

# 高效离子色谱法检测植酸钠的水解率

刘巧茹, 石起增\*, 董文举, 杨光瑞

(河南师范大学化学与环境科学学院, 河南省环境污染控制重点实验室, 河南新乡 453007)

**摘要:** 采用高效离子色谱(HPIC)法对植酸钠的水解产物进行分析, 建立了 HPIC 法确定植酸钠水解率的新方法。用氢氧化钠、水和异丙醇组成的三元流动相梯度淋洗, 植酸钠及其水解产物在不同的保留时间洗脱, 经微膜抑制后进入电导检测器, 15 min 内可得检测结果, 求出植酸钠的水解率。该方法用于确定植酸钠非酶水解时的水解率, 收到了满意结果。

**关键词:** 高效离子色谱; 植酸钠; 水解率

**中图分类号:** O 658.1      **文献标识码:** A

**文章编号:** 0367-6358(2005)09-519-03

## Determination of the Hydrolytic Rate of Sodium Phytate by High-Performance Ion Chromatography

LIU Qiao ru, SHI Qi-zeng\*, DONG Wen ju, YANG Guang rui

(School of Chemistry and Environmental Sciences, Henan Normal University, Henan Key Laboratory for Environmental Pollution Control, Henan Xinxiang 453007, China)

**Abstract:** High performance ion chromatography (HPIC) was used to analyze the hydrolyzation products of sodium phytate. The method was developed to determine the hydrolytic rate of sodium phytate directly. After eluted by the ternary mobile phase composed of sodium hydroxide, water and isopropylalcohol, the hydrolysates (inositol phosphates and inorganic phosphate) and the unreacted sodium phytate were eluted at different retention time. The effluents were measured by a conductivity detector. The detection results were used to calculate the hydrolytic rate within 15 minutes. The method had been used to determine the hydrolytic rate of sodium phytate in the absence of enzyme with satisfactory result.

**Key words:** high performance ion chromatography; sodium phytate; hydrolytic rate

植酸为肌醇的六磷酸酯, 多以盐的形式广泛存在于谷物和油料作物种子中。植酸具有较强的螯合能力, 除碱金属外, 几乎可以与所有金属离子生成沉淀, 因此可影响饮食中矿质元素的生物利用率<sup>[1]</sup>。在一定条件下, 植酸可逐步水解, 生成肌醇五、四、三、二、一磷酸(分别简称为 IP<sub>5</sub>、IP<sub>4</sub>、IP<sub>3</sub>、IP<sub>2</sub>、IP<sub>1</sub>) 以及肌醇, 其中多种部分水解产物(包括多种异构体)和肌醇已被生物学研究证明具有重要的生理作用<sup>[2]</sup>, 因此研究植酸盐的水解近年来引起了科学界

的特别关注。关于植酸钠的水解率的测定, 通常采用分光光度法<sup>[3]</sup>检测磷酸根含量, 操作较烦琐且受到检测时间、温度等因素的影响, 精密度受到一定的限制。本文采用离子色谱法研究植酸钠的水解, 直接以离子色谱所得磷酸根数据计算植酸钠的水解率, 操作简便、快速, 且具有较高的精密度与灵敏度。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

美国 Dionex 公司 DX-500 型离子色谱仪, AS11(4

收稿日期: 2004-12-30; 修回日期: 2005-07-17

基金项目: 河南省科技厅攻关项目(0324260104)

作者简介: 刘巧茹(1970-), 女, 河南洛阳人, 硕士, 主要专业方向为有机化学。\* 通讯联系人 Tel: 13937311658, E-mail: sqz@henannu.edu.cn

mm × 25 cm) 分离柱, Ion Pac AG11(4 mm × 5 cm) 保护柱, GP 50 四元梯度泵, ED 40 电导检测器, 微膜自再生阴离子抑制器, 25 μL 定量进样环, Peak Net 5.0 离子色谱操作系统。50 mL 高压反应釜; SY 101-1 型电热鼓风干燥箱(天津市三水科学仪器有限公司); BS224S 型电子天平( $d = 0.0001$  g, 北京塞多利斯仪器系统有限公司)。

植酸钠: 美国 Sigma 公司产品(纯度  $\geq 97\%$ ); 肌醇磷酸: 美国 Sigma 公司产品(纯度  $\geq 95\%$ ); 异丙醇、氢氧化钠、磷酸钠均为国产分析纯; 水为二次去离子水(美国 Millipore Qplus 公司超纯水器自制)。

### 1.2 色谱条件

柱温: 25 °C; 进样量 25 μL; 流动相: 由 0.22 mol/L NaOH(A)、二次水(B)、50% 异丙醇(C) 组成, 其梯度设置见表 1, 淋洗液流速为 1.10 mL/min; 抑制液: 0.025 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液, 流速为 4.5 mL/min。

表 1 淋洗液组成及梯度设置

时间/min	A/%	B/%	C/%
0.00	15.00	79.00	6.00
0.01	15.00	79.00	6.00
5.00	30.00	64.00	6.00
10.00	35.00	59.00	6.00
15.00	40.00	54.00	6.00
15.01	15.00	79.00	6.00

### 1.2 样品处理

准确称取 25 g 植酸钠于小烧杯中, 加水溶解后移入 250 mL 容量瓶中, 加水定容至刻度, 得浓度为 10% 的植酸钠溶液, 再从中移取一定体积的溶液稀释成不同浓度。每次移取 10 mL 溶液于 25 mL 高压反应釜中, 将其置于电热鼓风干燥箱内, 设定加热温度, 从达到所设温度开始计时, 待反应一定时间后取出, 冷却至室温后, 移取反应液经精密稀释、0.45 μm 微膜过滤后注入离子色谱系统。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱条件的选择

首先用单变量法(改变所用淋洗液的组成)进行实验, 确定植酸钠、磷酸根、肌醇磷酸及其它水解产物的保留时间, 使植酸钠、磷酸根能与其它离子充分分离, 再改变抑制液流速, 使其能够发挥最佳抑制作用。实验表明, 选用三元梯度淋洗液, 以表 1 所示梯度设置淋洗液, 淋洗液流速为 1.10 mL/min, 抑制液流速为 4.5 mL/min 时, 效果最好。

### 2.2 工作曲线与精密度

准确称取一定质量的经过干燥的磷酸钠, 加水

溶解后稀释成一系列一定浓度的标准溶液, 在最佳实验条件下制作磷酸根的工作曲线。结果表明, 在 5~ 500 mg/L 范围内, 磷酸根浓度与其峰面积之间呈良好的线性关系。其线性回归方程为:  $A = 0.0002129c - 0.07454$ , 相关系数  $r = 0.9999$ , 检出限为 1.5 mg/L。检出限是根据噪声大小与峰面积, 取信噪比为 3 时得到的。对一定浓度的磷酸根标准溶液进行 10 次平行测定, 检测结果的相对标准偏差为 2.09%。

### 2.3 水解产物的色谱行为

用不同浓度的植酸钠溶液, 在不同温度下, 经不同反应时间后的水解液分别在所选条件下进样检测, 比较各个色谱峰的保留时间, 可以看出, 在所选色谱条件下, 磷酸根能与 IP<sub>1</sub>、IP<sub>2</sub>、IP<sub>3</sub> 等很好的分离, 而 IP<sub>4</sub> 和 IP<sub>5</sub> 在此色谱柱条件下难以与植酸钠充分分开, 且出现拖尾现象。图 1 为不同条件下植酸钠水解液的离子色谱图。采用标准物对照法可确定 1、2 分别为磷酸根、植酸钠。据文献报道, IP<sub>1</sub> 峰在磷酸根之前, 磷酸根之后依次分离出 IP<sub>2</sub>、IP<sub>3</sub>、IP<sub>4</sub> 和 IP<sub>5</sub> 因与 AS11 型色谱柱固定相的键合能力较强在此分离柱上不能实现理想分离且出现拖尾现象<sup>[4]</sup>, 这可能是由于产生构型不同的 IP<sub>4</sub> 和 IP<sub>5</sub> 空间位阻较大而不易被洗脱下来。叠峰是由于水解时产生 IP<sub>n</sub>

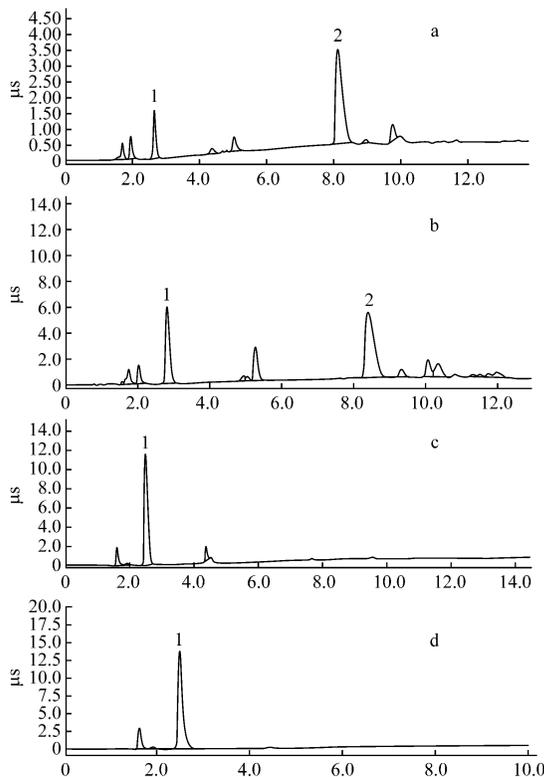


图 1 植酸钠水解液的离子色谱图  
1. 磷酸根; 2. 植酸钠

(下转第 528 页)

表 5 精密度及标准偏差

除草剂	测定值 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$						平均值 $/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	SD	ASD	RSD / %
	1	2	3	4	5	6				
2,4 DP	0.046	0.044	0.045	0.047	0.049	0.048	0.047	0.00187	0.00076	4.02
2,4 D	0.042	0.047	0.041	0.046	0.046	0.040	0.044	0.00301	0.00123	6.90
2,4,5 TP	0.031	0.036	0.031	0.031	0.032	0.031	0.032	0.00200	0.00082	6.25
2,4,5 T	0.032	0.039	0.033	0.033	0.036	0.032	0.034	0.00279	0.00114	8.16
2,4 DB	0.042	0.043	0.041	0.039	0.043	0.039	0.041	0.00183	0.00075	4.46

3 结 论

本研究应用溶剂加速萃取法(ASE)萃取和气质联用仪(GC-MS/MS)测定小麦中的五种苯氧羧酸类除草剂,方法提取效率高,酯化过程简单,无须进行可能造成损失的净化过程,快速、有效、安全,且可同时达到定性、定量的目的,可靠性更好,是小麦中该类除草剂残留的一种可行的检测方法。

参考文献:

[1] 中华人民共和国进出口商品检验行业标准. SN 0661-1997 出口粮谷中 2,4,5 TP 残留检验方法[S].

[2] Pena A L S, Silveira M I N. Detemination of chlorophenoxy

herbicides in waters by capillary gas chromatography with ion trap detection [J]. J Chromatogr A, 1997, 758: 324-331.

[3] Method 8151A, Chlorinated herbicides by GC using methylation or pentfluorobenzoylation derivatization [S]. US EPA, Revision 1, 1994.

[4] Allan J. The Determination of residues of 2,4 D in post-emergence treated triticale [J]. Pestic Sci 1990, 30: 141-147.

[5] Brunete C S, Valcarcel A I G, Tadeo J L. Detemination of residues of phenoxy acid herbicides in soil and cereals by gas chromatography ion trap detection [J]. J Chromatogr A, 1994, 675: 213-218.

(上接第 520 页)

异构体存在,保留时间稍有差异所致。由于价格昂贵,暂时无法一一用标准物质对它们分别进行定性、定量分析。

2.4 植酸钠水解率的计算

按 1.2 所述方法,改变植酸钠的浓度、温度、反应时间等因素进行水解实验,采集水解产物的 HPIC 数据,得到水解产物中的磷酸根含量,根据公式:

$$\text{植酸钠的水解率} \% = \frac{\text{水解后生成的磷酸根的物质质量}}{\text{原溶液中植酸钠的物质质量}} \times 6 \times 100\%$$

计算植酸钠的水解率。2.3 中图 1 中 a, b, c, d 所对应的反应中植酸钠的水解率依次为 9.5%, 25.6%, 80.8%, 96.1%。实验结果表明,植酸钠水解是逐步进行的,检测水解率可以粗略预测水解产物的成分,以选择适当的分离方法得到所需要的肌醇磷酸盐,也可用于工业上采用植酸钠水解制备肌醇时反应终点的判断。

3 结 论

用抑制型离子色谱,采用三元碱性梯度淋洗体

系可以较准确地测定植酸钠非酶水解时产生的磷酸根含量,确定植酸钠的水解率。该方法操作简单、快速、精密度较高,灵敏度较好,亦可用于检测多种植物性食物样品中植酸及磷酸根的含量分析。

参考文献:

[1] Raboy V. Molecules of interest myo inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexakisphosphate [J]. Phytochemistry, 2003, 64: 1033-1043.

[2] Shen X T, Xiao H, Ranallo R, et al. Modulation of ATP-dependent chromatin remodeling complexes by inositol polyphosphates [J]. Science, 2003, 299: 112-114.

[3] Greiner R, Larsson A M. Stereospecificity of myo inositol hexakisphosphate dephosphorylation by phytases of cereals [J]. Food Biochem, 2001, 25: 229-248.

[4] Skoglund E, Carlsson N G, Sandberg A S. High performance chromatographic separation of inositol phosphate isomers on strong anion exchange columns [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46: 1877-1882.