

大豆中植酸的快速测定法*

吕耀昌

(中国农业科学院作物品种资源研究所)

摘 要

为了筛选分析大豆中的植酸,研究了不用纯化分离的快速测定法。方法原理基于大豆中植酸和酸溶性磷间存在的高度线性相关关系。16个大豆定标样品的相关系数和标准差分别是0.992和0.24。对10个测算样品所进行的配对法检验表明快速测定法能够生成与离子交换法相一致的结果。

关键词 大豆;植酸;快速测定

在中性和高pH值时,植酸(肌醇六磷酸)与所有不同的多价阳离子形成难溶的复合物,因而降低了包括锌在内的几种微量元素的营养生物利用率。在一些情况下,这种妨碍肠内阳离子的吸收可能导致动物和人体内无机物的缺乏。植酸还能抑制消化酶,如蛋白酶、 α -淀粉酶、脂肪酶的活性,影响动物和人体对蛋白质等营养元素的吸收。由于大豆籽粒中植酸含量较高,因此有必要建立一种简便、快速和准确可靠的植酸测定方法。据国内外文献报导,现在最常用的植酸测定方法有铁沉淀法^[3,4]、阴离子交换法^[5]。近年来,高效液相色谱法^[6]也引入了植酸分析领域。尽管这些方法的准确度较高,但都需要样品的制备和提纯。这些预处理步骤比较繁杂、耗时,因而难以适应大量样本的植酸测定。

Lolas(1976)^[7]曾报导大豆植酸和总磷呈高度正相关,相关系数为0.985(N=15)。由于总磷和酸溶性磷的测定比较简单,本文试图用线性回归的方法根据大豆总磷和酸溶性磷计算植酸含量,与用测量精度高的阴离子交换法所获得的植酸测定值相比较,建立适于大豆育种和资源筛选的植酸测定方法。

材 料 和 方 法

所收集的26份大豆样品由本所豆类室提供,其中16份为定标样品,10份为测算样品。所有样品均用高速离心磨粉碎,过0.5mm目筛,置干燥器内保存。用以下方法测定样

* 本文于1992年3月2日收到。
This paper was received on March 2, 1992.

品中的植酸、酸溶性磷和总磷的含量。

植酸的测定:在 50ml 具塞试管中,称入约 1.0000g 样品,加入 25ml 0.65mol/L HCl,在振荡器中振荡 2.5h。取 10ml 悬浮液于另一试管中,置沸水浴中加热 3 分钟,冷却后过滤或离心。植酸用阴离子交换法测定^[1]。

酸溶性磷的测定:取上述 1ml 样品提取液,加 10ml 0.7mol/L NaCl 溶液,3ml 浓硝酸和 0.5ml 浓硫酸,按植酸测定方式消煮、显色、测定酸溶性磷含量。

总磷的测定:称取约 0.1000g 的大豆和玉米样品于消煮管中,加 1ml 浓硫酸和 4ml 浓硝酸,消煮至管内液体呈无色透明为止。否则,冷却后再加少量硝酸,重复消煮。将消煮液转移至 25ml 容量瓶内。用水定容后,取 5ml 稀释液于 50ml 容量瓶中,按植酸测定方式显色测定。计算结果时应乘以 5(稀释倍数)以得到总磷的含量。

定标和测算:对定标样品中植酸和酸溶性磷,总磷含量分别进行线性回归计算,即定标,然后按建立的回归方程,用测算样品中的酸溶性磷或总磷计算植酸含量。定标和测算误差的计算和评价采用 Williams 提出的方法^[8]。

结果和讨论

1. 定标

表 1 列出了 16 份大豆定标样品中的植酸(PA)、酸溶性磷(Pa)和总磷(Pt)的含量,所

表 1 大豆定标样品中植酸、酸溶性磷和总磷含量(mg/g)

Table 1 The contents of phytic acid(PA), acid-soluble phosphorus (Pa) and total phosphorus(Pt) in the calibration samples of soybean (mg/g)

品 种 号 Variery No.	植 酸 PA	酸 溶 性 磷 Pa	总 磷 Pt
10537	17.16	5.71	7.04
10554	18.86	6.20	7.56
10587	17.41	5.74	7.21
10695	16.67	5.45	7.09
10696	18.94	6.19	7.60
10697	18.16	5.89	7.27
10777	18.69	5.98	7.44
10779	19.01	6.14	7.77
10786	18.69	6.12	7.61
10864	20.78	6.70	8.05
10865	16.56	5.34	6.66
10866	18.58	6.12	7.44
10933	14.40	4.89	6.06
10935	17.80	5.90	7.48
10949	17.48	5.78	7.08
黑皮青 Heipiqing	13.62	4.46	5.84

有结果均为两次平行测定的平均值。对植酸和酸溶性磷、总磷含量所作的相关散点图(图1)显示,大豆植酸的含量随着酸溶性磷、总磷的增加而增加。它们呈现高度的线性相关关系,而且植酸和酸溶性磷的线性好于植酸和总磷。经对酸溶性磷和植酸以及总磷和植酸进行的回归计算,得到了如下回归方程、相关系数(r)和定标标准差(SEC):

$$\text{酸溶磷—植酸} \quad y = -1.028 + 3.231x \quad r = 0.992 \quad SEC = 0.24$$

$$\text{总磷—植酸} \quad y = -3.582 + 2.952x \quad r = 0.978 \quad SEC = 0.38$$

此处 y 是植酸含量, x 是酸溶磷或总磷含量。相比之下,酸溶磷—植酸之间的相关系数较高而定标标准差较低,从而表明它的回归效果更好。

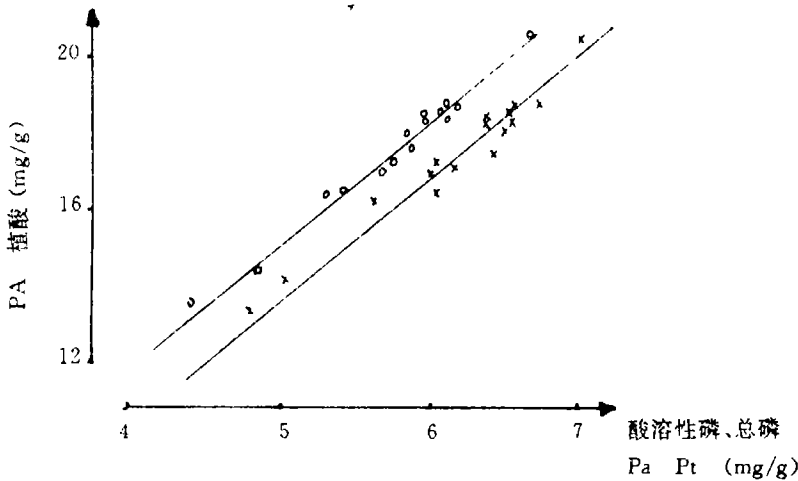


图1 大豆植酸—酸溶性磷和植酸—总磷相关散点图

○, 植酸—酸溶性磷; ×, 植酸—总磷

Fig. 1 The scatter pattern of PA—Pa and PA—Pt relation for soybean

○, PA—Pa ×, PA—Pt

2. 测算

表2列出了测算样品中酸溶性磷(Pa)、总磷(Pt)和植酸(PA)的实验值,以及用酸溶磷、总磷按相应的回归方程计算的植酸含量及百分差。植酸、酸溶磷及总磷均是两次平行测定的平均值。由表2可以看出,由酸溶磷计算的植酸计算值与植酸实测值的百分差较与用总磷计算的植酸计算值百分差为小。经计算,大豆测试样品中酸溶磷和植酸实测值的相关系数(0.979)高于总磷和植酸含量的相关系数(0.957)。而用酸溶磷按回归方程计算的植酸值和实测值的测算标准差(0.30)小于用总磷计算植酸的测算标准差(0.44)。

为了进一步表明植酸计算值的可靠性,对测算样品的植酸计算值和实测值用配对法^[2]进行显著性检验。用酸溶磷计算得到的植酸计算值和实测值之间的 $t_{\text{计算值}}$ 是 0.62, 小于样本数 $N=10$, 95% 可信度时的 $t_{\text{临界值}}$ (2.26), 从而表示用酸溶磷计算得到的植酸值和实测值一致。而用总磷计算得到的植酸值和实测值之间的 $t_{\text{计算值}}$ 为 2.50, 大于 $t_{\text{临界值}}$, 这就表明用总磷计算得到的植酸值和实测值之间差异显著, 存在系统误差。这种差异可能与大豆籽粒中主要组分如蛋白质、油脂等的干扰有关。在酸溶磷测定过程中所使用的酸液提取步骤可将酸溶磷成分和籽粒内其它成分相分离, 使消煮变得容易, 从而减少了对测定的干

扰,得到比较稳定可靠的测定结果。

表2 大豆测算样品中植酸含量的测算结果(mg/g)

Table 2 The prediction results of phytic acid in the prediction samples of soybean

品 种 号 Variety No.	酸溶性磷 Pa	总 磷 Pt	植 酸 PA	植 酸 计 算 值 PA from Formula		百 分 差 相 对 偏 差 % Diff	
				Pa-PA	Pt-PA	A	B
10558	5.92	7.47	17.94	18.10	18.47	0.9	3.0
10565	5.62	7.12	17.16	17.13	17.44	-0.2	1.6
10692	5.54	7.13	16.74	16.87	17.47	0.8	4.4
10718	5.02	6.57	15.32	15.19	15.82	-0.5	3.3
10772	6.04	7.72	18.37	18.49	19.21	0.7	4.6
10776	6.17	7.62	19.57	18.91	18.92	-3.4	-3.3
10846	5.56	7.12	16.67	16.94	17.44	1.6	4.6
10870	6.13	7.52	18.58	18.78	18.62	1.1	0.2
10936	4.82	6.33	14.75	14.55	15.11	-1.4	2.4
10946	5.74	7.34	17.98	17.52	18.09	-2.6	0.6

* A、B分别是离子交换法测得的植酸值和用公式酸溶性磷—植酸,总磷—植酸计算得到的植酸值之间的百分差。

A、B were percent difference between PA from ion-exchange and PA from formula $Pa-PA$, $Pt-PA$, respectively.

结论:大豆植酸和酸溶磷、总磷之间存在着高度的线性相关关系,因此可以用酸溶磷或总磷计算植酸含量。但是用总磷计算植酸含量的误差较大。用酸溶磷计算植酸含量的方法却具有与阴离子交换法相一致的准确度。用这种方法能省去一般植酸测定方法所必需的植酸纯化步骤,以至可节约几乎一半的测定时间。因此该法适于以育种资源筛选为目的及大样本量的植酸分析。

参 考 文 献

- [1] 吕耀昌等:1990,农作物籽粒中植酸盐离子交换方法的研究,作物品种资源,2:28
- [2] 朱清:1982,定量分析中的误差和数据评价,人民教育出版社
- [3] Thompson, D. B., and Erdman, J. W., Jr. 1982. Phytic Acid Determination in Soybean. J. Food Sci. 47: 513
- [4] Ellis, R. and Morris, R. 1982, Comparison of Ion-Exchange and Iron Precipitation Methods for Analysis of Phytate. Cereal Chem. 59(3):232
- [5] Harland, B. F., and Oberleas, D. 1986. Anion-Exchange Method for Determination of Phytate in Food, Collaborative Study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 69:667
- [6] Kenlee and Abendroth, J. A. 1983. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Phytic Acid in Food. J. Food Sci. 48:1344
- [7] Lolos, G. M., Palamidis, N., and Markakis, P. 1976. The Phytic Acid—Total Phosphorus Relationship in Barley, Oate, Soybean, and Wheat. Cereal Chem. 53(6):867

- [8] Williams, P. and Norris, K. 1987. Near—Infrared Technoogy in the Agriculture and Food Industries published by the AACC, Inc. USA.

THE RADID METHOD FOR THE DETERMINATION OF PHYTIC ACID IN SOYBEAN

Lu Yaochang

(Institute of Crop Germplasm Resources, Chinese Academy of Agricultural Sciences)

Abstract

The method of rapid determination was developed for screening analysis of phytic acid in soybean seeds without purification. It was based on highly linear interrelation between phytic acid and acid—soluble phosphorus in soybean. Correlation coefficients(r) and standard errors of calibraion (SEC) for 16 samples were 0.992, and 0.23, respectively. Pared t —Test for 10 prediction samples showed the presented metod and ion—exchange method could produce comparable results.

Key words Soybean; Phytic acid; Rapid; Determination