

# 富硒大米中硒形态分析

方建军 祝华明 方芳 龚鸿萍 张旭 郑睿行  
(衢州市质量技术监督检测中心 浙江 衢州 324002)

**摘要:**采用原子荧光光度法分析了天然富硒大米中硒的主要赋存形态、分布及含量。本实验中,硒的检测线性范围为 4  $\mu\text{g/L}$ ~20  $\mu\text{g/L}$ ,相关系数是  $r=0.999\ 3$ ,总硒测定的相对标准偏差(RSD)为 0.966%( $n=6$ ),总硒的加标回收率为 103.12%。实验表明富硒大米中的总硒含量为 206.708  $\mu\text{g/kg}$ ,达到 60  $\mu\text{g/kg}$ ~300  $\mu\text{g/kg}$  的富硒标准,而硒主要以对人体有益的有机硒形态存在,含量为 168.875  $\mu\text{g/kg}$ ,占总硒的 81.70%,而有机硒中最主要的赋存形态是蛋白硒,含量 90.170  $\mu\text{g/kg}$ ,占 53.40%,其次多糖硒占 9.28%,RNA 硒占 1.86%,其它形态的有机硒占 35.46%。

**关键词:**总硒;有机硒;蛋白硒;多糖硒

## Analysis of Selenium Forms in Selenium-enriched Rice

FANG Jian-jun, ZHU Hua-ming, FANG Fang, GONG Hong-ping, ZHANG Xu, ZHENG Rui-xing  
(Quzhou Center of Calibration and Testing for Quality and Technical Supervision, Quzhou 324002, Zhejiang, China)

作者简介:方建军(1983—),男(汉),助理工程师,硕士,研究方向:食品分析。

表3 可溶性总糖测定结果及相对标准偏差  
Table 3 Result of soluble sugar in citrus fruits and RSD

种类	滴定体积/mL		可溶性总糖含量/%		平均值/%		RSD/%	
蜜橘	12.41	12.50	12.91	9.15	9.08	8.79	9.01	2.12
橙子	12.60	11.91	12.30	9.02	9.54	9.24	9.27	2.82
柚子	27.80	26.91	28.20	4.07	4.20	4.01	4.09	2.38
金橘	26.71	27.21	27.11	4.26	4.18	4.20	4.21	1.59
柠檬	36.10	36.20	35.90	3.15	3.15	3.17	3.16	0.039

式中: $X$ 为可溶性总糖(以葡萄糖计算),%; $W$ 为样品称重,  $g$ ;  $G$ 为 10 mL 费林试剂相当的葡萄糖,  $mg$ ;  $V$ 为准确滴定时所用待测液的体积,  $mL$ ;  $A$ 为稀释倍数, 250 为定容体积,  $mL$ ; 1 000 为由毫克换算为克。

### 2.3 糖酸比

以测得的可溶性总糖含量与总有机酸含量求比值,即为这种水果的糖酸比。计算结果如表 4。

表4 糖酸比结果  
Table 4 Results of sugar/acid ratio

种类	蜜橘	橙子	柚子	金橘	柠檬
糖酸比	16.3	13.6	4.9	5.8	1.2

从表 1 可以看出,柠檬中的总有机酸最多,其它 4 种水果总有机酸在 0.55%~0.83% 之间,前者是后者的 4 倍~5 倍。由表 3 可以看出,蜜橘和橙子中可溶性总糖含量相当,高于其它 3 种水果。由表 4 可见蜜橘和橙子的糖酸比在 10 以上,这与我们感官评价(甜度较

强)相符,而柚子与金橘糖酸比在 5 左右,酸甜程度也是大众可以接受的,柠檬糖酸比较小,这也就是人们一般不直接食用它的缘故。

### 3 结论

应用电位滴定法准确测定柑橘类水果中总有机酸含量,操作简便、快速灵敏,可以排除直接滴定过程中终点颜色变化判断误差和不均匀摇动误差,也可以避免国标中电位滴定法 pH 计校正不准确带来的误差。RSD 在 0.37%~2.34%( $n=6$ ) 之间,平均回收率为 98.98%,也适合于其它种类水果的检测。

我国柑橘资源丰富,建议在注重提高品质的同时,也要综合利用这一资源。开展柑橘类水果中总有机酸和可溶性总糖含量的准确测定,为进一步开发和利用这一资源提供科学依据。

### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国农业部. GB12293-1990 水果、蔬菜制品可滴定酸的测定[S]. 北京:中国标准出版社,1999:431-433
- [2] 中华人民共和国农牧渔业部. GB/T 6194-1986 水果、蔬菜中可溶性糖的测定方法[S]. 北京:中国标准出版社,1986:543-546
- [3] 王娟,吴皓.直接电位滴定法测定半夏提取物中总游离有机酸的含量[J].中国中医药信息杂志,2004,11(5):416-417

**Abstract** : Studied the combined forms, contribution and corresponding content of selenium in Selenium-enriched rice by using atomic fluorescence spectrometer. In the study, the linear calibrating curve for selenium was within the range of 4  $\mu\text{g/L}$ –20  $\mu\text{g/L}$ , whose correlative coefficient was 0.999 3, the RSD for total selenium was 0.966 % (n=6), the recovery rate of standard spiking for selenium was 103.12 %. The total selenium content was 206.708  $\mu\text{g/kg}$ , which reached rich selenium standard of 60  $\mu\text{g/kg}$ –300  $\mu\text{g/kg}$ , and organic selenium was the main form storing in the rice, which content was 168.875  $\mu\text{g/kg}$ , accounted for 81.70 % of total selenium, the selenium in protein was the main organic selenium form, whose content was 90.170  $\mu\text{g/kg}$ , accounted for 53.40 %, secondly polysaccharide combined selenium accounted for 9.28 %, RNA combined selenium accounted for 1.86 %, and the other forms of organic selenium accounted for 35.46 %.

**Key words** : total selenium; organic selenium; protein selenium; polysaccharide selenium

硒是人体生命活动中必需的微量元素之一<sup>[1]</sup>,近年来受到人们的广泛关注。它具有使人体抗衰老、预防癌变、保护与修复营养细胞、解毒排毒、提高免疫力等多种生理功能,被称为主宰生命的元素之一<sup>[2-4]</sup>。硒对人体的重要性已十分明确,但权威资料表明硒的功能随其形态不同而异,食物中无机硒的存在对人体是有害的,无机形态的硒特别是六价硒毒性很大,对人体毫无营养可言。只有有机形态的硒,如硒蛋白、硒代氨基酸、硒多肽、硒多糖等,在机体内才能转变为生理活性物质,为人体所吸收利用<sup>[5]</sup>。

据调查,世界上有 40 多个国家和地区缺硒,我国也有 72 % 的缺硒或低硒地区,其中近 1/3 为严重缺硒地区,而缺硒导致克山病的重要因素<sup>[6]</sup>。植物具有不同程度地吸收、利用和转化土壤环境中硒的能力,是自然界硒生态循环中的关键环节。生长在高硒土壤上的植物硒含量显著高于缺硒或低硒土壤上的植物。据浙江省国土厅资料表明,衢州市龙游县有富硒土壤资源 208 平方公里,该县盛产富硒莲子,富硒大米,富硒油菜等特色农产品。

目前,国内外有关富硒农产品与食品的研究并不多见,对有益硒形态的检测与分析更是涉及甚少,但是有关补硒的保健品不少,盲目宣传效果,导致消费者难以识别产品优劣。因此开展对富硒农产品中有益硒形态分析技术研究十分必要,帮助人们合理明智的选择健康的富硒产品,科学膳食,具有重要的现实意义。

本实验运用现代生物学的原理和先进的光谱分析技术,研究了龙游县富硒地带的富硒大米中硒的赋存形态及分布规律,探索出为人体所能利用的有益硒的含量,为合理开发利用富硒大米,完善富硒大米标准提供了重要科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

富硒大米采自浙江省衢州市龙游县志棠富硒地带。

### 1.2 试验试剂

硝酸、盐酸、高氯酸均为优级纯,氢氧化钠、无水乙醇、氯仿、正丁醇、氨水、硼氢化钠为分析纯,硒标准溶液。

### 1.3 试验仪器

双道原子荧光光度计(AFS-930):北京吉天科学仪器有限公司;电热板(DB-2A):常州国华电器有限公司;粉碎机(FS10):九阳股份有限公司;离心机(TGL-18M):上海卢湘仪离心机有限公司;控温摇床(THZ-C):江苏太包市实验设备厂;超纯水仪(AD-SR20):杭州永洁达净化科技有限公司。

### 1.4 仪器条件

负高压:340 V;灯电流:100 mA;原子化温度:800  $^{\circ}\text{C}$ ;炉高:8 mm;载气流:500 mL/min;屏蔽气流速:1 000 mL/min;测量方式:标准曲线法;读数方式:峰面积;延迟时间:1 s;读数时间:10 s;加液时间:8 s;进样体积:2 mL;进样方式:自动进样。

### 1.5 方法

#### 1.5.1 硒标准曲线的配制

将硒标准溶液配制成 0、4、8、12、16、20  $\mu\text{g/L}$  的浓度梯度,绘制标准曲线。

#### 1.5.2 总硒含量测定及加标回收试验

##### 1.5.2.1 总硒含量测定

将大米在粉碎机中充分粉碎,然后称取两份 0.30 g 于 50 mL 三角瓶中,加 10 mL 混合酸( $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4=4:1$ ),冷消化过夜,次日于电热板上加热,并及时补加混合酸,当溶液变为清亮无色并伴有白烟时,再继续加热

至剩余体积 2 mL 左右,切不可蒸干。冷却,再加 5 mL 6 mol/L 盐酸,继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现,以完全将六价硒还原成四价硒。冷却,转移定容至 50 mL 容量瓶中,同时做空白试验。吸取 2 mL 试样消化液于 10 mL 比色管中,加浓盐酸 2 mL,加水定容至 10 mL,混匀进行氢化物原子荧光法测定总硒含量<sup>[7]</sup>。

#### 1.5.2.2 加标回收试验

称取大米干粉 0.30 g 两份,每份样品中加入 10 μg/L 的硒标准溶液 6 mL,使加入样品的硒含量为 200 μg/kg,按 1.5.2.1 处理,进行加标回收试验,并计算回收率。

#### 1.5.3 有机硒含量测定

称取经过粉碎机充分粉碎的大米干粉 1.00 g,加少量超纯水后,在研钵中碾磨使细胞充分破裂,定量转移至事先准备好的透析袋中,用超纯水在烧杯中透析 24 h,每 6 小时离心更换一次超纯水,将透析后的样品取出,在离心机中 12 000 r/min 离心 15 min,取沉淀。按照 1.5.2 中的方法测定硒含量,并分析有机硒占总硒的比例。

#### 1.5.4 碱溶性蛋白质提取及其结合态硒含量测定<sup>[8-10]</sup>

称取经过粉碎机粉碎的大米干粉 10.00 g,于 500 mL 三角瓶中,加 0.05 mol/L NaOH 溶液 100 mL 在摇床中振荡提取 2 h,将混合液以 12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,加入 0.1 mol/L HCl 调节 pH=5.5,以 12 000 r/min 离心 15 min 得到蛋白质沉淀物,在真空干燥器中干燥。将得到的蛋白质提取物称量后,按照 1.5.2.1 中的方法测定硒含量,并分析大米中碱溶性蛋白结合态的硒含量,及其占有有机硒的比例。

#### 1.5.5 多糖提取<sup>[11]</sup>及其结合态硒含量测定

称取经过粉碎机充分粉碎的大米干粉 2.00 g,加入 100 mL 的 0.5 mol/L NaOH 溶液,水浴 80 °C 加热 2 h 提取多糖,12 000 r/min 离心 15 min 除去残渣,清液用氯仿:正丁醇(24:1)洗蛋白 3 次,加入无水乙醇至溶液最终乙醇浓度为 80%,静置 24 h,收集沉淀,在真空干燥器中干燥。将得到的多糖提取物称量后,按照 1.5.2.1 中的方法测定硒含量,并分析大米中多糖结合态的硒含量,及其占有有机硒的比例。

#### 1.5.6 RNA 提取及其结合态硒含量测定<sup>[12]</sup>

取大米干粉 10.00 g,加 200 mL 0.025 mol/L NaOH 溶液摇床振荡 45 min,用 3 mol/L 盐酸中和至 pH=7.0,搅拌 10 min 然后加热至 90 °C 保持 10 min 冷却至 10 °C,在 12 000 r/min 离心 15 min,弃沉淀,上清液用 6 mol/L 的盐酸调 pH2.5,冷室静置过夜,12 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀加 1 滴~2 滴氨水,30 mL 蒸馏水

溶解沉淀,用氯仿:正丁醇(24:1)洗涤蛋白质 3 次,得到的水相在烘箱中 60 °C 烘干称重,按照 1.5.2.1 中的方法测定硒含量,并分析大米中 RNA 结合态的硒含量,及其占有有机硒的比例。

#### 1.5.7 精密度试验

精确称取大米干粉样品 0.30 g,平行样品共 6 个,处理方法同 1.5.2.1,检测总硒含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 标准曲线

通过方法 1.5.1 得到不同浓度硒标准溶液对应的荧光值结果如表 1。

表 1 不同浓度硒标准溶液对应的荧光值  
Table1 Fluorescence value of different concentration Selenium standard solution

浓度/(μg/L)	0	4	8	12	16	20
荧光值	0	220.36	476.54	744.73	1 003.76	1 245.68

### 2.2 碱溶性蛋白及多糖提取

通过方法 1.5.4,1.5.5 得到结果如图 1 图 2。



图 1 大米蛋白  
Fig.1 Rice protein



图 2 大米多糖  
Fig.2 Rice polysaccharide

按方法 1.5.4,1.5.5 及 1.5.6 得到图 1 大米蛋白 0.47 g,图 2 大米多糖 0.39 g, RNA 0.41 g,取适量的蛋白,多糖及 RNA,按方法 1.5.2.1 操作,分析其硒含量,分析报告中蛋白硒平均值为 1 918.947 μg/kg,多糖硒平均值为 80.357 μg/kg, RNA 硒平均值为 76.572 μg/kg,并根据以下式子计算大米中对应结合形态的硒含量。

大米中蛋白结合态硒含量=蛋白质中硒含量×蛋

白质的质量/大米的质量

大米中多糖结合态硒含量=多糖中硒含量×多糖的质量/大米的质量

大米中 RNA 结合态硒含量=RNA 中硒含量×RNA 的质量/大米的质量

2.3 总硒、蛋白硒、多糖硒及 RNA 硒含量

对大米样品的总硒、蛋白硒、多糖硒及 RNA 硒含量进行检测结果见表 2。

表 2 总硒、蛋白硒、多糖硒及 RNA 硒含量  
Table 2 Content of total, protein, polysaccharide and RNA selenium

样品	总硒	有机硒	蛋白硒	多糖硒	RNA 硒
1	203.307	167.172	89.535	15.216	3.253
2	210.109	170.578	90.805	16.124	3.026
平均值	206.708	168.875	90.170	15.670	3.140

2.4 大米中有机硒的主要赋存形态及其比例特征

由表 2 得到饼图结果见图 3 图 4。

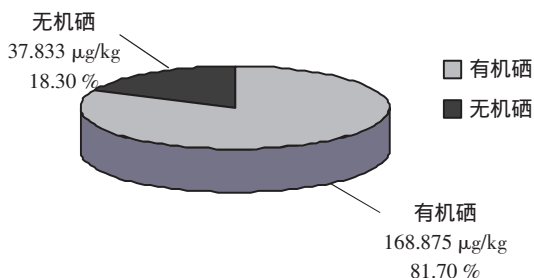


图 3 有机硒和无机硒的比例

Fig.3 Organic selenium and inorganic selenium ratio

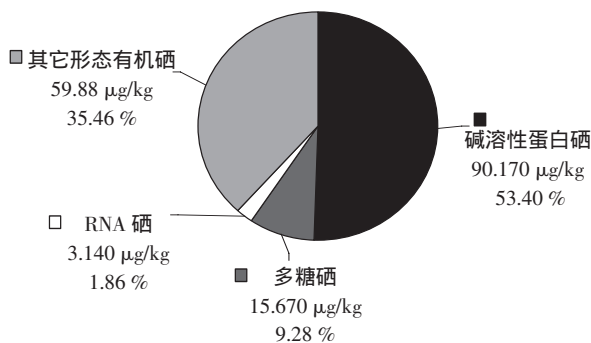


图 4 不同硒形态占有机硒的比例

Fig.4 Different selenium form of organic selenium ratio

由表 2 和图 3 可知 大米中总硒含量为 206.708 μg/kg, 有机硒含量为 168.875 μg/kg, 有机硒占总硒的 81.70%。由图 4 可知, 有机硒中硒最主要的赋存形态是碱溶性蛋白硒占 53.40%, 其次多糖硒占 9.28%, RNA 硒占 1.86%, 其它形态的有机硒占 35.46%。

2.5 精密度试验

通过方法 1.5.7 试验结果如表 3。

表 3 精密度试验

Table 3 The accuracy test

样品序号	总硒含量/(μg/kg)	相对标准差 RSD %
1	209.238	0.966
2	209.677	
3	205.942	
4	208.421	
5	206.027	
6	204.860	

通过方法 1.5.7 试验结果如表 3, 6 个平行样品总硒检测结果重现性良好, 相对标准差为 0.966%, 表明该方法具有很好的精密度。

2.6 加标回收试验

通过方法 1.5.2.2 做样品加标回收试验, 结果如下表 4。

表 4 加标回收试验

Table 4 The addition standard recovery test

样品序号	总硒本底值/(μg/kg)	加标量/(μg/kg)	测定总值/(μg/kg)	回收率/%
1	206.708	200	419.951	106.62
2	206.708	200	405.952	99.62

通过方法 1.5.2.2 做样品加标回收试验, 结果如表 4, 回收率为 103.12%, 说明该方法准确度良好。

3 结论

富硒大米作为一种富含天然硒的特色农产品, 已逐步被广大消费者所接受, 本研究采用原子荧光光度法测定了富硒大米中硒含量, 并分析了硒在大米中主要的赋存形态, 实验结果表明, 富硒大米中的总硒含量为 206.708 μg/kg, 达到 60 μg/kg~300 μg/kg 的富硒标准, 而硒主要以有机硒形态存在, 占总硒含量的 81.70%, 有机硒中硒最主要的赋存形态是碱溶性蛋白硒占 53.40%, 其次多糖硒占 9.28%, RNA 硒占 1.86%, 其它形态的有机硒占 35.46%。测量硒标准曲线的相关系数是 r=0.9997, 样品中硒的加标回收率为 103.12%, 相对标准偏差(RSD)为 0.966%, 试验数据表明, 该方法准确度高, 精密度好, 回收率高, 符合试验要求。本研究认为, 天然富硒大米中有机硒含量高, 形态丰富, 多能为人体吸收利用, 因此合理开发利用富硒大米, 对于正确引导消费, 促进人体健康安全, 发展富硒地带特色农业具有重大意义。

参考文献:

[1] 徐辉碧. 生物微量元素—硒[M]. 湖北: 武汉华中工学院出版社, 1984:1-12  
[2] 王志华. 硒在营养中的新作用[J]. 国外畜牧学:饲料, 1991(1):

# HPLC法测定曲奇饼干中丙烯酰胺的含量

王志伟<sup>1</sup>, 傅红<sup>1\*</sup>, 杨琳<sup>2</sup>, 赖冬花<sup>1</sup>

(1.福州大学 生物科学与工程学院, 福建 福州 350002; 2.福建省海洋环境与渔业资源监测中心, 福建 福州 350003)

**摘要:** 确定了曲奇饼干中丙烯酰胺含量的高效液相色谱检测方法。样品预处理采用脱脂, 固液提取, 离心破乳, 液液萃取, 旋蒸浓缩及氮气吹干, 超纯水定容等步骤, 经 Kromasil ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)分离。HPLC 检测用甲醇-水(5:95, 体积比)为流动相洗脱, VWD 检测器检测波长 210 nm。方法在 0.2 μg/mL~1.0 μg/mL 浓度范围内具有良好的线性关系( $r=0.9998$ ), 检出限为 4.4 ng/mL, RSD 为 0.37%; 定量限 14.5 ng/mL, RSD 为 7.4%, 加标回收率在 81.6%~101.3%之间。本方法定量准确, 操作简单, 适用于曲奇饼干中丙烯酰胺的测定。

**关键词:** 曲奇饼干; 丙烯酰胺; 检测; 高效液相色谱法

## Determination of Acrylamide in Cookies by HPLC

WANG Zhi-wei<sup>1</sup>, FU Hong<sup>1\*</sup>, YANG Lin<sup>2</sup>, LAI Dong-hua<sup>1</sup>

(1.College of Biological Science and Technology, Fuzhou University, Fuzhou 350002, Fujian, China; 2. Monitoring Center of Marine Environment and Fishery Resources, Fuzhou 350003, Fujian, China)

**Abstract :** Established a method of high performance liquid chromatography for determination of acrylamide in cookies. The sample was degreased, liquid-solid extracted, centrifuged, liquid-liquid extracted, concentrated, evaporated by nitrogen, and resolved by ultrapure water. Kromasil ODS column (250 mm ×4.6 mm, 5 μm) was used for detection with mobile phase of mixture of methanol and water (5:95, V:V), detection wavelength of 210 nm. The calibration curve showed well linearity in the range of 0.2 μg/mL -1.0 μg/mL with a correlation coefficient 0.9998. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were 4.4 ng/mL and 14.5 ng/mL with the RSD of 0.37% and 7.4%, respectively. The recovery of the method was between 81.6% -101.3%. This method was accurate, reliable and suitable for determination of acrylamide in cookies.

**Key words :** cookies; acrylamide; detection; high-performance liquid chromatography

2002 年瑞典科学家发现富含淀粉类食品原料经

作者简介: 王志伟(1983—), 男(汉), 在读硕士研究生, 研究方向: 食品安全与检测。

\* 通信作者: 傅红(1970—), 女(汉), 副教授, 博士。

高温(>120 °C)加工后, 会产生具神经毒素的丙烯酰胺<sup>[1]</sup>。随后各国的研究机构均证实了这个研究成果<sup>[2-3]</sup>。2005 年 4 月, 我国卫生部发布公告警告公众关注食品中的丙烯酰胺, 呼吁采取措施减少食品中的丙烯酰胺

27-30

机械, 2004, 6(12): 19-21

[3] 吴永尧, 彭振坤. 硒的多重功能及对人和动物健康的影响[J]. 湖南农业大学学报, 1997, 23(3): 294-298

[9] 顾林, 姜军, 孙婧, 等. 碎米提取大米蛋白工艺及功能特性研究[J]. 食品与饲料业, 2006(12): 5-7

[4] Schrauzer G N, Meginness J E. Observations on human selenium supplementation [J]. Trace Subst Environ Health, 1978, 13: 64-82

[10] Cagampang G B, Cruz L J, Espiritu S G, et al. Studies on the extraction and composition of rice proteins[J]. Cereal Chem, 1966, 43: 145-155

[5] Schrauzer G N, White D A. Elemental selenium in organic selenium compounds: their chemistry and biology [J]. Biochem, 1983, 8(3): 303-304

[11] 张弛, 刘信平, 江莉. 魔芋中多糖提取技术及含硒形态研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(11): 3364-3405

[6] 布和敖斯尔. 土壤硒区域环境分异及安全阈值的研究[J]. 土壤学报, 1995, 32(2): 169-193

[12] 左银虎. 富硒枸杞中硒形态分析[J]. 中国食物与营养, 2008, 7(7): 55-56

[7] 中华人民共和国卫生部. GB5009.93 食品中硒的测定[S]. 2010: 1-4

[8] 易翠平, 姚惠源. 高纯度大米蛋白和淀粉的分离提取[J]. 食品与

收稿日期 2012-02-11