化和提高免疫力等作用。来源于农产品的硒摄入量偏低,会给人体健康造成严重后果。许多研究表明硒与几十种疾病相关^[2],硒在一定浓度范围内具有抗氧化、抗癌和提高机体免疫等功能,因此,测定食品中硒含量和硒形态对健康营养膳食的制定及指导人体硒的摄入量具有科学意义。硒的测量方法已有多种,断续流动-氢化物发生原子荧光技术测定硒具有灵敏度高、干扰少和线性范围宽等优点^[3-4]。样品经适当的分离处理后用此法检测,可获得硒形态的重要信息。

该试验采用断续流动-氢化物发生原子荧光法测定富硒大豆中硒的含量,通过对消解温度、消解液选择、消解液比例及样品质量进行研究,优化提取条件,探索快速测定大豆中总硒含量的方法。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆品种为绥农 28。试验于 2012 年在东北农业大学实验实习基地进行,于 5 月 3 日播种,9 月 24 日收获。供试硒肥为亚硒酸钠,配制浓度分别为 10、20、30 g·hm⁻²(以纯硒计),于大豆

结荚-鼓粒期进行叶面喷施,其它肥料按常规统一施用。成熟期单独收获各处理大豆籽粒,编号 C₁、C₂、C₃,大豆籽粒粉碎过 80 目筛,备用。

供试仪器设备及试剂为 AFS-930 型原子荧光光度计(北京吉天仪器有限公司)、硒空心阴极灯、冰箱、Beckman 超速离心机、50 mL 锥形瓶、小漏斗、烧杯及容量瓶等。氙气、硝酸、盐酸和高氯酸均为优级纯;混合酸(硝酸与高氯酸体积比为 4:1)、硼氰化钾、氢氧化钠、硒标准液(1 000 μg·mL⁻¹介质为 10% 盐酸)、去离子水。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制 将硒标准溶液(1 000 mg·L⁻¹)逐级稀释成浓度为 1 mg·L⁻¹的标准贮备液,再分别移取一定体积的硒标准贮备液于 100 mL 容量瓶中,各加入 1.0 mL 100 g·L⁻¹的铁氰化钾溶液,用 10% 盐酸定容,摇匀,配制成硒标准应用液。

1.2.2 硒含量的测定 (1)总硒的提取。将大豆烘干(65~70℃)48 h,粉碎后过 60 目筛,称取富硒大豆样品粉末 0.500 0 g,置于 50 mL 消化管中,加入 10 mL 混合酸消化至溶液无色澄清,冒出大量白烟时取下,加入 2 mL 浓盐酸,煮沸 5 min,冷却后用 5% 盐酸定容至 10 mL^[3]。采用正交试验确定大豆硒含量测定的最佳条件,选择消解液比例、消解温度和样品质量 3 因素 4 水平进行试验(见表 1)。

(2)总硒含量的测定。开机设定仪器最佳运行条件,预热 30 min 后,将硒标准应用液(50 ng·mL⁻¹)倒入自动进样器,设定不同浓度梯度标液,即 0, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0 和

收稿日期:2013-12-11

基金项目:黑龙江省优势农产品生产与加工研发平台产业化资助项目(GJPT006-2)

第一作者简介:杨玉玲(1979-),女,黑龙江哈尔滨市人,在读博士,讲师,从事植物营养研究。E-mail: yangyuling215@126.com。

通讯作者:刘元英(1954-),女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,教授,植物营养。E-mail: yuanyingl@163.com。

50.0 ng·mL⁻¹,仪器按设定硒标准液的梯度自动稀释进样,测定并绘制标准曲线,同时计算出回归方程和相关系数。分别测定各样液的荧光值,用外标法定量,计算样品中硒含量。

表 1 正交试验因素及水平

Table 1 Factors and level of orthogonal test

因素 Factor	消解温度 A/℃ Digestion temperature	样品质量 B/g Sample quality	HNO ₃ -HClO ₄ 比例 C Ratio
1	45	0.1	1:4
2	50	0.2	1:2
3	60	0.5	1:1
4	65	1.0	4:1

2 结果与分析

2.1 硒含量标准曲线

断续流动-氢化物发生原子荧光法测定不同浓度的硒标准溶液的光度值,以标准溶液浓度为横坐标,光度值为纵坐标,绘制标准曲线(见图 1)。采用断续流动-氢化物发生原子荧光法测定硒含量,硒浓度在 0~50 μg·L⁻¹时具有良好的线性关系,其线性方程 $Y=10.723X-8.7519$, $R^2=0.9992$ 。

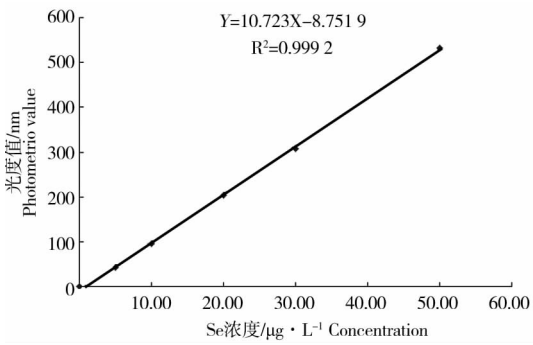


图 1 硒含量测定标准曲线

Fig. 1 The standard curve of selenium content

2.2 消解温度对大豆总硒含量的影响

由图 2 可以看出,随着消解温度的升高,大豆总硒含量呈先上升后下降的趋势,消解温度为 60℃时,大豆总硒含量最高。温度超过 60℃之后,大豆总硒含量迅速降低,这可能是因为温度太高,硒的稳定性降低,导致硒损失量过大。

2.3 消解液对大豆总硒含量的影响

分别以 HNO₃-HClO₄, HNO₃-H₂O₂, H₂SO₄-

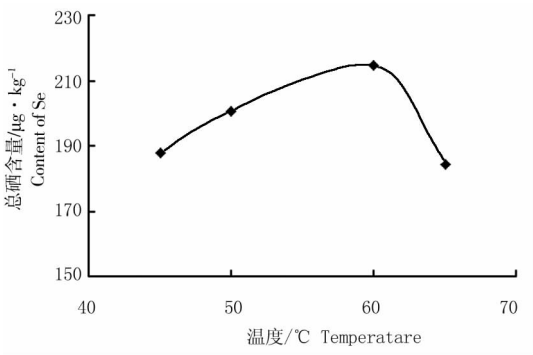


图 2 消解温度对大豆总硒含量的影响

Fig. 2 Effect of digestion temperature on total Se content in soybean

HClO₄为消解液,测定不同混酸消解液对大豆总硒含量的影响。由图 3 可知,相同体积分数的不同酸介质对大豆总硒含量的影响差异显著,其中以 HNO₃-HClO₄(1:4)为消解液,大豆总硒含量最高,且显著高于其它处理。以 H₂SO₄-HClO₄(1:4)为消解液,大豆总硒含量显著低于其它处理。

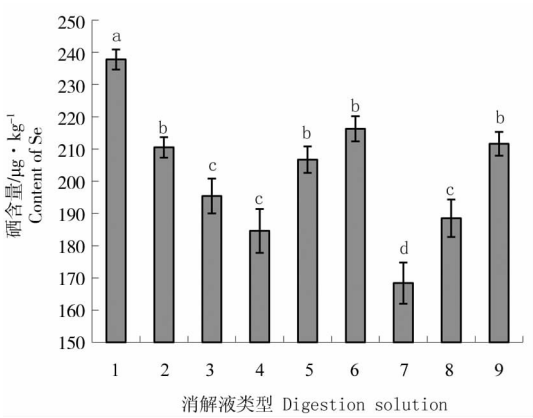


图 3 不同消解液对大豆总硒含量的影响

Fig. 3 Effect of digestion solution total Se content in soybean

1. HNO₃-HClO₄ (1:4); 2. HNO₃-HClO₄ (1:1); 3. HNO₃-HClO₄ (4:1); 4. HNO₃-H₂O₂ (1:4); 5. HNO₃-H₂O₂ (1:1); 6. HNO₃-H₂O₂ (4:1); 7. H₂SO₄-HClO₄ (1:4); 8. H₂SO₄-HClO₄ (1:1); 9. H₂SO₄-HClO₄ (4:1)

2.4 样品质量对大豆总硒含量的影响

由图 4 可知,样品质量对大豆总硒含量的测定影响不大,但是仍具有一定差异。取样量过多或者过少都会对测定结果产生影响,相同实验条件下取样量为 0.500 0 g 时,大豆总硒含量测定

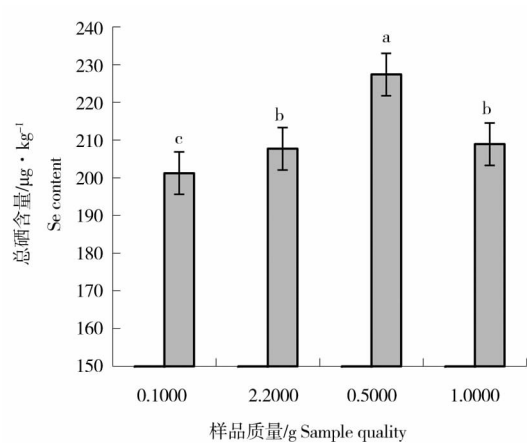


图4 样品质量对大豆总硒含量的影响

Fig. 4 Effect of sample quality on total
Se content in soybean

表2 大豆中总硒消解因素 $L_{16}(4^3)$ 正交试验结果分析Table 2 Total selenium in digestion of soybean $L_{16}(4^3)$ orthogonal test results

因素 Factors	消解温度 A/ $^{\circ}\text{C}$ Digestion temperature	样品质量 B/g Sample quality	$\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 比例 C Ratio	总硒含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ Se content
1	1	1	1	187.9
2	1	2	2	167.4
3	1	3	3	182.4
4	1	4	4	179.3
5	2	1	2	189.3
6	2	2	1	200.4
7	2	3	4	174.5
8	2	4	3	193.4
9	3	1	3	176.6
10	3	2	4	175.3
11	3	3	1	214.5
12	3	4	2	193.4
13	4	1	4	173.9
14	4	2	3	187.3
15	4	3	2	199.2
16	4	4	1	184.5
K_1	179.250	181.925	196.825	
K_2	189.400	182.600	187.325	
K_3	189.950	192.650	184.925	
K_4	186.225	187.650	175.750	
极差 Range	10.700	10.725	21.075	

的效果最好,且显著高于其它取样量。这可能是因为取样量太小时,消解过程中硒损失比例较大,而取样量太大时容易导致消解不完全,或者消解时间过长,增加了硒的损失。

2.5 大豆总硒提取条件选择

由表2可以看出,以大豆中总硒的质量为评价标准,经直观分析可知,各因素对大豆中总硒消解影响是消解液比例>样品质量>消解温度,最佳条件为 A3B3C1,即 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 消解液比例为 1:4;样品质量为 0.5 g;消解温度为 60°C 。

取3份大豆样品各 0.5 g,按最佳提取工艺消解,测定总硒含量平均值为 $213.4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $\text{RSD}=2.3\%$,说明该处理工艺比较稳定。

2.6 加标回收率的测定

向样品中分别添加不同量的硒标准溶液,消化处理后,分别测定大豆样品中总硒含量,测定结

果见表 1。结果表明,在消解温度 60℃,HNO₃-HClO₄ 比例为 1:4,样品质量 0.500 0 g 条件下,样品消解后的加标回收率为 97.8%~101.0%。

表 3 加标回收率试验

Table 3 Recovery test of standard addition

样品中硒含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Selenium content	加标量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Addition content	测定量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Measured content	回收率/% Recovery rate
237.8	50.00	286.4	99.5
237.8	80.00	321.1	101.0
237.8	100.00	330.4	97.8

3 结论

结果表明在消解温度 60℃,消解液为 HNO₃-HClO₄,消解液比例为 1:4,样品质量 0.500 0 g 条件下进行消解,具有较好的测定效果,该方法的加标回收率为 97.8%~101.0%。

参考文献:

[1] Ellis D R, Salt D E. Plant, selenium and human health. *Curr. Opin Plant Bio.*, 2003, 6: 273-279.

[2] Dumont E, Vanhaecke F, Cornelis R. Selenium speciation from food source to metabolites: A critical review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, 386: 1304-1323.

[3] 崔海容, 陈建华, 谷家越, 等. 顺序注射 HG-AFS 法测定富硒农产品中无机硒和有机硒[J]. *分析科学学报*, 2005, 21(5): 545-548.

[4] 李连平, 范威, 黄志勇, 等. 蔬菜中硒总量及形态的氢化物发生-原子荧光光谱测定方法[J]. *光谱学与光谱分析*, 2008, 28(12): 2975-2978.

Study on Extraction Methods for Selenium in Soybean

YANG Yu-ling¹, LIU Yuan-ying²

(1. College of Science, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030;
2. College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: In order to determine selenium content in soybean rapidly, the effect of digestion temperature digestion solution composition, sample quality on extraction of selenium were studied by atomic fluorescence spectrometric method. The results showed that digestion temperature 60℃, digestion solution (HNO₃-HClO₄ = 1:4), 0.500 0 g sample had a good effect, the recovery range was 97.8%~101.0%.

Key words: soybean; selenium content; extraction method

