

引用格式:

贺为毅, 王葵, 彭晓赟, 黄明春, 萧浪涛, 刘登友, 王若仲. 邻二氮菲分光光度法测定稻米中的植酸含量[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(3): 377–382.

HE W Y, WANG K, PENG X Y, HUANG M C, XIAO L T, LIU D Y, WANG R Z. Determination of phytic acid content in rice by 1,10-phenanthroline spectrophotometry[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2023, 49(3): 377–382.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



邻二氮菲分光光度法测定稻米中的植酸含量

贺为毅^{1,2}, 王葵^{1,2}, 彭晓赟^{1,2}, 黄明春⁴, 萧浪涛^{1,2}, 刘登友³, 王若仲^{1,2*}

(1.湖南农业大学生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2.植物激素与生长发育湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128; 3.湖南农业大学化学与材料学院, 湖南 长沙 410128; 4.湖南省衡阳县农业农村局, 湖南 衡阳 421200)

摘 要:建立了一种邻二氮菲分光光度法测定稻米植酸含量的方法:加入过量 Fe^{3+} 与植酸生成 4 : 1 $\text{PA}(\text{Fe})_4$ 沉淀,再利用盐酸羟胺将剩余 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,以邻二氮菲为显色剂,采用分光光度法定量检测 Fe^{2+} ,从而实现对稻米植酸含量的检测。对测定体系的 pH 和反应时间进行优化,分析无机磷酸对植酸含量测定的影响,验证方法的重复性和精确度。结果表明:在溶液 pH 为 2.5、反应时间为 30 min 条件下,可准确测定的植酸浓度为 $6.7 \times 10^{-7} \sim 2.5 \times 10^{-5}$ mol/L,低浓度和高浓度植酸测定工作曲线的 R^2 均大于 0.99;无机磷酸浓度低于 2.0×10^{-5} mol/L 时,游离的无机磷酸对植酸检测无影响;对 $6.7 \times 10^{-7} \sim 2.5 \times 10^{-5}$ mol/L 的标准样品进行 5 次平行试验,回收率为 93.30%~104.67%,RSD 为 1.25%~7.34%。利用该方法测定的黄华占、金穗 408、Kitaake、日本晴等 4 个品种的稻米植酸含量分别为 5.42、4.72、6.40、5.68 mg/g, RSD 为 1.23%~7.60%。

关 键 词: 稻米; 植酸; 分光光度法; 邻二氮菲

中图分类号: TS207.3; O657.32

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2023)03-0377-06

Determination of phytic acid content in rice by 1,10-phenanthroline spectrophotometry

HE Weiyi^{1,2}, WANG Kui^{1,2}, PENG Xiaoyun^{1,2}, HUANG Mingchun⁴,
XIAO Langtao^{1,2}, LIU Dengyou³, WANG Ruozhong^{1,2*}

(1.College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.Hunan Provincial Key Laboratory of Phytohormones and Growth Development, Changsha, Hunan 410128, China; 3.School of Chemistry and Materials Science, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 4.Agriculture and Rural Bureau of Hengyang County, Hengyang, Hunan 421200, China)

Abstract: In this study, a 1, 10-phenanthroline spectrophotometry for the determination of phytic acid content in rice was established. The protocol included three steps, first add excess Fe^{3+} and phytic acid to form 4 : 1 $\text{PA}(\text{Fe})_4$ precipitation, then use hydroxylamine hydrochloride to reduce the remaining Fe^{3+} to Fe^{2+} , after that use 1,10-phenanthroline as a color developer to quantitatively detect Fe^{2+} by spectrophotometry, and finish the detection of phytic acid content in rice. The pH and reaction time of the determination system was optimized, and analyze the effect of inorganic phosphoric acid on the determination of phytic acid content, the reproducibility and accuracy of the method were verified. The results showed that the phytic acid concentration could be accurately determined in the range of $6.7 \times 10^{-7} \sim 2.5 \times 10^{-5}$ mol/L under the pH 2.5 and reaction time was 30 min, and the R^2 of the working curves for the determination of phytic acid at low and

收稿日期: 2022-02-10

修回日期: 2023-06-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31871714、31671777); 湖南省教育厅项目(19A221)

作者简介: 贺为毅(1996—), 男, 湖南长沙人, 硕士研究生, 主要从事植物生理学研究, 398809194@qq.com; *通信作者, 王若仲, 博士, 教授, 主要从事植物生理学研究, wangruozhong@hunau.edu.cn

high concentrations were greater than 0.99. The free inorganic phosphate did not affect the detection of phytic acid when the inorganic phosphate concentration was lower than 2.0×10^{-5} mol/L. The recoveries were 93.30%-104.67% and the RSD of 1.25%-7.34% for five parallel tests on standard samples of 6.7×10^{-7} - 2.5×10^{-5} mol/L. The phytic acid contents of the rice of four varieties, including Huanghuazhan, Jinsuo408, Kitaake and Nipponbare, determined by this method were 5.42, 4.72, 6.40, 5.68 mg/g, the RSD were 1.23% to 7.60%.

Keywords: rice; phytic acid; spectrophotometry; 1,10-phenanthroline

植酸又名肌醇六磷酸, 含有 6 个磷酸基团, 呈强酸性, 是植物体内重要的含磷化合物之一^[1]。成熟的植物种子或营养体中约 60% ~ 80% 的有机磷以植酸和植酸盐的形式存在。植酸作为强螯合剂, 可与植物中的铁、锌、钙等金属阳离子形成稳定的植酸盐^[2]。种子萌发过程中, 植酸盐在植酸酶作用下释放出磷离子和低磷酸肌醇供给胚发育和幼苗生长^[3], 且此过程中的物质代谢和能量转化均与磷、含磷有机物密切相关, 如 DNA 合成、细胞膜磷脂双分子层的形成^[4]。此外, 植酸还为植物生长发育提供营养, 参与 mRNA 转运, 与 Gle 蛋白协同将 mRNA 由细胞核内向核外转运, 响应逆境胁迫, 调节磷信号转导, 促进内环境的稳态, DNA 修复和种子发育等^[5]。

植酸的检测方法主要有滴定法、高效液相色谱法、分光光度法、离子色谱法等。滴定法主要有三氯化铁滴定法^[6]和硝酸钍滴定法^[7], 滴定法操作简单, 但其滴定终点难以掌握, 对操作的熟练度要求高, 且精密度低。高效液相色谱法^[8]检测灵敏度高, 但所需仪器设备昂贵, 检测成本高, 且强酸性的植酸易腐蚀检测体系。离子色谱法^[9]对使用的树脂要求过高, 洗脱过程繁琐。分光光度法主要有磺基水杨酸铁比色法^[10], 因其能实现快速测定而被广泛采用, 但其灵敏度尚有待提高。邻二氮菲作为显色剂, 其摩尔吸光系数是磺基水杨酸的近 2 倍^[11], 且用邻二氮菲分光光度法测定 Fe^{2+} 具有高灵敏性和好的线性范围^[12]。植酸与 Fe^{3+} 定量反应生成沉淀, $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 具有良好的可逆性, 还原剂能将 Fe^{3+} 迅速还原为 Fe^{2+} 。为了进一步提高分光光度法测定植酸的灵敏度, 笔者从显色剂的选择上开展相关研究, 通过加入适度过量且已知浓度的 Fe^{3+} 标准溶液与植酸生成 $4:1\text{PA}(\text{Fe})_4$ 沉淀, 离心去除沉淀后, 再以盐酸羟胺为还原剂将剩余 Fe^{3+} 迅速还原为 Fe^{2+} , 采用邻二氮菲分光光度法测其剩余的 Fe^{2+} , 从而实现对植酸的定量检测。笔者还对测定体系的 pH 和反应时间进

行优化, 分析无机磷酸对植酸含量测定的影响, 验证方法的重复性和精确度, 最后将该法应用于测定稻米样品中的植酸含量。

1 材料与方法

1.1 材料

供试水稻种子有黄华占、金穗 408、Kitaake、日本晴。

主要试剂有 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、植酸钠、0.15 g/L 邻二氮菲溶液、1.0 mol/L 乙酸钠、0.1 mol/L 盐酸羟胺、0.5 mol/L 硫酸钠。

主要仪器有 SPARK 型多功能酶标仪(瑞士 Tecan)、AUX220 型分析天平(日本 SHIMADZU)、FE28 型 pH 计(瑞士 METTLER TOLEDO)。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制

1.0×10^{-3} 、 1.0×10^{-2} mol/L Fe^{3+} 标准溶液的配制: 分别称取 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 0.100 0、1.000 0 g 于烧杯中, 用去离子水溶解, 再加入 1.0 mL 浓硫酸, 最后定容至 500 mL, 配制成浓度为 1.0×10^{-3} 、 1.0×10^{-2} mol/L 的 Fe^{3+} 标准储备液, 于 4 °C 冰箱保存, 备用。

1.0×10^{-3} mol/L 植酸标准溶液的配制: 称取植酸钠 0.461 9 g 于烧杯中, 用去离子水溶解后定容至 500 mL, 配制成浓度为 1.0×10^{-3} mol/L 的标准溶液, 于 4 °C 冰箱保存, 备用。

1.2.2 邻二氮菲分光光度法测定 Fe^{3+} 浓度

本研究要建立的方法是通过测定 Fe^{3+} 含量, 从而间接计算出植酸含量, 考查 Fe^{3+} 的浓度(C)与吸光度值(A)的线性关系是准确测定 Fe^{3+} 浓度的基础。取 8 支 10 mL 试管, 其中 4 支试管分别加入 6、18、30、300 μL 的 1.0×10^{-3} mol/L 的 Fe^{3+} 标准溶液, 另 4 支试管分别加入 60、90、300、480 μL 的 1.0×10^{-2} mol/L 的 Fe^{3+} 标准溶液, 使 Fe^{3+} 终浓度为 2.0×10^{-6} 、

6.0×10^{-6} 、 1.0×10^{-5} 、 1.0×10^{-4} 、 2.0×10^{-4} 、 3.0×10^{-4} 、 1.0×10^{-3} 、 1.6×10^{-3} mol/L, 每支试管再依次加入 0.1 mL 盐酸羟胺、1.0 mL 乙酸钠、1.5 mL 邻二氮菲溶液, 用去离子水定容至 3.0 mL, 反应 25 min 后于 510 nm 波长下测定其 A。

1.2.3 植酸测定的 pH 值和反应时间的优化

pH 值影响 Fe^{3+} 和植酸的存在形态, 从而干扰植酸的准确检测。pH 值低, 会导致 H^+ 与 Fe^{3+} 竞争植酸, 从而抑制 Fe^{3+} 与植酸的结合; pH 值高, 会导致 Fe^{3+} 水解。设不添加植酸(空白组)和添加植酸(植酸组)共 2 组进行 pH 值优化试验。每组选取 7 支 10 mL 离心管, 分别加入 3.0 mL 1.0×10^{-3} mol/L 标准 Fe^{3+} 溶液, 并分别将溶液 pH 值调为 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0, 植酸组的另加入 0.5 mL 1.0×10^{-3} mol/L 植酸钠标准溶液, 2 组样品均定容至 5.0 mL; 反应 30 min 后, 4000 r/min 离心 5 min; 2 组均取 2.0 mL 上清液于 10 mL 试管中, 依次加入 1.0 mL 盐酸羟胺、5.0 mL 乙酸钠、1.0 mL 邻二氮菲溶液, 定容至 9.0 mL, 25 min 后于在 510 nm 波长下分别测定 A。

Fe^{3+} 与植酸反应时间影响其沉淀的生成和吸附。配制 3 组浓度为 1.0×10^{-3} mol/L 的 Fe^{3+} 溶液, 每份溶液均加入 Na_2SO_4 溶液 25 μL , 再分别加入 1.0×10^{-6} 、 2.0×10^{-6} 、 6.0×10^{-6} 、 8.0×10^{-6} 、 2.0×10^{-5} 、 2.5×10^{-5} mol/L 标准植酸钠溶液, 分别设置 10、30、60 min 等 3 个 Fe^{3+} 与植酸反应时间, 达到反应时间后 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液 1.0 mL, 加入 0.5 mL 盐酸羟胺、1.0 mL 乙酸钠、0.5 mL 邻二氮菲溶液, 定容至 3.0 mL, 静置 25 min 后取 150 μL 溶液测定 A, 并计算 Fe^{3+} 与植酸反应的摩尔比。

1.2.4 植酸测定

根据 1.2.3 的结果, 最终确定植酸测定的方法如下: 在离心管中加入 300 μL 1.0×10^{-3} mol/L Fe^{3+} 标准液, 加入 25 μL 0.5 mol/L Na_2SO_4 后用去离子水定容至 2950 μL , 用 1.0 mol/L 乙酸钠将 pH 调至 2.5, 加入 50 μL 待测液反应 30 min 后, 4000 r/min 离心 5 min; 取上清液 1.0 mL 依次加入 0.5 mL 0.1 mol/L 盐酸羟胺、1.0 mL 1 mol/L 乙酸钠、0.5 mL 0.15 g/L 邻二氮菲溶液, 静置 25 min 后, 在 510 nm 波长下测其 A。将光度值代入工作曲线, 计算出植酸浓度。

1.2.5 磷酸根干扰的测定

种子中存在游离的磷酸根^[13], 在 pH 为 2.5 的环境中, 磷酸根主要以 H_2PO_4^- 、 H_3PO_4 形式存在^[14]。测种子的植酸含量时, 为避免磷酸根的干扰, 在测定时将植酸替换成磷酸二氢钠溶液进行试验, 以明确其干扰情况。在离心管中加入 168 μL 1.0×10^{-3} mol/L Fe^{3+} 标准液, 再分别加入 0、10、30、60、90、120 μL 的 1×10^{-3} mol/L 磷酸二氢钠溶液, 用去离子水定容至 3.0 mL, 使磷酸二氢钠的浓度分别为 0.0、 3.3×10^{-6} 、 1.0×10^{-5} 、 2.0×10^{-5} 、 3.0×10^{-5} 、 4.0×10^{-5} mol/L; 反应 30 min 后, 取上清液 1.0 mL, 依次加入 0.5 mL 盐酸羟胺、1.0 mL 乙酸钠、0.5 mL 邻二氮菲溶液, 定容至 3.0 mL; 反应 25 min 后, 分别测定 A。

1.2.6 工作曲线的绘制

不同浓度的未知植酸与 Fe^{3+} 所产生沉淀的量有所不同, 且沉淀吸附作用的影响大, 故针对低浓度和高浓度的植酸测定需要分别绘制低浓度和高浓度的工作曲线。

高浓度工作曲线的绘制: 分别准确吸取 1.0×10^{-3} mol/L 的 Fe^{3+} 标准溶液 300 μL 于 6 支离心管中, 加入 25 μL 0.5 mol/L Na_2SO_4 , 调节 pH 值至 2.5, 再分别吸取 1.0×10^{-3} mol/L 植酸标准溶液 6.0、12.0、45.0、60.0、75.0 μL 于 6 支离心管中, 用去离子水定容至 3.0 mL, 使植酸的浓度分别为 1.0×10^{-6} 、 5.0×10^{-6} 、 1.5×10^{-5} 、 2.0×10^{-5} 、 2.5×10^{-5} mol/L; 反应 30 min 后, 4000 r/min 离心 5 min; 取上述 6 支离心管中的上清液 1 mL, 依次加入 0.5 mL 0.1 mol/L 盐酸羟胺、1.0 mL 1 mol/L 乙酸钠、0.5 mL 0.15 g/L 邻二氮菲, 静置 25 min 后, 在 510 nm 波长下测其 A; 以植酸浓度(mol/L)为横坐标, A 为纵坐标绘图, 得到高浓度植酸测定工作曲线。

低浓度工作曲线的绘制: 1.0×10^{-3} mol/L 的 Fe^{3+} 标准溶液用量为 90 μL , 1.0×10^{-3} mol/L 植酸标准溶液用量分别为 0.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 μL , 使植酸的浓度分别为 0.0、 6.7×10^{-7} 、 1.0×10^{-6} 、 1.3×10^{-6} 、 1.6×10^{-6} 、 2.0×10^{-6} mol/L。其他均同高浓度工作曲线绘制。

1.2.7 重复性及精确度试验

选取植酸浓度为 6.7×10^{-7} 、 1.0×10^{-6} 、 1.3×10^{-6} 、

1.6×10^{-6} 、 2.0×10^{-6} 、 1.5×10^{-5} 、 2.0×10^{-5} 、 2.5×10^{-5} mol/L 的系列标准溶液,按照 1.2.4 的方法进行 5 次平行试验,确定方法的重复性及精确度。

1.2.8 水稻种子样品植酸含量的测定

取黄华占、金穗 408、Kitaake、日本晴等健康饱满的水稻种子各 100 粒,将种子脱壳加液氮研磨成粉末;每样品称取 0.500 0 g 于离心管中(3 次重复),每管样品加入 10.0 mL 10% Na_2SO_4 的 1.2% HCl 溶液浸提 2 h, 4000 r/min 离心 30 min, 取上清液于 4°C 冰箱静置 12 h; 取提取液 2.0 mL 置于 10 mL 玻璃试管, 加入 15% TCA 溶液 2.0 mL, 混匀, 于 4°C 冰箱静置 2 h 后, 4000 r/min 离心 30 min, 取上清液 2.0 mL, 用 0.75 mol/L NaOH 调 pH 值为 6.0~6.5,

放入 4°C 冰箱冷藏, 待用。采用 1.2.4 的邻二氮菲分光光度法测定植酸含量。

2 结果与分析

2.1 邻二氮菲分光光度法测定 Fe^{3+} 浓度时 Fe^{3+} 浓度与吸光度值的线性关系

由图 1 可知, Fe^{3+} 浓度为 $2.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol/L 时, Fe^{3+} 还原后的溶液符合朗伯-比尔定律, Fe^{3+} 浓度与吸光度值呈现较好的线性关系, 线性回归方程为 $A=3620.1C+0.043$, $R^2=0.9999$ 。可见, 邻二氮菲分光光度法间接测定 Fe^{3+} 浓度具有稳定性强、线性范围宽、检测限(2.0×10^{-6} mol/L)低且操作简单等优点。

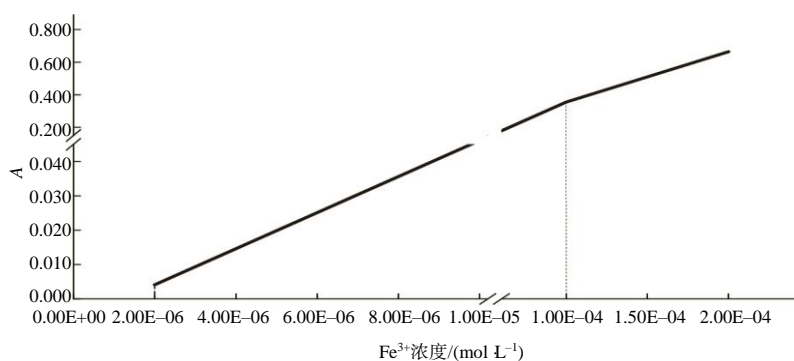


图 1 邻二氮菲分光光度法测 Fe^{3+} 浓度时溶液的吸光度值

Fig.1 A value of the solution of Fe^{3+} concentration measured by 1,10-phenanthroline spectrophotometry

2.2 植酸测定条件的优化结果

2.2.1 pH 值

从图 2 可知, 空白组的 A 值先随 pH 增大而增大, pH 3.0 左右时, A 值急剧下降, 说明 Fe^{3+} 与 OH^- 生成沉淀, 导致 Fe^{3+} 浓度急剧下降。由于 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 的 K_{sp} 为 2.8×10^{-39} , Fe^{3+} 浓度最高时为 1.1×10^{-4} mol/L,

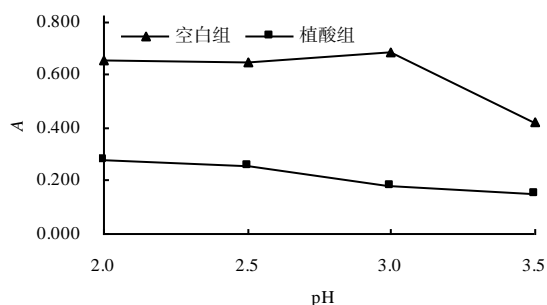


图 2 不同 pH 下 Fe^{3+} 与植酸反应后溶液的吸光度值

Fig.2 A value of the reaction solution between Fe^{3+} and phytic acid under different pH

由此计算出 Fe^{3+} 溶液的 pH 值大于 2.14 时即开始产生 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 。因为离子强度等因素影响离子活度, 实际 pH 3.0 左右时才急剧沉淀。而植酸组则是在 pH 2.5 时明显下降。上述结果表明, 随 pH 增大 A 值减少, Fe^{3+} 与植酸反应的适宜 pH 为 2.5。

2.2.2 植酸与 Fe^{3+} 的反应时间

从图 3 可知, 不同浓度植酸与 Fe^{3+} 反应时间为 30 min 时, 摩尔比波动较小, 即反应达到平衡, Fe^{3+} 与植酸的摩尔比能够稳定在 4:1 左右; 反应时间为 10 min 时, 由于 Fe^{3+} 与植酸反应不够充分, 在测定较低浓度的植酸时, 铁与植酸的摩尔比存在偏差; 反应时间为 60 min 时, 由于时间过长, 植酸与铁产生的沉淀对溶液中剩余的 Fe^{3+} 具有一定的吸附作用, 导致摩尔比升高; 因此, 选择植酸与 Fe^{3+} 的反应时间为 30 min。

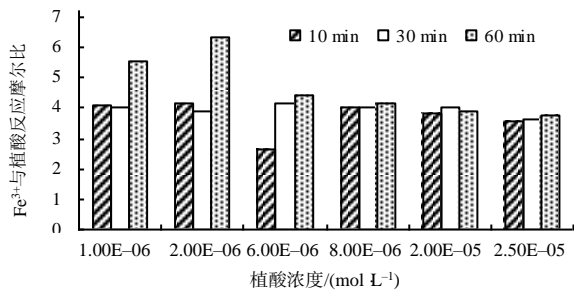


图 3 不同反应时间下的 Fe³⁺与植酸反应的摩尔比

Fig.3 Molar ratio of Fe³⁺ to phytic acid reaction at different reaction times

2.3 磷酸根对植酸测定的影响

由图 4 可知,当无机磷酸浓度低于 2.0×10^{-5} mol/L 时,游离无机磷酸对植酸含量的检测无影响。一般情况下,大多数植物种子的无机磷酸质量分数为 0.06~0.32 mg/g,换算成测量时的浓度为 $6.32\times10^{-7}\sim3.37\times10^{-6}$ mol/L^[13],均低于 2.0×10^{-5}

mol/L。可见,用该方法测定种子中植酸含量时,无机磷酸的影响可忽略不计。

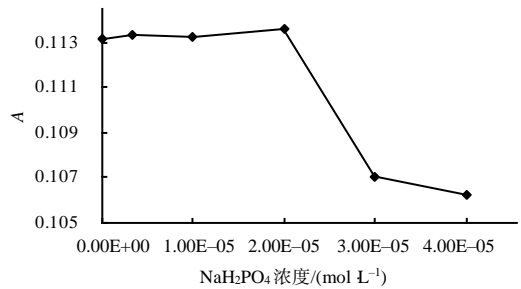


图 4 不同浓度磷酸根与 Fe³⁺反应后溶液的吸光度值

Fig.4 A value for the reaction solution of different concentrations of PO₄³⁻ with Fe³⁺

2.4 植酸测定工作曲线

由图 5 可知,植酸浓度为 $6.7\times10^{-7}\sim2.5\times10^{-5}$ mol/L 时,与吸光度存在良好的线性关系,2 段工作曲线的 R^2 均大于 0.99。

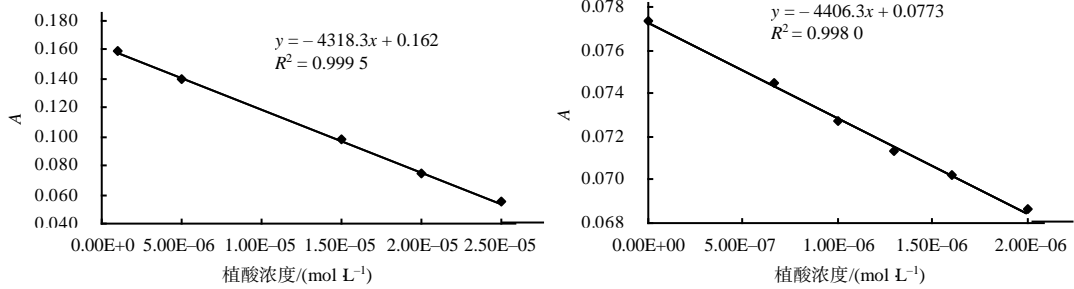


图 5 低浓度和高浓度植酸测定工作曲线

Fig.5 Standard curves for the determination of low and high concentrations of phytic acid

2.5 方法的重复性及精确度

由表 1 可知,按最优试验方法对系列标准样品进行 5 次平行试验,回收率为 93.30%~104.67%,

RSD 为 1.25%~7.34%,表明该方法具有良好的重复性和精确度。

表 1 重复性及精确度试验结果

植酸添加量/ (mol L ⁻¹)	植酸测量值/(mol L ⁻¹)						回收率/%	RSD/%
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 4 次	第 5 次	平均值		
6.70E-07	6.64E-07	7.56E-07	6.64E-07	6.41E-07	6.87E-07	6.82E-07	101.79	5.80
1.00E-06	9.40E-07	9.17E-07	1.01E-06	9.17E-07	8.82E-07	9.33E-07	93.30	4.57
1.30E-06	1.34E-06	1.33E-06	1.28E-06	1.47E-06	1.20E-06	1.32E-06	101.54	6.68
1.60E-06	1.48E-06	1.56E-06	1.60E-06	1.74E-06	1.81E-06	1.64E-06	102.50	7.34
2.00E-06	2.11E-06	2.06E-06	2.04E-06	2.08E-06	1.97E-06	2.05E-06	102.50	2.29
1.50E-05	1.60E-05	1.59E-05	1.50E-05	1.58E-05	1.56E-05	1.57E-05	104.67	2.28
2.00E-05	2.07E-05	2.09E-05	2.09E-05	2.08E-05	2.02E-05	2.07E-05	103.50	1.25
2.50E-05	2.54E-05	2.51E-05	2.52E-05	2.48E-05	2.60E-05	2.53E-05	101.20	1.58

2.6 供试稻米的植酸质量分数测定结果

由表2可知, Kitaake的植酸质量分数最高, 达6.40 mg/g; 日本晴的其次, 为5.68 mg/g, 金穗408的最低, 为4.72 mg/g, RSD为1.23%~7.60%。

表2 稻米中的植酸质量分数

Table 2 Measurement results of rice

样品	植酸质量分数/(mg g ⁻¹)				RSD/ %
	第1次	第2次	第3次	平均值	
黄华占	5.49	5.44	5.33	5.42	1.23
金穗408	4.71	4.80	4.65	4.72	1.30
Kitaake	6.65	6.55	5.99	6.40	4.50
日本晴	6.27	5.54	5.23	5.68	7.60

3 结论与讨论

本研究中所建立的邻二氮菲分光光度法间接测定稻米植酸的最佳测定条件为 pH 2.5, 植酸与 Fe³⁺的反应时间为 30 min; 植酸浓度为 $6.7 \times 10^{-7} \sim 2.5 \times 10^{-5}$ mol/L 时, 与吸光度值呈线性关系, R^2 大于 0.99; 回收率为 93.30%~104.67%, RSD 为 1.25%~7.34%。通过磷酸干扰试验发现, 用该方法测定种子中的植酸含量时, 无机磷酸不会对测定造成干扰。

武雪芬等^[10]研究表明, 采用磺基水杨酸铁比色法测定未知植酸的最低检测浓度为 1.515×10^{-6} mol/L。本研究中, 以邻二氮菲取代磺基水杨酸而建立的邻二氮菲分光光度植酸测定方法可准确测定的植酸浓度为 $6.7 \times 10^{-7} \sim 2.5 \times 10^{-5}$ mol/L, 可见该方法的测量灵敏度较武雪芬等^[10]的更高。

利用建立的邻二氮菲分光光度植酸测定法对不同品种稻米中植酸的含量进行了测定, 测定结果为 4.72~6.40 mg/g。成熟的干种子中的植酸含量约为 1%左右, 豆类种子中植酸的含量约为 0.2%~0.9%, 大麦种子中的植酸含量约为 3 mg/g^[15]。可见, 本研究的测定结果均符合种子植酸含量范围。RSD 为 1.23%~7.60%, 重复性好。可见, 本研究中所建立的邻二氮菲分光光度法适宜于植物样品中低含量植酸的测定。

参考文献:

- [1] LI G E, KONG W L, WU X Q, et al. Phytase-producing *Rahnella aquatilis* JZ-GX1 promotes seed germination and growth in corn(*Zea mays* L.)[J]. Microorganisms, 2021, 9(8): 1647.
- [2] 张倩雯, 丁广大, 王效华, 等. 植物种子植酸研究进展[J]. 植物科学学报, 2016, 34(5): 814-820.
- [3] BALABAN N P, SULEIMANOVA A D, VALEEVA L R, et al. Microbial phytases and phytate: exploring opportunities for sustainable phosphorus management in agriculture[J]. American Journal of Molecular Biology, 2017, 7(1): 11-29.
- [4] SPARVOLI F, COMINELLI E. Seed biofortification and phytic acid reduction: a conflict of interest for the plant?[J]. Plants, 2015, 4(4): 728-755.
- [5] ALKARAWI H, AL-MUSAIFER M, ZOTZ G. Phytate in seeds of wild plants[J]. Flora, 2018, 244/245: 15-18.
- [6] 王国蓉, 万文贵, 王丽, 等. 三氯化铁滴定法测定植酸含量方法的优化及改进研究[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 188-190.
- [7] 刘巧茹, 石起增, 董文举. 硝酸钍法测定植酸含量方法的校正[J]. 平顶山学院学报, 2006, 21(5): 38-40.
- [8] 扈战强, 胡贤巧, 方长云, 等. 固相萃取高效液相色谱测定粮食类作物中植酸含量方法: CN201910872196.6 [P]. 2019-12-20.
- [9] 贾鹏禹, 申书昌, 郑连忠. 离子色谱法测定米糠中植酸含量[J]. 齐齐哈尔大学学报, 2009, 25(1): 82-84.
- [10] 武雪芬, 李玉贤, 李桂兰. 利用植酸对磺基水杨酸铁的脱色作用比色法测定植酸含量[J]. 河南科学, 1996, 14(1): 50-52.
- [11] 范为群. 分析化学[M]. 银川: 宁夏人民教育出版社, 2018.
- [12] 侯芳, 郑伟. 邻二氮菲法测铁的实验改进[J]. 广州化工, 2019, 47(8): 134-136.
- [13] 李巍, 邓坤, 张联合, 等. 不同品种小麦幼苗利用种子磷差异[J]. 山东农业科学, 2013, 45(11): 80-83.
- [14] 倪静安, 商少明, 翟滨. 无机及分析化学教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [15] 靳晓琳, 王新坤, 杨润强, 等. 高等植物体中植酸合成、代谢及其生理作用[J]. 植物生理学报, 2014, 50(6): 711-716.

责任编辑: 邹慧玲
英文编辑: 柳 正