

苜蓿叶片中微量元素的光谱测定

姜健, 杨宝灵, 苏明, 何永祥, 姜翠翠

(1. 大连民族学院生物工程系, 辽宁大连116600; 2. 大连大学医学工程系, 辽宁大连116600)

摘要 [目的] 深入了解苜蓿叶片的营养价值。[方法] 采用火焰原子吸收光谱法对公农1号、中苜1号、美国Phabulous、美国GoldenEmpress 4种不同苜蓿品种幼苗期叶片中Na、K、Ca、Mg、Fe、Zn、Cu、Mn、Gr和Co 10种微量元素含量进行了测定分析。[结果] 结果表明, 各元素在试验范围内, 加标回收率和精密度较好, 加标回收率为95%~105%, 相对标准偏差(RSD)小于5%。苜蓿叶片中人体所需的营养元素含量丰富, 苜蓿各品种微量元素含量均表现为Ca>K>Zn>Mg>Na>Fe>Mn>Co>Cu>Gr; 不同品种间, Na、Mg、Fe和Zn含量为公农1号>中苜1号>美国Phabulous>美国GoldenEmpress; Ca、Cu、Mn和Co含量为美国GoldenEmpress>公农1号>美国Phabulous>中苜1号; K和Gr的含量为公农1号>美国GoldenEmpress>美国Phabulous>中苜1号。[结论] 该研究为苜蓿叶片的合理利用提供了有利依据。

关键词 火焰原子吸收光谱法; 苜蓿叶片; 微量元素

中图分类号 S551+.7 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)28-12146-03

Spectrometric Determination of Microelements in Alfalfa Leaves

JIANG Jian et al (Department of Bio-technology Engineering, Dalian Nationalities University, Dalian, Liaoning 116600)

Abstract [Objective] The purpose aimed to realize nutrition value of Alfalfa leaves. [Method] Ten kinds of microelements (Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Gr and Co) in leaves at seeding stage of Gongnong 1, Zhongmu 1, American Phabulous and American GoldenEmpress Alfalfa were detected and analysed by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). [Result] The results indicated that the precision and recovery for different elements within the limits of working curves were good, the range of recovery (n=5) was 95% - 105% and the RSD was lower than 5%. There were abundant nutritional elements for people in Alfalfa leaves. In the leaves of four Alfalfa, the content sequence of different microelements was found to be Ca > K > Zn > Mg > Na > Fe > Mn > Co > Cu > Gr. The content sequence of Na, Mg, Fe and Zn was Gongnong 1 > Zhongmu 1 > American Phabulous > American GoldenEmpress, the content sequence of Ca, Cu, Mn and Co was American GoldenEmpress > Gongnong 1 > American Phabulous > Zhongmu 1, the content sequence of K and Gr was Gongnong 1 > American GoldenEmpress > American Phabulous > Zhongmu 1. [Conclusion] The results of this study will provide useful evidence for effective exploitation of Alfalfa leaves.

Key words Flame atomic absorption spectrometry (FAAS); Alfalfa leaves; Microelements

苜蓿(Medicago sativa L.)为一年生或多年生高蛋白植物,是世界上重要的饲料作物,素有“牧草之王”的美称,其所具有的高营养价值正在受到人们的广泛重视^[1]。苜蓿的药用价值也非常高,据中药记载,苜蓿具有清热解毒、凉血通淋、益气健脾温肾的功效,试用于临床,对于治疗尿频、遗尿、腹泻等症颇具疗效^[2-3],此外,还有降血脂、抗菌、抗肿瘤等功效,具有开发成保健品的潜力^[4]。因此,笔者采用火焰原子吸收光谱法对其微量元素含量进行了研究,以期深入了解苜蓿叶片的营养价值。

1 材料与试验方法

1.1 材料

1.1.1 样品。4个苜蓿品种分别为公农1号、中苜1号、美国Phabulous和美国GoldenEmpress,研究样品均为幼苗期叶片。

1.1.2 仪器及工作条件。日立Z2000型原子吸收光谱仪(日立公司)。Na、K、Ca、Mg、Fe、Zn、Cu、Mn、Gr和Co共10种元素空心阴极灯(日立公司)。优化后的仪器工作条件见表1。

1.1.3 试剂。10种元素(Na、K、Ca、Mg、Fe、Zn、Cu、Mn、Gr和Co)的标准溶液均购自国家标准物质研究中心(国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院)。试验过程所用HNO₃、HClO₄、H₂SO₄和HCl等均为优级纯,试验用水为二次蒸馏水。

1.2 方法

1.2.1 样品处理。取适量的叶片置于电热干燥箱中(100±2)烘干。准确称取2g的烘干药品于100ml的小烧杯中,

加入15ml HNO₃-HClO₄(HNO₃:HClO₄为3:1)混酸,盖上表面皿,于电热板上加热消化4min,停止加热,冷却至室温,转移至100ml容量瓶中定容,同时做样品空白。

1.2.2 标准溶液的配制。用逐步稀释法配制不同浓度的标准溶液系列。为保证标准曲线的可靠性,每种系列至少配5种不同浓度的标准溶液并做标准空白。标准空白及标准工作溶液见表2。

表1 仪器工作条件

Table 1 Working conditions of the instrument

元素 Element	波长 Wavelength nm	灯电流 Lamp current mA	狭缝 (带宽) Slit nm	燃烧器高度 Burner height mm	乙炔流量 Acetylene flow L/min	空气流量 Ar flow L/min
Na	589.0	3.0	0.2	5.0	3.0	8.0
K	766.5	3.0	0.2	5.0	3.0	8.0
Ca	422.7	2.5	0.2	5.0	3.0	8.0
Mg	285.2	4.0	0.2	5.0	3.0	8.0
Fe	248.3	4.0	0.2	5.0	3.0	8.0
Zn	213.9	3.0	0.2	5.0	3.0	8.0
Cu	324.8	3.0	0.2	5.0	3.0	8.0
Mn	279.5	3.0	0.2	5.0	3.0	8.0
Gr	357.9	2.5	0.2	5.0	3.0	8.0
Co	240.7	4.0	0.2	5.0	3.0	8.0

表2 标准工作溶液浓度

Table 2 The concentration of standard working solution

标准 Standards	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Cu	Mn	Gr	Co
STD0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
STD1	0.20	0.25	1.00	0.50	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00
STD2	0.40	0.50	2.00	1.00	2.00	2.00	1.00	1.00	2.00	2.00
STD3	0.60	0.75	3.00	1.50	3.00	3.00	1.50	1.50	3.00	3.00
STD4	0.80	1.00	4.00	2.00	4.00	4.00	2.00	2.00	4.00	4.00
STD5	1.00	1.25	5.00	2.50	5.00	5.00	2.50	2.50	5.00	5.00

基金项目 国家自然科学基金项目(30271095);大连市科技基金项目(2005B10NC089)。

作者简介 姜健(1970-),男,内蒙通辽人,博士,副教授,从事植物生物学的教学与研究。

收稿日期 2008-09-04

2 结果与分析

2.1 标准曲线 按表1 仪器工作条件, 分别测定 Na、K、Ca、Mg、Fe、Zn、Cu、Mn、Gr 和 Co 的标准系列液, 由计算机处理后, 得出各元素标准曲线的回归方程和相关系数(表3)。10 种元素均采用五标准定标准曲线法。结果表明, 相关系数均大于0.994, 线性关系良好。为了考查各元素相互干扰情况, 试验分别作了各待测元素的标准曲线和标准加入曲线, 发现两条曲线平行, 计算所求结果一致, 表明在测定条件下, 在样品含量内, 各元素相互不干扰, 可在同一份溶液中测定各元素。

表3 标准溶液回归方程和相关系数

Table 3 The regression equation and correlation coefficient of standard solution

元素	回归方程	相关系数
Element	Regression equation	Correlation coefficient
Na	$Y=0.0038x+0.0082$	0.999
K	$Y=0.0284x-0.0179$	0.995
Ca	$Y=0.0089x+0.0261$	1.000
Mg	$Y=0.0935x-0.0285$	0.996
Fe	$Y=0.0385x-0.0059$	0.997
Zn	$Y=0.0638x+0.0024$	0.994
Cu	$Y=0.1033x-0.0783$	0.996
Mn	$Y=0.0036x+0.3482$	0.998
Gr	$Y=0.0837x-0.0458$	0.995
Co	$Y=0.0326x-0.0278$	0.997

2.2 样品处理条件的优化选择

2.2.1 消化液的优化选择。为找出适宜的消化体系, 以苜蓿公农1 号为例, 以 Na、K、Mg、Zn 和 Fe 为测定指标, 详细测定 $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ (3:1)、 $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ (3:1) 和 $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) 3 种消化体系的消化完全程度。由表4 可知, 采用 $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ 混酸体系作消化液测定结果远好于其他两种消化体系。

表4 消化液的优化选择

Table 4 The optimization selection of digestive juice $\mu\text{g/g}$

元素 Element	$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$	$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$	$\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$
Na	533.71	485.69	641.22
K	2984.50	2844.25	3175.39
Mg	919.32	855.90	1035.65
Zn	1790.35	1370.82	2031.80
Fe	396.82	248.49	475.36

2.2.2 混酸体积的优化选择。采用 $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ 混酸体系作消化液, 以苜蓿公农1 号为例, 以 Na、K、Mg、Zn 和 Fe 为测定指标, 研究 HNO_3 和 HClO_4 的不同混合比例对消化效果的影响, HNO_3 和 HClO_4 的混合比例设定为 1:1、2:1、3:1、4:1 和 5:1。由图1 可见, HNO_3 和 HClO_4 混合比例为 3:1 的消化结果最好。

2.2.3 消化时间的优化选择。采用 HNO_3 和 HClO_4 比例为 3:1 的混合酸体系作消化液, 样品干重为 2 g, 混酸消化液体积为 15 ml, 以苜蓿公农1 号为例, 以 Na、K、Mg、Zn 和 Fe 为测定指标, 研究混合酸的最佳消化时间。由图2 可知, 在该研究样品和混合酸定量范围条件下, 混合酸加热消化 4 min 可达到最佳消化效果。

2.3 方法的精确度 为考察方法的可靠性, 以苜蓿公农1 号为例, 以 Na、K、Ca、Mg、Fe、Zn、Cu、Mn、Gr 和 Co 为测定指标, 研究该方法的加标回收率和精密度(测定次数 n 为 5), 结果列于表5。由表5 可知, 该方法的回收率为 95% ~ 105%, 相对标准偏差(RSD) 小于 5%, 该研究方法具有良好的准确度和精密度。

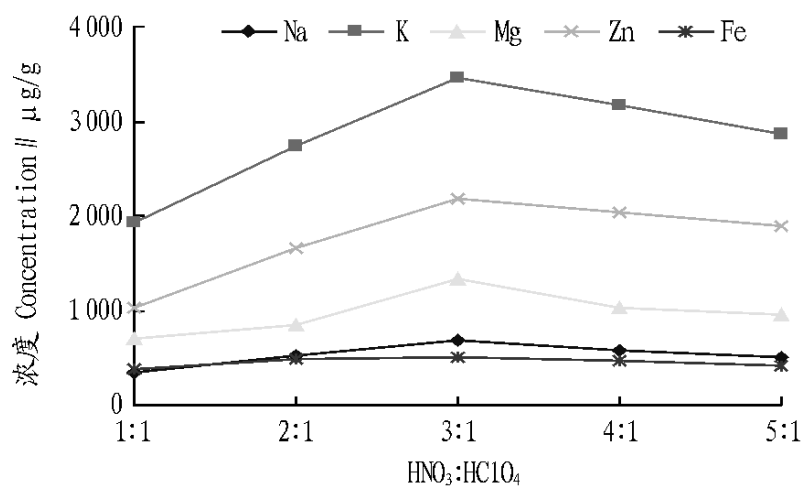


图1 HNO_3 和 HClO_4 不同混合比例对消化效果的影响

Fig.1 Influences of different mixing proportion of HNO_3 and HClO_4 on the digesting effect

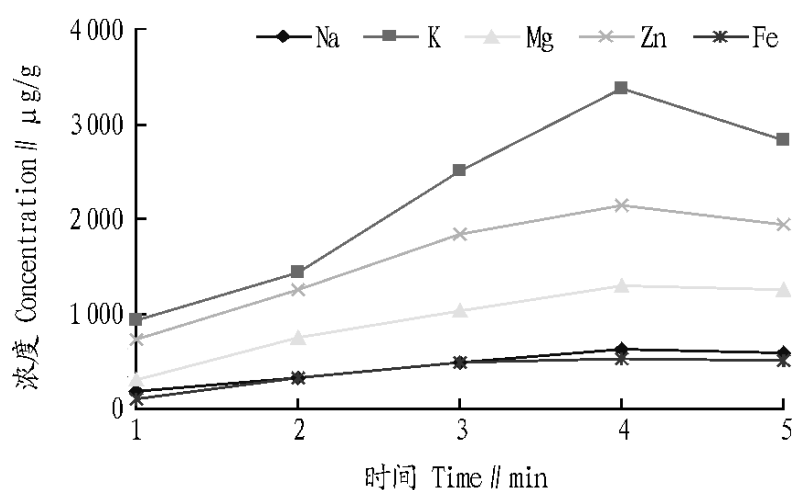


图2 消化时间对消化效果的影响

Fig.2 Influences of the digesting time on the digesting effect

表5 加标回收率和精密度

Table 5 The recovery of standard addition and the precision

元素 Element	样品含量 Sample content $\mu\text{g/g}$	加入量 Addition amount $\mu\text{g/g}$	回收量 Reclaimed quantity $\mu\text{g/g}$	回收率 Recovery %	标准偏差 Standard deviation %
Na	0.68	1.00	1.65	97.0	2.6
K	3.31	1.25	4.61	104.0	1.8
Ca	0.27	2.00	2.33	103.0	4.8
Mg	1.25	2.50	3.67	96.8	2.7
Fe	0.43	2.50	2.98	102.0	2.9
Zn	1.87	3.00	5.01	104.7	3.3
Cu	0.21	2.00	2.14	96.5	4.5
Mn	0.54	1.50	1.97	95.3	2.9
Gr	0.14	2.00	2.21	103.5	1.8
Co	0.37	2.00	2.28	95.5	3.2

2.4 样品的测定结果 按表1 的工作条件, 分别测定了各样品溶液中 10 种元素的吸光度值, 用标准曲线法定量, 测定结果列于表6。

3 结论与讨论

(1) 通过对样品处理条件的优化及测定条件的优化, 找到了苜蓿微量元素准确、灵敏的测定方法。该研究采用 $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ 混酸体系 (3:1) 作消化液, 混合酸加热消化 4 min 可

以达到最佳消化效果,各元素在试验范围内,加标回收率和精密度较好,加标回收率达 95%~105%,相对标准偏差(RSD)小于5%。

表6 苜蓿叶片中微量元素的光谱测定结果

Table 6 The spectrum determination results of trace elements in alfalfa leaves

元素 Element	公农1号 Gongnong No.1	中苜1号 Zhongmu No.1	美国Phabulous Phabulous of USA	美国GoldenEmpress GoldenEmpress of USA
Na	879.35	692.80	515.35	506.28
K	3870.65	2977.31	3034.13	3508.66
Ca	5684.73	4692.55	5538.14	6307.18
Mg	1649.98	1537.26	1254.90	967.84
Fe	454.33	387.66	334.57	306.49
Zn	2752.16	2635.19	2337.80	1935.42
Cu	84.36	59.53	67.77	131.45
Mn	297.54	243.93	260.30	384.56
Cr	19.17	3.78	4.35	8.28
Co	214.78	94.35	105.37	257.86

注:表中数据为5次测定的平均值。

Note: The data are the average values for 5 times of determination.

(2) 从测定结果可知,苜蓿叶片中人体所需的微量元素含量丰富,苜蓿各品种微量元素含量均表现为 $Ca > K > Zn > Mg > Na > Fe > Mn > Co > Cu > Cr$; 不同品种间,Na、Mg、Fe 和 Zn 含量为公农1号 > 中苜1号 > 美国 Phabulous > 美国 GoldenEmpress; Ca、Cu、Mn 和 Co 含量为美国 GoldenEmpress > 公农1号 > 美国 Phabulous > 中苜1号; K 和 Cr 的含量为公农1号 > 美国 GoldenEmpress > 美国 Phabulous > 中苜1号。

(3) 与普通叶菜类蔬菜相比^[5],苜蓿叶片中 Ca、Zn、Mg、Fe 和 Mn 含量较高。Ca 既可以促进骨骼和体格发育,还可以加强大脑表层的抑制过程,调节兴奋和抑制过程的平衡失调,

还有消炎、消肿抗过敏作用以及解毒作用,并与高血压呈负相关^[6]。Zn 参与人体内糖的代谢,能促进胰岛素元转变为胰岛素,并延长胰岛素的作用^[7]。Zn 参与体内100多种酶的合成^[8],缺乏锌可降低有关酶的活性而影响人体生长发育、免疫防卫、创伤愈合和生殖生育等生理功能。动物实验表明,人体内若长期缺 Mg 有可能导致染色体突变,而此种突变会诱发肿瘤,缺 Mg 可能会使免疫功能降低,使肿瘤细胞得以迅速增殖^[9]。Fe 是血红蛋白和肌红蛋白的核心部分,缺 Fe 容易导致贫血,引起氧的运输和储存不足。Mn 是多种酶的组成成分,参与人体糖和脂肪代谢。同时,苜蓿叶片中含有大量的 K,有利于降低血压,减少心血管疾病,促进糖类代谢。

开发功能性食品将是21世纪食品开发的重要领域,随着对苜蓿营养物质研究的不断深入,加之苜蓿的产量高、抗逆性强、种植面积大和资源充足,苜蓿叶片深度开发利用具有广阔的发展前景。

参考文献

- [1] 王爱国,曹宏.利用生物技术育种促进苜蓿产业发展[J].草业科学,2007,24(4):67-69.
- [2] 韩雪松,张玉发,吕会刚.我国苜蓿产业化发展现状与问题[J].草业科学,2002,19(2):29-30.
- [3] 王彦华,王成章,史莹华,等.苜蓿多糖的研究进展[J].草业科学,2007,24(4):50-53.
- [4] 张东杰,冯昆.苜蓿多糖抗肿瘤活性初探[J].中国食品学报,2006,6(6):40-42.
- [5] 韩金土,刘彦明,王辉.原子吸收光谱法测定清热解毒类中草药中的11种微量元素[J].光谱学与光谱分析,2006,26(10):1931-1934.
- [6] 王元忠,李淑斌,郭华春,等.大百合中微量元素测定的研究[J].光谱学与光谱分析,2007,27(9):1854-1857.
- [7] 张薇,张卓勇,施燕支,等.火焰原子吸收光谱法测定山药中多种微量元素[J].光谱学与光谱分析,2006,26(5):963-965.
- [8] 孙瑞霞,周玲妹,薛万刚,等.原子吸收光谱法测定中成药中微量元素[J].光谱学与光谱分析,2002,22(5):853-855.
- [9] 刘彦明,王辉,韩金土,等.原子吸收光谱法测定抗肿瘤中成药中微量元素[J].光谱学与光谱分析,2006,26(9):1728-1731.

参考文献

- [1] 杜文明,徐克涵.银杏的营养和药用价值[J].河北林业科技,2002(3):48.
- [2] 黄力.银杏汁的加工技术[J].果蔬加工,2004(3):34.
- [3] 陈华,李艳,赵松林.超临界流体萃取技术及其在油脂加工中的应用[J].现代农业科技,2008(1):227-229.
- [4] 马玉花,赵忠.超临界CO₂流体萃取杏仁油工艺研究[J].农业工程学报,2007,23(4):272-275.
- [5] 张慧敏,孙容芳,于同泉,等.超临界二氧化碳法萃取杏仁油的研究[J].中国粮油学报,2001,16(1):32-35.
- [6] 王钦德,杨坚.食品试验设计与统计分析[M].北京:中国农业大学出版社,2003.
- [7] 赵思明.食品科学与工程中的计算机应用[M].北京:化学工业出版社,2005.
- [8] 王永菲.响应面法的理论及应用[J].中央民族大学学报,2005,14(3):236-237.
- [9] LIN Y L. Response surface methodology to supercritical fluids extraction of atenisirin and the effects on rat hepatic stellate cell in vitro[J]. J of Supercritical Fluids, 2006, 39: 48-53.
- [10] KALL N. Effect of system variables involved in packed column supercritical fluid chromatography of stavudine taken as model analyse using response surface methodology along with study of the hydrodynamic parameters[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 43: 471-480.

(上接第12117页)

5.6%的误差,说明回归方程的预测值与试验值之间具有较好的拟合度。

3 结论

采用超临界流体萃取技术,以单因素试验和正交试验相结合的方法,以银杏油得率为衡量指标,利用 Design Expert 6.1.1 响应面分析软件进行响应值分析、二次多元回归拟合,然后进行方差分析,从而对回归方程进行显著性检验,可以得出因素一次项(B、C)、二次项(A²、B²、C²)、交互项(AB、AC)对结果影响是非常显著的,但一次项A及交互项(BQ)对结果影响不显著(P>0.05)。进一步对设计进行优化,得到的回归方程为: $1.0/\sqrt{\text{出油率}} = 0.39 + 0.007848A - 0.038B + 0.031C + 0.13A^2 + 0.079B^2 + 0.11C^2 + 0.11AB - 0.11AC$,经优化得出最优条件为:萃取温度43.5、萃取压力27 Mpa、原料粒度40目,此时可得最大萃取率为7.188%,研究结果为下一步综合、无毒、高效地开发利用银杏奠定了基础。