

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2024.01.001

## 湿法消解-荧光光度法测定苦荞麦中的硒含量

王安虎<sup>1</sup>, 刘晓燕<sup>2</sup>, 李仁巧<sup>2</sup>, 孙 权<sup>2</sup>

(1. 四川省厅州共建攀西特色作物研究与利用重点实验室, 四川 西昌 615013;  
2. 西昌学院农业科学学院, 四川 西昌 615013)

**摘要:** [目的] 采用湿法消解-荧光光度法测定87份不同来源苦荞麦种子的硒含量, 以初步确定硒含量较高的苦荞麦资源, 进一步选育富硒苦荞麦品种。[方法] 首先以硒的加标回收率和消解时间为评价指标, 选择苦荞麦种子样品消解温度; 然后采用湿法消解-荧光光度法测定87份苦荞麦种子资源的硒含量, 初选富硒苦荞麦品种。[结果] 4个消解温度(200、220、240和260 °C)下, 硒的加标回收率为87.2%~102.4%; 消解温度越高, 消解时间越短, 但温度过高, 样品容易爆沸和局部蒸干, 使回收率降低, 综合考虑, 消解温度选择240 °C。10份苦荞麦种子样品硒含量的标准偏差为0.45。87份苦荞麦种子的硒质量分数变化幅度为0.010 9~0.179 0 mg/kg, 平均值为0.056 0 mg/kg。[结论] 优选出质量分数较高(>0.050 0 mg/kg)的苦荞麦品种42种, 为富硒苦荞麦产品的研究提供了理论依据。

**关键词:** 苦荞麦种子; 消解温度; 硒含量; 荧光光度法

中图分类号: S517 文献标志码: A 文章编号: 1673-1891(2024)01-0001-06

## Determination of Selenium in Tartary Buckwheat by Wet Digestion and Fluorescence Spectrophotometry

WANG Anhu<sup>1</sup>, LIU Xiaoyan<sup>2</sup>, LI Renqiao<sup>2</sup>, SUN Quan<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Special Crops of Panxi, Xichang 615013, Sichuan, China; 2. School of Agricultural Science, Xichang University, Xichang 615013, Sichuan, China)

**Abstract:** [Objective] The selenium content of 87 tartary buckwheat seeds from different sources was determined by wet digestion and fluorescence spectrophotometry in order to identify the resources of tartary buckwheat with high selenium content and further select and cultivate the seed rich in selenium. [Method] The selenium content of 87 tartary buckwheat seed resources was determined by wet digestion-fluorescence spectrophotometry with the recovery rate and digestion time as the evaluation indexes. [Result] At four digestion temperatures (200, 220, 240 and 260 °C), the recovery of selenium was 87.2%–102.4%. The higher the digestion temperature is, the shorter the digestion time; whereas the higher the temperature is, the easier the sample is to explode and evaporate locally, which reduces the recovery rate. Considering all factors, the digestion temperature is selected at 240 °C. The standard deviation of selenium content in 10 tartary buckwheat seed samples was 0.45 by wet digestion and fluorescence spectrophotometry. The selenium content of 87 tartary buckwheat seeds varied from 0.010 9 mg/kg to 0.179 0 mg/kg, with an average of 0.056 0 mg/kg. [Conclusion] 42 varieties of tartary buckwheat with higher content (> 0.050 0 mg/kg) were selected, which provided a theoretical basis for

收稿日期: 2023-07-24

基金项目: 四川省科技厅项目(2023YFN0019); 四川省农业农村厅项目(2019scy02); 厅州共建攀西特色作物研究与利用四川省重点实验室项目(sz22zz06)。

作者简介: 王安虎(1972—), 四川省石棉人, 教授, 学士, 研究方向: 种子资源的栽培与选育, e-mail: 13795660264@163.com。

the study of selenium-rich tartary buckwheat products.

**Keywords:** tartary buckwheat seed; digestion temperature; selenium content; fluorescence spectrophotometry

## 0 引言

苦荞麦(*Fagopyrum tataricum*(L.) Gaertn.)是蓼科荞麦属一年生草本植物,是一种药食同源的作物。苦荞麦含有蛋白质、淀粉、微量元素、维生素、膳食纤维等丰富的营养成分,具有降血压、降血脂、降血糖等功效<sup>[1-2]</sup>。四川省凉山彝族自治州是全国苦荞麦主要种植及其制品加工的地区,凉山州彝族人民将其作为主要的粮食作物,其加工制品,如苦荞茶、苦荞面条、苦荞沙琪玛等也深受消费者喜爱。有研究显示,苦荞麦种子中硒含量较高,可以作为硒补充的粮食作物。硒是人体必需的微量元素之一,有增强机体免疫力、抗氧化、抗癌、抗衰老等功能<sup>[3-4]</sup>,缺硒会导致人体克山病、大骨节病和心血管等疾病<sup>[5]</sup>。目前硒含量的检测方法很多,包括荧光法、原子荧光光谱法、催化极谱法、火焰原子吸收法、电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)、原子荧光分光光度法、氢化物原子荧光法、分子荧光分光光度法、紫外分光光度法等<sup>[6-16]</sup>。这些方法仪器设备大多数比较昂贵。GB 5009.93—2017《食品安全国家标准 食品中硒的测定》<sup>[17]</sup>中介绍了硒含量测定的荧光分光光度法,该方法具有灵敏、准确、重现性好等特点,在海藻产品、地下水、母乳等食品中已有应用<sup>[18]</sup>,但未见在苦荞麦中硒含量测定的报道。

硒的补充以食物摄入为主,市场上出现了越来越多元化的富硒食品,如富硒鸡蛋、富硒大米、富硒黑山药、富硒黑芝麻和富硒茶叶酒等<sup>[4]</sup>。本文测定不同品种苦荞麦中的硒含量,为富硒苦荞麦产品的研究提供基础。

## 1 材料与方

### 1.1 材料

87份苦荞麦种子资源:由四川省攀西特色作物

重点实验室的苦荞麦种子库提供。87份苦荞麦种子收集于不同地区,分别带回凉山州西昌市种植,样品名称如表1所示。

### 1.2 主要试剂

硒标准溶液(1 000  $\mu\text{g/mL}$ ),购自国家有色金属及电子材料分析检测中心;2,3-二氨基萘(DAN,  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2$ , 98%),购自湖北鑫鸣泰化学有限公司;盐酸(优级纯)、环己烷(色谱纯),购自成都科隆化学有限公司;乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na,  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$ )、盐酸羟胺( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ )、甲酚红( $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{S}$ )、氨水( $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ),均为分析纯,均购自成都科隆化学有限公司。

### 1.3 主要仪器设备

G9800A 荧光分光光度仪(美国安捷伦有限公司);SH220F 石墨消解仪(济南海能仪器股份有限公司);ME104/02 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);UPH-IV-10T 型优普系列超纯水器(西安优普仪器设备有限公司);刻度吸管、消化管、离心管、带盖三角瓶等所有玻璃器皿均需硝酸溶液(体积比为1:5)浸泡过夜。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 样品预处理

将苦荞麦种子粉碎,过60目筛,得到苦荞麦种子粉末样品。

#### 1.4.2 试样消化

精确称取1.000 0 g苦荞种子粉末于消化管中,加入10 mL硝酸-高氯酸混合液(体积比为9:1),置于通风橱中冷消化过夜。次日用石墨消解仪消解样品,并及时补加硝酸,直至溶液变为清亮无色并伴有白烟时继续加热至剩余体积约2 mL,冷却,加入5 mL盐酸溶液(6 mol/L),继续加热直至溶液变得清亮无色并伴有白烟,剩余体积约2 mL时,记录总消解时间,冷却,即得试样消解液。

表 1 所测苦荞麦样品名称

序号	样品名称	序号	样品名称	序号	样品名称	序号	样品名称	序号	样品名称
1	西荞 1 号	19	国试 8	37	品展 9	55	20210150	73	XZ20120164
2	西荞 2 号	20	国试 9	38	品展 12	56	20210151	74	XZ20120217
3	西荞 3 号	21	凉 1A	39	品展 14	57	20210152	75	XZ20120229
4	西荞 4 号	22	凉 2A	40	品展 15	58	20210153	76	XZ20120231
5	西荞 5 号	23	凉 4A	41	品展 18	59	20210154	77	XZ20120240
6	西荞 6 号	24	凉 6A	42	品展 19	60	20210160	78	XZ20120244
7	西荞 7 号	25	凉 8	43	品展 20	61	20210161	79	KQ2-9
8	川荞 10 号	26	凉 9	44	黔苦 2 号	62	20210171	80	KQ-3B
9	川荞 1 号	27	凉 10	45	黔苦 3 号	63	20210172	81	KQ-4C
10	川荞 2 号	28	凉 11	46	黔苦 5 号	64	20210174	82	KQ-5A
11	川荞 3 号	29	凉 19	47	黔苦 7 号	65	13-3	83	KQ-6B
12	国试 10	30	凉 21	48	西农 9909	66	14-8	84	KQ08-13
13	国试 11	31	凉 22	49	西农 9940	67	20-7	85	KQ08-10
14	国试 13	32	凉 25	50	云苦 1 号	68	21-1	86	KQ-11
15	国试 3	33	凉 26	51	云苦 2 号	69	14-1	87	KQ12-3
16	国试 4	34	凉 28	52	云苦 3 号	70	XZ20120101		
17	国试 6	35	蒙 123-6	53	20210147	71	XZ20120106		
18	国试 7	36	品展 8	54	20210149	72	XZ20120163		

#### 1.4.3 消解液的衍生化

将消解液分别移入 250 mL 带盖锥形瓶中, 然后分别加入盐酸溶液(体积比为 1:9) 3 mL, 再分别加入 EDTA 混合液 20 mL, 使用氨水溶液(体积比为 1:1)或盐酸溶液(体积比为 1:9)调至淡红橙色, pH 值 1.5 ~ 2.0。然后在暗室下操作以下步骤: 加入 1 g/L DAN 试剂 3 mL, 摇匀, 置于沸水中加热 5 min; 全部取出放室温下冷却, 移入分液漏斗, 加环己烷 4 mL, 振摇后静置分层, 将水层从分液漏斗下口全部放出, 把环己烷层从分液漏斗上口缓慢倒入带盖试管中(注意: 不要将水滴混入环己烷中), 得到硒含量待测溶液。

#### 1.4.4 硒含量测定

采用荧光分光光度计测定待测溶液中硒的含量, 激发波长 376 nm, 发射波长 520 nm。

#### 1.4.5 硒标准曲线绘制

参照 GB 5009.93—2017《食品安全国家标准 食品中硒的测定》<sup>[17]</sup> 配制 50.0 μg/L 硒标准使用液, 然后准确吸取 50.0 μg/L 硒标准使用液 0、0.4、2.0、4.0、8.0 mL 于带盖三角瓶中, 然后按照 1.4.3 的方法衍生化, 按照 1.4.4 的条件测定溶液的荧光强度。然后以硒质量浓度为横坐标, 荧光强度为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到线性回归方程  $y=17.9x+8.2678$  ( $r^2=0.9993$ ), 线性关系良好。

#### 1.4.6 消解温度优化

硒属于易挥发元素, 消解温度过高会导致硒挥发损失, 消解温度过低又会导致样品消解时间太长甚至消解不够完全<sup>[19]</sup>, 因此首先通过消解温度的单因素试验确定合适的消解温度, 然后测定不同苦荞麦种子资源的硒含量。设置 200、220、240 和 260 °C 共 4 个温度水平的单因素试验。具体操作步骤为:

准确称取 2 份 1.0 g 苦荞麦样品,其中一份以 0.05 mg/kg 的添加量添加硒标准使用液,按照 1.4.2 的方法消解,准确记录总消解时间,再按照 1.4.3 的方法衍生化处理,1.4.4 的方法测定硒含量,比较不同消解温度下硒的加标回收率。同时设置空白对照试验,每个试验 3 个重复。

#### 1.4.7 方法稳定性测试

参照文献[20]的方法,称取 10 份相同苦荞麦品种样品,按照 1.4.2、1.4.3 和 1.4.4 方法处理,测定其硒含量,计算重复实验的相对偏差,评价该湿法消解-荧光光度法测定苦荞麦种子中硒含量的精密度。

#### 1.4.8 苦荞麦种子资源硒含量的测定

采用以上湿法消解-荧光光度法,测定 1.1 中的 87 份苦荞麦种子的硒含量。每个处理苦荞麦种子样品不少于 10 g,设置 2 个重复样。

#### 1.5 数据处理方法

用 Excel2010 处理数据和作图,采用 SPSS22.0 软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 消解温度的确定

不同消解温度下,样品硒添加回收结果和消解时间如表 2 所示。从表 2 可以看出,200、220、240 和 260 °C 这 4 个消解温度下,220 °C 时苦荞麦样品的加标回收率显著高于其他 3 个温度的加标回收率,廖小翠等<sup>[21]</sup>采用湿法消解-氢化物发生原子荧光光谱法测定动物性农产品中硒含量的消解温度也是 220 °C。加标回收率随着温度的增加出现了先增加后减少的趋势,可能是由于消解温度过高,反应激烈,样品容易出现爆沸和局部蒸干导致的回收率降低。消化时间随着消解温度的增加明显缩短,由于需要检测的样品较多,时间是选择消解温度的另一个重要因素。因此选择 240 °C 作为苦荞样品的消解温度。

表 2 不同消解温度下样品中硒质量分数测定结果

温度/°C	苦荞样品质量分数/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	加标苦荞样品质量分数/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	加标回收率/%	消解时间/h
200	47.9±2.1	83.8±3.1	84.9bB	10.3
220	46.7±2.6	99.2±2.4	102.4aA	9.4
240	48.5±3.1	72.3±2.2	89.1bB	5.0
260	48.6±1.7	91.0±3.7	87.2bB	4.6

注:同列数字后不同小写字母表示数据间差异有统计学意义( $P<0.05$ ),不同大写字母表示数据间差异有高度统计学意义( $P<0.01$ )。

### 2.2 方法精密度测定结果

测定 10 份苦荞麦样品硒质量分数平均值为 0.049 5 mg/kg,标准偏差为 4.98%,说明该方法测定苦荞种子中的硒含量精密度较好。

### 2.3 不同苦荞种子资源硒含量检测结果分析

87 份苦荞麦种子样品,硒质量分数最高为 0.179 0 mg/kg,最低为 0.010 9 mg/kg,平均值为 0.056 0 mg/kg。根据淄博市富硒农产品协会制定的团体标准 T/FXXH 014—2020《富硒杂粮》中规定:小杂粮的硒质量分数为 0.05 ~ 0.15 mg/kg<sup>[22]</sup>,本次测定的苦荞种子硒质量分数在此范围的有 41 种,包括西荞 1 号、西荞 5 号、西荞 6 号、国试 3、国试 4、国试 6、国试 8、凉 1A、凉 2A、凉 4A、凉 6A、凉 8、凉 9、凉 11、凉 19、凉 25、凉 26、品展 9、品展 15、西农 9940、20210151、20210171、20210172、20210174、14-8、20-7、21-1、XZ20120101、XZ20120106、XZ20120163、XZ20120164、XZ20120217、XZ20120231、XZ20120240、XZ20120244、KQ2-9、KQ-3B、KQ-4C、KQ-5A、KQ08-10、KQ-11,见图 1 中绿色标识。GB 14880—2012《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》<sup>[23]</sup>中规定了硒在杂粮粉及其制品中的使用量为 140 ~ 280  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,本次测定的苦荞种子硒含量在此范围的有 2 种,即 14-1 (0.179 0 mg/kg) 和 20-7 (0.149 5 mg/kg),见图 1 中红色标识;接近此范围的还有 3 种:XZ20120164 (0.134 2 mg/kg)、14-8 (0.130 3 mg/kg) 和 20-1 (0.129 7 mg/kg),见图 1 中黄色标识。

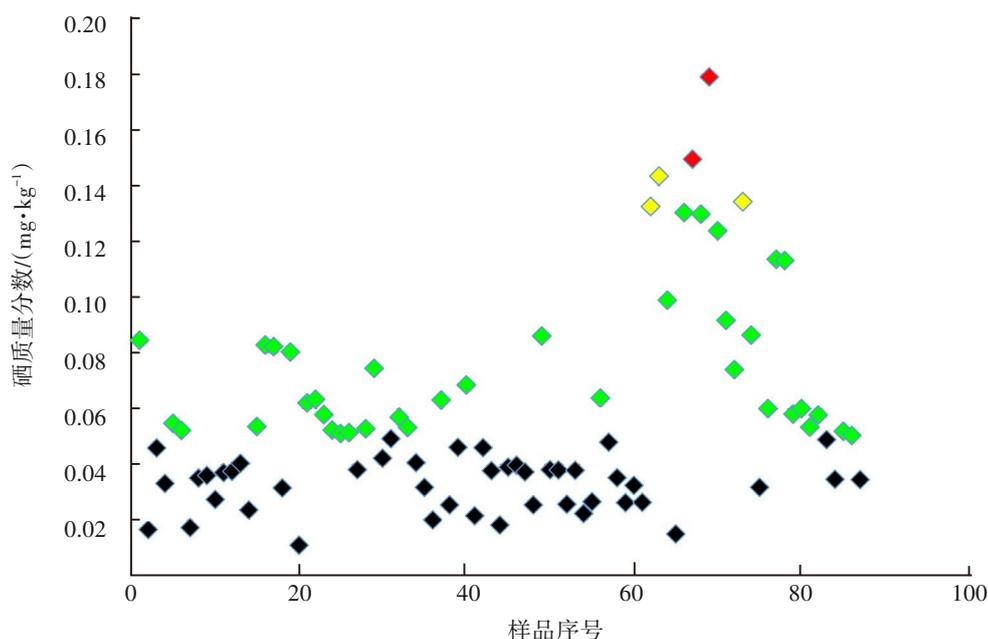


图 1 不同品种苦荞麦种子的硒质量分数

### 3 结论与讨论

苦荞麦是药食同源的小杂粮,研究其营养与健康价值一直是苦荞麦研究开发的重点。硒作为人体必需的微量元素之一,有增强机体免疫力、抗氧化、抗癌、抗衰老等功能,富硒苦荞麦品种的选育是开发富硒苦荞麦保健功能产品的基础。目前还没有富硒苦荞麦的标准,能查到的相近标准有淄博市富硒农产品协会制定的团体标准 T/FXXH 014—2020《富硒杂粮》<sup>[11]</sup>中规定了小杂粮的硒含量。本

研究中的 41 份苦荞麦种子硒含量符合这个标准,其中 14-1 和 20-7 的硒含量达到了 GB 14880—2012《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》<sup>[23]</sup>中规定的硒在杂粮粉及其制品中的添加量。由于不同苦荞麦种子是在凉山地区统一种植后采集,推测硒含量较高的原因应该是品种的原因,今后将测定种子的基因差异来进一步确定。本论文的研究结果为富硒苦荞麦的研究和硒含量在不同苦荞麦资源间的遗传变异规律<sup>[24]</sup>提供了理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 姚攀锋,吕兵兵,李琪,等.苦荞转录因子基因 FtMYC 的克隆及其表达与花青素积累的相关性分析[J].四川农业大学学报,2019,37(1):8-14+33.
- [2] 高帆,张宗文,吴斌.中国苦荞 SSR 分子标记体系构建及其在遗传多样性分析中的应用[J].中国农业科学,2012,45(6):1042-1053
- [3] 黄高凌,王秋铭,邱恩.荧光法测定食用菌中痕量硒的研究[J].集美大学学报(自然科学版),2006(4):310-314.
- [4] 廖小翠,张伟,王斐英,等.湿法消解-氢化物发生原子荧光光谱法测定动物性农产品中硒含量[J].食品安全质量检测学报,2021,12(8):3123-3130.
- [5] 李聚才,施安,张俊丽,等.不同梯度有机硒饲料对羔羊肉及内脏组织硒沉积的影响[J].肉类研究,2019,33(6):7-12.
- [6] 张颖,黄文耀,唐琳,等.固相萃取-原子荧光光谱法测定大米中无机硒的含量[J].理化检验(化学分册),2021,57(6):537-540.
- [7] 陈双,陈峰.微波消解-原子荧光光谱法测定茶叶中硒含量[J].食品工业,2020,41(7):266-269.

- [8] 欧利华,荣国琼,张秀清,等.微波消解氢化物原子荧光光谱法测定食品中的硒[J].食品安全质量检测学报,2017,8(10):3874-3877.
- [9] 刘少彬,王金梅,刘秀娟.微波消解-原子荧光光谱法测定玉米中的硒[J].农家顾问,2014(13):93-94.
- [10] 张万锋.火焰原子吸收法快速测定安康紫阳富硒茶中的微量硒[J].安徽农业科学,2008(15):6369+6398.
- [11] 杨李胜,刘志鹏,柯华南,等.电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定富硒飞鸡蛋微量元素含量及营养评价[J].广东微量元素科学,2016,23(2):10-14.
- [12] 刘晶晶.原子荧光分光光度法测定硒含量[J].化工管理,2016(14):147.
- [13] 袁建,蒋旭玲,石嘉悒,等.微波消解-原子荧光分光光度法测定稻米中硒含量[J].粮食与油脂,2012,25(12):27-30.
- [14] 廖彪.氢化物发生原子荧光法测定苦荞硒含量[J].吉林农业,2016(24):78.
- [15] 李丽彩,王留成,程相林,等.紫外分光光度法测定富硒麦芽中微量元素硒的含量[J].应用化工,2016,45(4):771-774.
- [16] 邓斌,蒋刚彪,陈六平,等.紫外分光光度法测定石榴皮中微量元素硒[J].微量元素与健康研究,2008(1):40-41.
- [17] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中硒的测定:GB 5009.93—2017[S].北京:中国标准出版社,2017
- [18] 罗敏,陈德经,代惠萍,等.硒的检测方法研究进展[J].食品研究与开发,2017,38(18):202-206.
- [19] 武汉大学.分析化学上册[M].6版.北京:高等教育出版社,2016.
- [20] 张利,蒋祥飞.GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》中铜的测定方法适应性验证[J].酿酒,2020,47(5):104-107.
- [21] 廖小翠,张伟,王裴英,等.湿法消解-氢化物发生原子荧光光谱法测定动物性农产品中硒含量[J].食品安全质量检测学报,2021,12(8):3123-3130
- [22] 淄博市富硒农产品协会.富硒杂粮:T/FXXH 014—2020[S/OL].[2023-03-18].<https://www.doc88.com/p-95959594001830.html?r=1>.
- [23] 中华人民共和国卫生部.食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准:GB 14880—2012[S/OL].[2023-06-02].<http://www.nhc.gov.cn/cmsresources/mohwsjdj/cmsrdocument/doc14526.pdf>.
- [24] 屈洋,周瑜,王钊,等.苦荞产区种质资源遗传多样性和遗传结构分析[J].中国农业科学,2016,49(11):2049-2062.