

陈芊阳. 富集分离海刺参中蛋白硒形态的研究[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(12): 310–313.

富集分离海刺参中蛋白硒形态的研究

陈芊阳

(辽东学院实验中心, 辽宁丹东 118003)

摘要:采用非完全硝化-连续提取-巯基棉富集分离法,用浓度为 1.5 mol/L、流速为 1.0 mL/min 的 HCl 通过巯基棉富集分离,并用 2.0 mol/L HNO_3 加热解吸硒,在优化石墨炉原子吸收法的测定条件下测定硒含量,研究了朝鲜海州群岛的 5 龄六排海刺参中不同形态蛋白硒的富集分离及测定体系。结果表明,朝鲜海州群岛的 5 龄六排海刺参中微量硒含量测定方法的线性回归方程:总硒的线性方程为 $A = 1.361C + 0.408$,线性范围 0.6 ~ 157.2 $\mu\text{g/L}$,相关系数 $r = 0.9983$,方法检出限(3σ)为 14.2 ng/L;Se(Ⅵ)的线性方程为 $A = 1.1937C + 0.0539$,线性范围 0.4 ~ 26.1 $\mu\text{g/L}$,线性相关系数为 $r = 0.9866$,检出限(3σ)为 16.4 ng/L。试验回收率为 94.7% ~ 105.7%, $RSD < 4.9\%$ 。说明用 $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2 - \text{HCl}$ 的硝化体系、连续提取和巯基棉富集分离能消除样品中部分干扰离子,使朝鲜海州群岛的 5 龄六排海刺参中蛋白硒的测定损失少、干扰小,结果稳定。Se(Ⅳ)、Se(Ⅵ)、蛋白硒含量分别为 10.91 ~ 11.97、3.48 ~ 4.67、101.43 ~ 102.33 $\mu\text{g/g}$ 。

关键词:蛋白硒形态;富集分离;海刺参;石墨炉原子吸收法(GF-AAS)

中图分类号: TS201.2⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)12-0310-03

生物体中硒存在的化学形态非常复杂,不同形态硒化合物的性质和生理功能差异较大。研究蛋白硒及 Se(Ⅳ)、Se(Ⅵ)的形态分布和寻找新的硒蛋白是近年来分析化学领域中的研究热点。研究表明,硒可与蛋白质、有机酸等内源性或生物诱导的生物大分子形成各种复合物,通常情况下,蛋白硒的生物医学功能大于无机硒,毒性比无机硒小,且种类繁多,功能各异^[1-2]。因此生物体内的有机硒及其形态研究已受到国内外学者广泛关注^[3-4]。但是,对朝鲜海州群岛的 5 龄六排海刺参中蛋白硒的形态及分布的研究未见相关报道。本研究采用非完全硝化-巯基棉-石墨炉原子吸收法测定朝鲜海州群岛的 5 龄六排海刺参中蛋白硒赋存形态的含量,以期对朝鲜海州群岛的 5 龄六排海刺参的金属组学的基础研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

AA-6501 型原子吸收分光光度计(日本岛津制作所);ASC-6000 自动进样器(日本岛津制作所);GFA-6000 石墨炉(日本岛津制作所);硒空心阴极灯(日本岛津制作所);控温电热板(北京大华无线电仪器厂);热解涂层石墨管(日本岛津制作所);PHS-2 酸度计(上海分析仪器厂)。

1.2 主要试剂

盐酸、硝酸、双氧水、硫脲、硝酸钾、二苯卡巴肼,以上试剂均为分析纯;纯制备 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的 Se(Ⅳ)、Se(Ⅵ)储备液以及 10 $\mu\text{g/mL}$ 的 Se(Ⅵ)标准储备液;5 g/L 吐温 80 溶液。交联壳聚糖(脱乙酰度为 92%)的制备^[3-4]:称取 6.0 g 可溶性壳聚糖溶于 320 mL 1% 醋酸溶液中,在剧烈搅拌下缓慢滴

加 6.0 mL 环氧氯丙烷,然后逐渐滴加 50 mL 5% 氢氧化钠,继续反应 18 h,得白色悬浮固体,抽滤后水洗至中性,再用少量丙酮洗,烘干,研磨,用 200 目分样筛筛分后备用。器具使用前经过 10% 硝酸煮沸浸泡 48 h。

1.3 样品的制备及硝化^[5-7]

将成熟 5 龄六排海刺参 5 组(每组 5 只)洗净,50 ~ 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘干研磨,过 40 目筛;取 5 龄六排海刺参粉 1.0 g,置于 50 mL 锥形瓶内,加入 5 mL 硝酸(体积比 8:92)在通风橱中于 90 ~ 110 $^{\circ}\text{C}$ 加热至近干,滴加 H_2O_2 10.0 mL 硝化至淡黄色透明溶液,再加入 HCl(体积比 20:80)5 mL 蒸至近干,加入 5 mL 8% 硝酸溶液,转入 50.0 mL 容量瓶中,并加入 2.0 mg/mL 硝酸钾 80 μL (基体改进剂),最后用含 5.0 g/L 吐温 80 的 5% 硝酸溶液定容。

1.3.1 巯基棉分离与硒的脱附 将硝解后的样品稀释至约 50 mL(pH 值为 1.5 ± 0.5),用 1.0 mol/L HCl 溶液流速 0.8 mL/min 通过冲洗过的巯基棉柱富集硒,然后用饱和 KCl 溶液与 5.0 mol/L HCl 等体积混合液 10.0 mL 洗涤。取出巯基棉,放入盛有 5.0 mL 2.0 mol/L HNO_3 的烧杯中,置于沸水浴中加热 5 ~ 15 min(5 min 时硒的解脱效果最好),取出巯基棉,加 0.4 g 尿素,冷却后用滤纸过滤,用 KOH 溶液中和至 pH 值 1.5 ~ 2.5,定容至 10 mL,并用石墨炉原子光谱法(GFAAS)测定硒的含量^[10]。

1.3.2 蛋白硒和非蛋白硒含量测定 取 5 龄六排海刺参样品 1.0 g,分别加入 0.25 mol/L KOH 溶液 50 mL,在 50 ~ 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中提取 4 h,抽滤,得滤液,除去残渣;在上述提取液中加入固体 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 至 50% 的饱和度,边加边慢速搅拌,待 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 完全溶解后,放入冰箱中静置过夜,4 000 r/min 离心 30 min,将沉淀用乙醇-乙醚混合液(体积比 2:1)淋洗 3 次后,硝化、富集分离,测硒;再将上清液与乙醇-乙醚混合,用去离子水透析至质量分数为 10% 的 BaCl_2 检验呈阴性后,以缓冲液定容,所得溶液为非蛋白质硒溶液,分别硝化、富

收稿日期:2013-04-30

作者简介:陈芊阳(1963—),女,辽宁丹东人,高级实验师,从事分析化学、物理化学研究。E-mail: syzxcqy@163.com。

集分离、测硒。

1.3.3 水溶性硒蛋白提取、纯化及测定 取 5 龄六排海刺参样品 1.0 g, 加入 Tris - HCl 浸提液 20 mL, 在磁力搅拌下于 50 ~ 60 ℃ 水浴中提取 4 h, 过滤后以 4 000 r/min 离心 10 min, 得可溶性蛋白提取液。调节滤液 pH 值为 6.5 ~ 7.5, 加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 至 50% 饱和度 (4 ℃), 冰箱中静置过夜。4 000 r/min 离心 30 min, 所得各沉淀用少量浸提液溶解, 转至透析袋中, 用去离子水透析至质量分数为 10% 的 BaCl₂ 检验呈阴性后, 硝化、富集分离、测硒。

1.3.4 盐溶性硒蛋白提取、纯化测定 在提取水溶性蛋白质后的残渣中加入 0.5 mol/L KOH 溶液 15 mL, 室温下搅拌提取 4 h, 调节滤液 pH 值为 4.5, 加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 至 50% 饱和度 (4 ℃), 冰箱中静置过夜, 4 ℃ 下 4 000 r/min 离心 30 min, 透析、硝化、富集分离、测硒。

1.3.5 醇溶性硒蛋白提取、纯化及硒含量测定 在提取盐溶性蛋白质后的残渣中加入 75% 乙醇 25 mL, 室温下搅拌提取 4 h, 抽滤, 用少量 75% 乙醇分 3 次洗涤残渣, 抽滤至干, 滤液中加 1 倍去离子水, 冰箱中静置过夜, 在 4 ℃ 下 4 000 r/min 离心 30 min, 沉淀用 75% 乙醇溶解、透析、硝化、富集分离、测硒。

1.3.6 碱溶性硒蛋白提取、纯化及硒含量测定 在提取醇溶性蛋白质后, 残渣中加入 0.2 mol/L KOH 溶液 10 mL, 室温下搅拌提取 4 h, 抽滤, 调节滤液 pH 值为 4.5, 加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 至 50% 饱和度 (4 ℃), 冰箱中静置过夜, 4 ℃ 下 4 000 r/min 离心 30 min, 得沉淀, 以 pH 值为 11.5 的氨水溶解、透析、硝化、富集分离、测硒。

1.4 仪器工作条件

检测波长 196.0 nm, 狭缝宽度 (带通) 1.3 nm, 灯电流 6.0 mA, 进样量 20 μL , 氙灯扣背景; 石墨炉升温程序见表 1, 表 1 中的赶酸干燥阶段是蒸发、去除试样中的溶剂, 以保证分析结果的重现性。

表 1 石墨炉的升温程序

步骤	温度 (℃)	时间 (s)	氩气流量 (L/min)	数据采集	备注
1	80 ~ 120	25.0	3.1	否	赶酸干燥阶段
2	400 ~ 500	20.0	0	否	灰化阶段
3	2 400	4.0	0	是	原子化阶段
4	2 600	4.0	3.5	是	清洗阶段

2 结果与分析

2.1 标准工作曲线绘制

在已确定的最佳检测条件下, 将硒标准溶液系列逐级稀释为 0.05、1.5、2.5、4.5、6.5、12.0、16.0、20.0、40.0 $\mu\text{g/L}$, 测定对应的吸光度, 绘制标准曲线。总硒的线性方程为 $D = 1.361C + 0.4081$, 线性范围 0.6 ~ 157.2 $\mu\text{g/L}$, 相关系数 $r = 0.9983$, 方法检出限 (3σ) 为 14.2 ng/L。将 Se (VI) 标准溶液逐级稀释为 0.10、1.5、2.5、3.5、5.0、6.5、8.0、10.5、12.0、14.0 $\mu\text{g/L}$, 测定相应的吸光度, 绘制标准曲线。Se (VI) 的线性方程为 $D = 1.1937C + 0.0539$, 线性范围 0.4 ~ 26.1 $\mu\text{g/L}$, 相关系数为 $r = 0.9866$, 检出限 (3σ) 为 16.4 ng/L。标准系

列可不经巯基棉柱富集直接测定^[11-12]。

2.2 硝化方法比较

由于硒在 140 ~ 160 ℃ 易挥发, 因此其分析必须经过湿法硝化。硝化的关键是防止试样中硒的挥发损失, 本研究分别比较了 $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4$ 、 $\text{HClO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4 - \text{H}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{H}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{HCl} - \text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2 - \text{HCl}$ 、 H_2SO_4 、 $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ 等硝化体系硝化 5 龄六排海刺参样品的效果^[10], 结果显示 $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2 - \text{HCl}$ 的硝化体系能较好硝解 5 龄六排海刺参样品, 结果稳定, 因此选定 $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2 - \text{HCl}$ (2 : 1 : 2) 作为硝解液。该体系外观透明, 测定干扰小, 结果的相对标准偏差 < 4.9%, 硝化速度快, 硒的损失相对其他方法小, 可防止因加入 HClO_4 样品导致的易变黑、易发生爆沸, 若单独采用 HNO_3 或 HClO_4 进行消化, 测定结果常常偏低。

2.3 巯基棉富集硒及脱附条件选择

因为巯基棉上的巯基 (—SH) 与微量镉、汞、硒等 20 种金属元素有较强的亲和力, 其被吸附最佳量与 pH 值有关^[11,13], 所以在 pH 值为 1.5 ~ 2.5 时, 按巯基棉分离程序, 将硝解后样品经过巯基棉柱富集分离后, 本研究比较了用不同浓度盐酸、磷酸、硫酸、硝酸来解脱富集硒的效果。结果表明以 2.0 mol/L HNO_3 解脱硒时, 效果较好, 因此本研究用 2.0 mol/L HNO_3 加热 5 min 来解脱富集硒。巯基棉柱富集的流速直接影响吸附效率, 当流速大于 1.0 mL/min 时回收率开始缓降, 因此富集流速用 1.0 mL/min, 此时洗脱回收率近 100%。

2.4 5 龄六排海刺参中可溶性蛋白提取条件选择

取 5 龄六排海刺参样品 1.0 g, 在 pH 值 7.5 的磷酸缓冲液和质量分数为 0.9% 的 KCl 溶液条件下, 以 Tris - HCl 缓冲液为浸提剂, 观察不同浸提料液比 (1 : 10、1 : 20、1 : 30、1 : 40、1 : 50、1 : 60, g : mL) 及浸提时间 (1、2、3、4、5、6 h) 5 龄六排海刺参中可溶性蛋白的提取率情况。结果表明: 当浸提料液比的值大于 1 g : 30 mL 或小于 1 g : 50 mL 时, 提取率 < 91% (图 1 - a); 当浸提时间大于 4 h 时, 提取率在 98% 以上 (图 1 - b)。因此, 本试验采用 pH 值 7.5 的 Tris - HCl 缓冲液, 以浸提料液比 1 g : 35 mL, 连续搅拌 3.5 h 浸提。

2.5 共存离子的影响

在选定试验条件下, 考察了多种常见离子对测定 50 $\mu\text{g/L}$ 硒的影响。结果表明, 相对误差控制在 $\pm 5\%$ 时, 下列浓度的离子不干扰测定: 2.0 mg/mL 的 K^+ 、 Na^+ 、 Ba^{2+} , 1.0 mg/mL 的 Ca^{2+} , 0.87 mg/mL 的 Mg^{2+} , 0.13 mg/mL 的 Cd^{2+} , 0.083 mg/mL 的 Mn^{2+} , 0.067 mg/mL 的 Pb^{2+} , 0.059 mg/mL 的 Al^{3+} , 0.033 mg/mL 的 Ni^{2+} 、 Cr^{3+} ; 而 35 $\mu\text{g/mL}$ 的 Fe^{3+} 、 Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 严重干扰测定结果, 40 $\mu\text{g/mL}$ Fe^{2+} 、 Al^{3+} 有一定的干扰。在 1.5 mol/L HCl 作介质情况下, Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Sn^{2+} 不被巯基棉吸附。当用饱和 KCl 与 1 mol/L HCl 混合液洗涤吸附柱后, Fe^{3+} 、 Hg^{2+} 等干扰离子均被洗脱而与 Se 分离。当用巯基棉富集时, 碱金属及碱土金属与巯基棉间亲和力弱不被吸附, 而待测元素吸附良好, 于是二者分开。2.9 mg/mL PO_4^{3-} 、37 mg/mL NO_3^- 、41 mg/mL SO_4^{2-} 、60 mg/mL CO_3^{2-} 、1 543 mg/mL Cl^- 共存, 对 Se 的检测无干扰, 试验中未见明显影响, 亦未见交叉干扰^[10-13]。

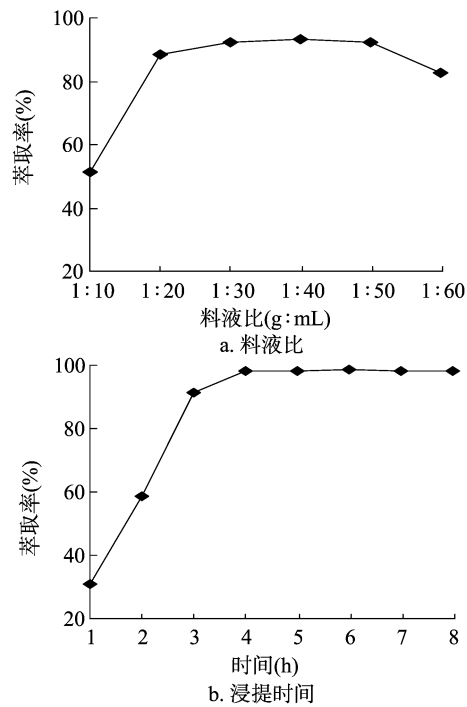


图1 5龄六排海刺参中可溶性蛋白提取条件选择

2.6 酸及其浓度对测定硒的影响

向含 50 $\mu\text{g/L}$ 硒、2.0 mg/L 硝酸钾的溶液中分别加入不

同浓度的硝酸、盐酸、硫酸、磷酸和高氯酸,试验结果表明,硝酸体积比在 1 : 9 ~ 1 : 99 范围内,硒的吸光度基本不变,本研究选用体积比为 8 : 92 的硝酸为介质。

2.7 样品的测定结果、回收率及精密度试验

由表 2 可见,5 龄六排海刺参中总硒的平均含量为 109.68 $\mu\text{g/g}$,其中有机硒平均含量为 94.44 $\mu\text{g/g}$,占总硒的 86.11%。由表 3 可见,5 龄六排海刺中与蛋白质结合的硒平均含量为 54.91 $\mu\text{g/g}$,占总硒的 50.06%。在蛋白硒组分中盐溶性蛋白硒平均含量为 31.45 $\mu\text{g/g}$,水溶性蛋白硒平均含量为 10.88 $\mu\text{g/g}$,醇溶性蛋白硒平均含量为 2.85 $\mu\text{g/g}$,碱溶性蛋白硒平均含量为 9.45 $\mu\text{g/g}$,即盐溶性蛋白硒含量最多,而醇溶性蛋白硒含量最少。残渣态蛋白硒平均含量为 0.27 $\mu\text{g/g}$ 。结果表明:5 龄六排海刺参中蛋白硒约占总硒的 50.06%,其中不同形态蛋白硒的平均含量大小为盐溶态 > 水溶态 > 碱溶态 > 醇溶态 > 残渣态。

表 2 5 龄六排海刺参样品中硒含量

样品 编号	含量($\mu\text{g/g}$)			
	总量	Se(VI)	Se(IV)	有机硒
1	109.62 \pm 0.15	5.67 \pm 0.02	9.41 \pm 0.17	94.54 \pm 0.12
2	110.44 \pm 0.31	4.14 \pm 0.06	10.91 \pm 0.08	95.39 \pm 0.06
3	108.96 \pm 0.17	3.96 \pm 0.03	11.09 \pm 0.16	93.91 \pm 0.11
4	111.39 \pm 0.22	4.89 \pm 0.06	11.97 \pm 0.19	94.53 \pm 0.17
5	107.99 \pm 0.23	3.48 \pm 0.07	10.68 \pm 0.16	93.83 \pm 0.26

表 3 5 龄六排海刺参样品中蛋白硒含量

样品编号	含量($\mu\text{g/g}$)				
	蛋白硒	盐溶性蛋白硒	水溶性蛋白硒	醇溶性蛋白硒	碱溶性蛋白硒
1	55.34 \pm 0.12	31.79 \pm 0.36	10.62 \pm 0.19	3.06 \pm 0.18	8.93 \pm 0.22
2	56.81 \pm 0.31	33.43 \pm 0.21	11.51 \pm 0.32	2.94 \pm 0.27	8.87 \pm 0.14
3	53.22 \pm 0.24	30.26 \pm 0.13	10.38 \pm 0.12	2.07 \pm 0.42	10.31 \pm 0.26
4	54.27 \pm 0.36	31.39 \pm 0.35	10.73 \pm 0.25	3.22 \pm 0.23	8.79 \pm 0.15
5	54.89 \pm 0.18	30.40 \pm 0.38	11.16 \pm 0.14	2.96 \pm 0.34	10.35 \pm 0.37

按“1.3.2”节方法提取蛋白硒并硝化、富集分离后,向其中加入 100 $\mu\text{g/L}$ 硒标准溶液,重复测定 5 次 5 龄六排海刺参样品中硒的加标回收率。由表 4 可见,加标回收率为 93.9% ~ 106.4%, $RSD \leq 4.9\%$,提示该方法具有良好的准确性和稳定性。

表 4 5 龄六排海刺参样品中硒的加标回收率

样品	硒蛋白加入量 ($\mu\text{g/L}$)	硒蛋白测得量 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)	RSD (%)
1	100.0	153.45 \pm 0.12	104.4	4.2
2	100.0	149.78 \pm 0.06	97.2	3.7
3	100.0	149.57 \pm 0.13	96.8	4.9
4	100.0	154.49 \pm 0.26	106.4	3.6
5	100.0	148.10 \pm 0.11	93.9	3.9

3 结论

在样品预处理的过程中不使用 HClO_4 ,因为硒是低熔点元素,使用 HClO_4 时易产生爆炸或爆沸现象,因此在硝化过

程中需要选择适宜的硝化体系和适量基体改进剂来减小灰化损失和提高被测元素灵敏度。选择一种试剂用量少、快速、安全、灵敏度高的硝化方法和适量基体改进剂,是改善石墨炉原子吸收光谱法测定硒形态的关键。

5 龄六排海刺参中的硒主要以有机硒形式赋存,蛋白硒赋存状态占主要,多糖、挥发油、核酸中也有一定硒分布。对蛋白硒的 4 个组分的分析结果显示:水溶性蛋白、盐溶性蛋白、醇溶性蛋白及碱溶性蛋白都能结合一定量的硒,水溶性蛋白硒存在形式最多。5 龄六排海刺参蛋白质组分中硒的分布研究结果表明,硒的含量分布呈现一定的规律性,其中盐溶性的蛋白硒含量最高,占总蛋白硒的 60.63% 以上。由此可见,5 龄六排海刺参能将环境中的无机硒吸收并转化为有机硒,形成丰富的含硒蛋白质,使之成为较好的硒营养源,若能将含硒蛋白质进一步加以分离纯化,得到单一的硒蛋白,将对水产养殖、生物化学、医药等相关产业产生重大影响。

由于巯基棉的结构中的巯基($-\text{SH}$)在酸性条件下以质子形式存在($-\text{SH}_2^+$),与 Se(IV) 、 Se(VI) 价态的含氧酸根的阴离子具有较强的亲和力,因而被吸附的最佳量与 pH 值、温

沈植国,程建明,李 宇,等. 猬实花瓣色素成分及含量的初步分析[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):313-315.

猬实花瓣色素成分及含量的初步分析

沈植国¹,程建明²,李 宇¹,崔家俊³

(1. 河南省林业科学研究院,河南郑州 450008; 2. 河南省格兰德园林科技有限公司,河南郑州 450000;

3. 河南省新郑市城乡规划和城市管理局,河南新郑 451100)

摘要:以猬实为材料,通过特征显色反应和紫外-可见光谱对其花瓣中的色素成分进行初步分析,并对其总类胡萝卜素、总黄酮和总花色苷的含量进行测定。结果表明:猬实花瓣的色素主要由类胡萝卜素、类黄酮和花青素组成。其中,类黄酮含有黄酮和黄酮醇类化合物,不含二氢黄酮类化合物、查耳酮、呋喃、儿茶素,色素分子中含有 3',4'-二羟基。白色花的类胡萝卜素和黄酮的含量比红色花高,而花色苷含量比红色花的低。

关键词:猬实;花色素;类黄酮;花色苷

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)12-0313-03

猬实(*Kolkwitzia amabilis* Graebn)是中国特有的单属植物,属忍冬科(Caprifoliaceae)猬实属(*Kolkwitzia*),因果实密被刺刚毛,状如刺猬而得名,属国家三级稀有保护植物,主要分布于我国中部及西北部的河南、甘肃、山西、陕西、湖北、安徽等省海拔 350~1 500 m 的山坡、路边和灌丛中。猬实作为驰名中外的珍贵观赏植物,长期以来颇受青睐,被誉为“美丽的灌木(beauty bush)”,欧美国家 20 世纪初就从中国引种栽培猬实^[1]。当前的研究主要集中在如何提高猬实的繁殖率和扩大猬实的生长区域,很少关注猬实花色的变化以及猬实花色素的构成。本研究初步分析了猬实 2 种不同花色花瓣的色素成分及含量,有助于探索猬实花色形成的生化机理,为猬实

色素化合物的分离和结构鉴定提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2013 年 5 月 4 日,采集河南省郑州市郑东新区的绿化公园里事先选取的优株上的花朵,花色分粉白和粉红 2 种,摘取健康、完全开放的花朵,去蕊放进密封袋装好,一部分放在 -20 ℃ 的冰箱里保存,剩下的放入 55 ℃ 烘箱 24 h,取出烘干的花朵,研磨成粉,密封保存,备用。

1.2 猬实花色素的特征显色反应

1.2.1 石油醚、盐酸和氨水测试 分别取鲜花瓣 0.1 g 研磨,放入带有皮塞的干燥试管,分别加石油醚、10% 盐酸、30% 氨水 5 mL,振荡,过滤观察颜色,并记录^[2]。

1.2.2 类黄酮显色反应 取不同花色的花瓣粉末 0.1 g,分别用盐酸化甲醇 [$V(\text{HCl}):V(\text{MeOH})=1:99$,下同] 提取 15 h,过滤,定容至 25 mL,分别进行下列显色反应^[3-4]。

(1) 浓盐酸-镁粉反应:在 2 mL 提取液中加入少量镁

科学,2009,30(18):252-254.

[7] 姚 敏. 富硒灵芝中硒含量分布和赋存形态研究[J]. 上海大学学报:自然科学版,1997,3(5):15-21.

[8] 王未肖,段惠敏,李景印,等. 硒的分析方法[J]. 理化检验:化学分册,2006,42(6):505-508.

[9] 刘 黎. 阿拉伯树胶增溶增敏分光光度法测定微量硒(IV)的研究[J]. 化学研究与应用,2000,12(2):218-220.

[10] 杜春霖,吴瑶庆,孟昭荣,等. 丹东地区决明子中微量硒的富集分离与测定[J]. 湖北农业科学,2009,48(2):450-452.

[11] 吴瑶庆,孟昭荣,李 莉,等. 非完全硝化-石墨炉原子吸收光谱法测定野生软枣猕猴桃中微量锆的研究[J]. 江苏农业科学,2009(4):307-310.

[12] Gammelgaard B, Cornett C, Olsen J, et al. Combination of LC-ICP-MS, LC-MS and NMR for investigation of the oxidative degradation of selenomethionine[J]. Talanta,2003,59(6):1165-1171.

[13] 樊 静,吕辉雄,叶存玲,等. 硒形态流动注射催化光度法分析[J]. 光谱学与光谱分析,2005,25(2):263-265.

收稿日期:2013-06-22

基金项目:国家公益性行业(林业)科研专项(编号:200904024);河南省郑州市重点科技攻关项目(编号:121PZDGG303)。

作者简介:沈植国(1977—),男,河南辉县人,硕士,高级工程师,主要从事园林树木、能源树种等方面的研究。E-mail: smess123@sina.com。

度、时间及巯基棉的用量有关;巯基棉富集分离 GFAAS 测定硒形态具有定量选择性、灵敏度好等优点,适合生物样品体系中硒形态的分析,为 5 龄六排海刺参的金属组学的基础研究提供了借鉴。

参考文献:

[1] 裴俊瑞,王 铜,周令望,等. 硒和维生素 E 对甲状腺及其激素代谢的影响[J]. 营养学报,2009,31(4):407-408.

[2] 徐 刚,董文丽,李和平. 巯基棉富集分离-流动注射分光光度法测定水样中痕量硒[J]. 冶金分析,2007,27(10):43-46.

[3] 刘秀华,辉永庆,张豫川,等. 石墨炉原子吸收光谱法测定硒的条件研究[J]. 理化检验:化学分册,2006,42(2):133-134.

[4] 吴瑶庆,孟昭荣,李 莉,等. 蓝莓中蛋白硒形态的富集分离及测定方法[J]. 营养学报,2011,33(5):463-466,471.

[5] 铁 梅,臧树良,方禹之,等. SE-HPLC-ICP-MS 联用技术在富硒蝇虫草硒蛋白形态分析中的应用研究[J]. 高等学校化学学报,2006,27(7):1232-1236.

[6] 刘信平. 天然产遏蓝菜挥发性物质及硒赋存形态分析[J]. 食品