

# 米糠和豆粕中植酸的提取及含量的测定

张君朝<sup>1</sup>, 任传英<sup>2</sup>, 黄文功<sup>3</sup>

(1. 哈高科大豆食品有限责任公司, 黑龙江哈尔滨 150078; 2. 黑龙江省哈高科营养食品有限公司, 黑龙江哈尔滨 150078; 3. 黑龙江省农业科学院经济作物研究所, 哈尔滨 150086)

**摘要:** 为了提取米糠和豆粕中的植酸并测定其含量, 采用阴离子交换树脂提取植酸, 测铁分光光度法测定植酸含量。结果表明, 影响提取率的主要因素有提取时间、提取温度、树脂类型及分离时的流速。通过正交试验确定了最佳的提取、分离工艺: 提取温度 45℃、提取时间 3 h、D201 大孔阴离子交换树脂、流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 测得米糠中提取植酸含量为 70.39 mg·g<sup>-1</sup>, 豆粕中提取植酸含量为 21.14 mg·g<sup>-1</sup>。该提取方法提取率高, 测定方法操作简单、准确度较高, 适用于农副产品中植酸的提取及含量的定量测定。

**关键词:** 豆粕; 米糠; 植酸含量; 阴离子交换树脂; 测铁分光光度法

中图分类号: S816.4      文献标识码: A      文章编号: 1002-2767(2009)02-0132-03

## Extraction and Determination of Phytic Acid in the Rice Bran and Bean Pulp

ZHANG Jun-zhao<sup>1</sup>, REN Chuan-ying<sup>2</sup>, HUANG Wen-gong<sup>3</sup>

(1. Hi-Tech Soybean Food Co., Ltd, Harbin, Heilongjiang 150078; 2. Heilongjiang Hi-Tech Nutriment Food Co., Ltd, Harbin, Heilongjiang 150078; 3. Industrial Crops Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract:** Anion exchange resin was used to extract phytic acid and measure iron pectrophotometric method was adopted to determine phytic acid concentration. The results showed that: Extraction time, extraction temperature, resin type and flow rate were main influencing factors. The optimal craft were that extraction temperature was 45℃, extraction time was 3 h, D201 anion exchange resin was adapted to disassociation, flow rate was 1 mL per min. Phytic acid content were 70.39 mg·g<sup>-1</sup> and 21.14 mg·g<sup>-1</sup> by the method in the rice and bean pulp respectively. It could be concluded that the extraction method was effective and the assay method was simple, accurate, they were adapt to extraction and determine the phytic acid in the agriculture by-product.

**Key words:** bean pulp; rice bran; the content of phytic acid; anion exchange resin; measure iron pectrophotometric method

植酸化学名称为肌醇六磷酸酯, 属于维生素 B 族, 分子式为 C<sub>6</sub>H<sub>18</sub>O<sub>24</sub>P<sub>6</sub>, 分子量为 660.04。是一种天然的含磷有机化合物, 大量存在于水果和许多植物种子中。

收稿日期: 2008-09-20  
第一作者简介: 张君朝(1968-), 女, 辽宁辽阳人, 学士, 中级, 从事食品分析研究。Tel: 13936552620 E-mail: zjz5393@163.com.

### 3 结论与讨论

通过几组试验测定条件的研究, 对食物中亚硝酸盐的提取, 测定方法总结归纳如下:

- 3.1 采用重氮化偶合法测定亚硝酸盐, 测定的最佳吸收波长为 538 nm; 溶液的测定最佳 pH 在 1.0~2.5 的范围内; 显色剂加入顺序为先加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液, 5 min 后再加入 1 mL N-1-萘乙二胺盐酸溶液, 耦合合成紫红色染料; 选择显色时间为 20 min。
- 3.2 在进行蔬菜罐头样品中亚硝酸盐的提取时, 提取的最佳条件是在 70℃的水浴中提取 30 min, 得到较高的回收率。
- 3.3 抗坏血酸的存在对亚硝酸盐的测定产生严重干扰。

3.4 在测定蔬菜罐头中的亚硝酸盐时, 加入活性炭可以有效提高亚硝酸盐的回收率, 从而提高分析效果的准确性。

#### 参考文献:

- [1] 周文斌. 泡菜中亚硝酸盐测定方法研究[J]. 食品科学 2006(2): 241-243.
- [2] 叶兴乾. 果品蔬菜加工工艺学[M]. 北京: 中国农业大学, 2002.
- [3] 韩雅珊. 食品化学实验指导[M]. 北京: 中国农业大学, 1992: 198.
- [4] 凌关庭. 食品添加剂手册[M]. 北京: 北京化学工业出版社, 1989.
- [5] Kumar P, Mishra H N. Yoghurt Powder-a Review of Process Technology, Storage and Utilization[J]. Food and Bioproducts Processing, 2004(6): 133-142.
- [6] Lehmann T A, Drees P. Stability of frozen dough-effects of freezing temperature[J]. Tech. Bull. Am. Inst. Baking 1981, 3: 1-5.

而在叶子中的含量较少,是谷类、豆类和油料种子中磷的主要储存形式(占整个种子中磷含量的60%之多),对种子的正常生长起着重要作用<sup>[1-3]</sup>。其中以米糠中含量最高,占9.5%~14.5%<sup>[4]</sup>。植酸具有较强的螯合作用,曾一度认为它是抗营养因子,而仅被应用于日常化工领域,但近几年国内外的研究发现植酸作为天然无毒的抗氧化剂在保鲜、抗氧化、防止自由基伤害与脂质过氧化损伤、抗肿瘤等方面都有肯定性的意义<sup>[5]</sup>,因此,营养学界掀起了植酸研究的热潮。

农副产品中植酸的提取和含量的测定方法是科学界一直关注的问题。阴离子交换树脂提取植酸是目前使用较广,提取效率较高的方法。目前,已经用于测定食品中植酸的方法有测磷分光光度法、测铁分光光度法、高效液相色谱法和硝酸钪滴定法。硝酸钪滴定法结果偏高;测磷分光光度法采用磷酸二氢钾为标准,测定准确度高,精密度好,但消化较麻烦;高压液相色谱法采用植酸为标准,测定结果准确,但仪器昂贵,适用于有植酸标准品的测定和科研及产品的准确分析;测铁分光光度法操作简单、结果准确、不需消化,适用于研究与实际生产中<sup>[6]</sup>。

## 1 实验原理

用阴离子交换树脂将植酸和植酸盐吸附,使之与无机磷及其盐类等杂质分离,用氯化钠溶液洗脱,洗脱液中的植酸与三氯化铁—磺基水杨酸混合液作用,产生褪色反应,植酸含量与褪色程度成正比,用分光光度计在波长500 nm处测定吸光度,计算样品植酸含量<sup>[7]</sup>。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料、试剂与仪器

豆粕、米糠(过40目筛);201×7强碱性阴离子交换树脂及D201大孔阴离子交换树脂(购于上海华羚树脂有限公司);三氯化铁—磺基水杨酸反应溶液:称取0.6 g三氯化铁和6 g磺基水杨酸,加蒸馏水溶解并定容至200 mL。使用前以水稀释10倍;植酸标准溶液:称取1.6682 g植酸钠标准品(纯度97%,Sigma公司),精确至0.0001 g。加蒸馏水溶解并定容至100 mL。使用前,吸取5 mL用蒸馏水定容至500 mL,其浓度为0.1 mg·mL<sup>-1</sup>;盐酸、氢氧化钠、氯化钠等其它化学试剂均为分析纯;恒温水浴振荡器;离子交换柱:0.8 cm×10 cm;离心机;722型分光光度计。

### 2.2 实验方法

2.2.1 提取 称取均质样品1 g,精确至0.0001 g,置于250 mL具塞三角瓶中,加入10%硫酸钠—5%三氯乙酸提取溶液50 mL,振荡提取一定时间后过滤,收集滤液定容到100 mL或200 mL。

2.2.2 树脂的预处理 称取5 g阴离子交换树脂,浸于蒸馏水中2 h,再用3倍量的4%氢氧化钠溶液浸泡1

h,然后浸泡于3倍量的4%盐酸溶液1 h,最后用蒸馏水冲洗,浸泡于蒸馏水中备用。

2.2.3 分离 将经过预处理的阴离子树脂湿法填装于交换柱中,用去离子水洗涤交换柱至无氯离子(加入1 mol·L<sup>-1</sup>硝酸银—硝酸溶液,与去离子水对照)。取10 mL样品提取液,加30 g·L<sup>-1</sup>氢氧化钠溶液1 mL,补加蒸馏水至总体积30 mL,混匀后倒入离子交换柱中。然后分别用15 mL水和15 mL 0.05 mol·L<sup>-1</sup>氯化钠洗涤溶液以1 mL·min<sup>-1</sup>的流速洗涤交换柱,弃去洗涤液。最后用0.7 mol·L<sup>-1</sup>氯化钠洗脱溶液洗脱交换柱,收集于25 mL刻度具塞试管中,并定容至刻度。

2.2.4 分析步骤 工作曲线的制作:精确吸取0.1 mg·mL<sup>-1</sup>植酸标准溶液0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL于6支10 mL离心管中,用蒸馏水补足至5 mL,加入三氯化铁—磺基水杨酸反应溶液4 mL,摇匀,以3 000 r·min<sup>-1</sup>转速离心10 min。放置15 min后,将上层液倒入比色皿中,于500 nm处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,植酸含量为横坐标,绘制工作曲线并计算回归方程及相关系数。

试液测定:取洗脱液2~5 mL于10 mL离心管中(根据洗脱液中的植酸量而定),加水补足至5 mL,再加入三氯化铁—磺基水杨酸反应溶液4 mL,摇匀,其余步骤同工作曲线的制作,测其吸光度,并在工作曲线上查得或从回归方程计算出试液中植酸含量。

2.2.5 结果计算 依据公式求出植酸含量。

$$X = (CV_1V_3) / (V_2V_4m)$$

式中:X—样品中植酸含量/mg·mg<sup>-1</sup>;C—样液含植酸量/mg; m—样品的质量/g; V<sub>1</sub>—提取液定容后的体积/mL; V<sub>2</sub>—分离后,取提取液的体积/mL; V<sub>3</sub>—分离液定容后的体积/mL; V<sub>4</sub>—试液测定时,取分离液的体积/mL。

## 3 结果与分析

### 3.1 植酸工作曲线

由植酸含量汇成工作曲线(见图1)。

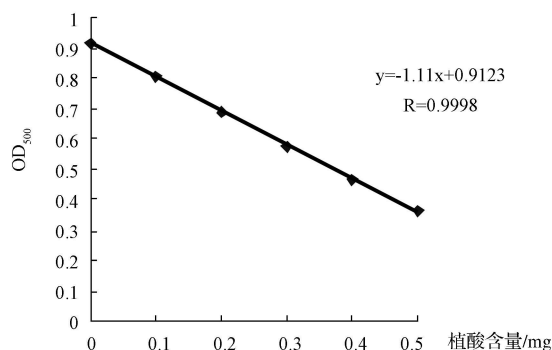


图1 植酸工作曲线

3.2 树脂类型对提取率的影响

首先以米糠为研究对象,确定植酸提取、分离的最佳条件,然后应用最佳条件同时测定米糠和豆粕中植酸含量。称取 1 g 米糠加入 50 mL 提取液,室温(25℃)下震荡提取 2 h,过滤,蒸馏水定容至 200 mL。然后进行植酸的分离、测定,树脂量为 5 g,湿法装柱,吸附与洗脱速度为 1 mL·min<sup>-1</sup>,做 2 次平行实验。

表 1 树脂类型对植酸含量测定结果的影响			
米糠质量/g	树脂类型	OD <sub>300</sub>	米糠中植酸含量 /mg·g <sup>-1</sup>
1.0034	201×7 强碱性阴离子 交换树脂	0.781±0.002	29.65±0.49
	D201 大孔阴离子 交换树脂	0.666±0.003	55.30±0.42

可见,D201 大孔强碱性阴离子交换树脂分离植酸的效果明显优于 201×7 强碱性阴离子交换树脂。因此,选定 D201 大孔强碱性阴离子交换树脂进行植酸分离。

3.3 最佳条件的确定

选定 D201 大孔阴离子交换树脂为分离树脂后,提取时间、提取温度及吸附洗脱流速是影响植酸含量测定结果的主要因素,因此,对这三个因素进行正交试验,确定植酸含量测定的最佳条件。

表 2 L <sub>9</sub> (3 <sup>4</sup> )正交试验因素水平			
水平	A 提取温度/℃	B 提取时间/h	C 流速/mL·min <sup>-1</sup>
1	30	1	0.5
2	40	2	1
3	50	3	2

表 3 L <sub>9</sub> (3 <sup>4</sup> )正交试验结果					
试验号	1(A)	2(B)	3(C)	4	植酸含量/mg·g <sup>-1</sup>
1	1	1	1	1	48.34±0.50
2	1	2	2	2	55.30±0.42
3	1	3	3	3	60.64±0.35
4	2	1	2	3	57.87±0.57
5	2	2	3	1	65.62±0.14
6	2	3	1	2	68.75±0.92
7	3	1	3	2	52.70±0.14
8	3	2	1	3	65.60±0.28
9	3	3	2	1	70.29±0.42
K <sub>1</sub>	164.28	158.92	182.69	184.25	545.12
K <sub>2</sub>	192.24	186.52	183.46	176.76	
K <sub>3</sub>	188.60	199.68	178.97	184.11	
k <sub>1</sub>	54.76	52.97	60.90	61.42	
k <sub>2</sub>	64.08	62.17	61.15	58.92	
k <sub>3</sub>	62.87	66.56	59.66	61.37	
R	9.32	13.59	1.49	2.50	

由分析结果可以看出,各因素对米糠中植酸含量测定影响强弱的顺序为 B>A>C,即提取时间>提取温度>流速,且提取时间与提取温度影响显著,而流速影响不显著;最佳因素水平组合为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>。采用最佳因素水平组合进行重复试验测定米糠中的植酸含量,

同时测定豆粕中的植酸含量(见表 4)。在提取最佳条件下测得米糠中植酸含量为 70.39 mg·g<sup>-1</sup>,豆粕中的植酸含量 21.14 mg·g<sup>-1</sup>(见表 4)。

表 4 最佳条件下测定结果				
提取温度 /℃	提取时间 /h	流速 /mL·min <sup>-1</sup>	米糠中植酸 含量/mg·g <sup>-1</sup>	豆粕中植酸 含量/mg·g <sup>-1</sup>
40	3	1	70.39±1.24	21.14±2.42
40	3	1		
40	3	1		

4 讨论

D201 大孔阴离子交换树脂分离植酸的效果明显优于 201×7 强碱性阴离子交换树脂。其原因可能是大孔吸附树脂包含许多具有微观小球组成的网状孔穴结构,因此颗粒的总表面积很大,加上合成时引入了极性基团,使大孔树脂具有较大的吸附能力。这些网状孔穴在合成树脂时具有一定的孔径,使得它们对通过孔径的化合物根据其分子量的不同而具有一定的选择性,另一方面,从性能上来看,D201 大孔阴离子交换树脂比 201×7 强碱性阴离子交换树脂具有更好的物理及化学稳定性。

当植酸含量在 0~0.5 mg 范围内时,植酸含量与吸光度相关性很好,r=0.9998,超过此范围相关性明显下降,因此,测定植酸时要注意试样中的植酸含量在 0~0.5 mg 范围内,否则结果不准确。采用测铁分光光度法测定植酸含量操作简单、准确度较高,适用于农副产品中植酸含量的定量测定。从米糠和豆粕中提取植酸,使粮食精深加工进程中的副产品得到二次利用,丰富了农产品精深加工产品的品种,提高了农产品精深加工产品的附加值,降低原料利用的成本。

参考文献:

[1] Green E S,Zangerl A R,Berenbaum M R.Effects of Phytic Acid and Xanthotoxin on Growth and Detoxification in Caterpillars[J].Journal of Chemical Ecology,2001,27(9):1763-1773.

[2] William D Hitz,Thomas J Carlson,Phil S Ken,et al.Biochemical and Molecular Characterization of a Mutation That Confers a Decreased Raffinosaccharide and Phytic Acid Phenotype on Soybean Seeds[J].Plant Physiology,2002,128:650-660.

[3] Cynthia B Andaya,Thomas H Tai.Fine mapping of the rice low phytic acid(Lpa1)locus[J].TAG Theoretical and Applied Genetics,2005,111(3):489-495.

[4] 朱文适,袁庆云,胡蓉.米糠生产植酸和肌醇的工艺条件[J].山地农业生物学报,1999,18(4):235-238.

[5] 李丹,崔洪斌.植酸及其生物学活性研究现状[J].国外医学卫生学分册,2004,31(2):104-108.

[6] 刘坤,高华,张东峰等.不同植酸测定方法的对比分析[J].青岛医学院学报,1997,33(3):191-192.

[7] GB/T5009.153—2003.植物性食品中植酸的测定[S].