

微波消解—流动注射化学发光法 测定小麦中铬及其生物吸收比

高向阳^{1,2}, 高道竹³, 朱盈蕊⁴, 王长青²

(1. 郑州科技学院 食品科学与工程系, 河南 郑州 450064;

2. 河南农业大学 食品科学技术学院, 河南 郑州 450002;

3. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122;

4. 郑州市质量技术监督检验测试中心, 河南 郑州 450006)

摘要:研究小麦及其土壤中微量铬的相关性,为富铬小麦品种的选育和富铬功能性食品的开发提供科学依据。用微波消解样品,建立流动注射化学发光法测定彩色小麦、普通小麦以其土壤中铬含量的方法。结果表明:在五个地区种植的六个品种小麦,铬含量在0.126 3~0.451 6 $\mu\text{g}/\text{g}$ 之间。不同品种小麦的铬含量有所不同,普通紫麦的铬含量较高;同一品种小麦在不同地区种植,其铬含量也不同,商丘地区小麦铬含量较高。在同一生长环境下,不同品种的小麦铬的生物吸收比不同,普通紫麦的生物吸收比较大,商丘地区种植的普通紫麦的生物吸收比高达27.62%,是补充铬的理想原料,有一定的培育前景。

关键词:小麦;铬;生物吸收比;微波消解;流动注射化学发光法

中图分类号:TS 512.1 文献标识码:A 文章编号:1007-7561(2015)03-0062-04

Determination of chromium and its bio-absorptance in wheat by microwave digestion – flow injection chemiluminescence

GAO Xiang-yang^{1,2}, GAO Qiu-zhu³, ZHU Ying-rui⁴, WANG Chang-qing²

(1. Department of Food Science and Engineering, Zhengzhou Institute of Science and Technology, Zhengzhou Henan 450064; 2. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou Henan 450002; 3. College of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi Jiangsu 214122; 4. Zhengzhou Quality and Technology Supervision and Testing Center, Zhengzhou Henan 450006)

Abstract: The relationship between wheat and trace chromium in soil was studied in order to provide a scientific basis for the breeding of wheat varieties enriched in chromium and development of functional food with rich chromium. With applications of microwave digestion sample, the determination method of chromium content in color wheat, common wheat and soil was established by flow injection chemiluminescence. The results showed that in six varieties of wheat grown in five areas, the chromium content was between 0.126 3~0.451 6 $\mu\text{g g}^{-1}$. Different varieties had different content of chromium, chromium content in common purple wheat was higher; the same varieties of wheat planted in different area, the chromium content was different. Wheat planted in Shangqiu the chromium content was higher. Under the same growth environment, different varieties of wheat had different chromium biological absorption ratio, common purple wheat had higher biological absorption ratio, the biological absorption ratio of the common purple wheat planted in Shangqiu was as high as 27.62%, which was an ideal natural raw material to supplement chromium and had a certain cultivation prospects.

Key words: wheat; chromium; bio-absorptance; microwave digestion; flow injection chemiluminescence

收稿日期:2014-12-05

基金项目:河南省科技攻关项目(JB02-0624430003)

作者简介:高向阳,1949年出生,男,教授。

铬是葡萄糖耐量因子(Glucose Tolerance Factor, GTF)的组成成分^[1],能激活胰岛素与细胞膜间的二硫键,促进葡萄糖的运输和肝糖原合成,提高胰岛素与特异受体的结合力,维持核酸结构的完整性和稳定性,增强蛋白质的合成和胆固醇的分解、排泄,具有预防糖尿病、控制冠心病和高血压,促进人体发育和预防近视眼等作用,是维持正常葡萄糖耐量不可缺少的微量元素^[2]。因此,通过食品补铬已成为谷物生产和食品科学的研究热点。

小麦粉是我国人民的主食,是获得天然铬元素的重要来源。南阳彩色小麦是我国培育的小麦新品种,是宝贵的种质资源^[3],但含铬水平和生物吸收比还未作深入研究。

目前,测定食品中铬的方法有石墨炉原子吸收法^[4]、原子发射光谱法^[5-6]、分光光度法^[7-8]、示波极谱法^[9]、等离子体质谱法^[10]、化学发光法^[11]等。微波消解具有试剂用量少、消解完全、快速高效、不污染环境的特点,是生物样品常用的消解方法;流动注射化学发光法测铬具有灵敏度高、精密度好、操作简便、选择性好、线性范围宽等优点。本实验将微波消解样品技术与流动注射化学发光法联用,使两者的优势得到充分发挥,用于测定小麦及其生长土壤中的铬和生物吸收比,结果令人满意,为选择和培育富铬小麦品种、进一步研发功能性食品提供理论依据和技术参考,对预防糖尿病、心血管病的发生,保障人体健康,有一定的科学应用价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

周麦 16,偃展 4110:郑州市种子公司提供;蓝麦,普通紫麦,灰麦,硬质紫麦:河南省南阳市农科所小麦研究室提供,作为各地区种植的小麦种子。用“四分法”取小麦样品约 1 kg,用去离子水洗 3 次,置于 60 °C 烘箱中烘干表面水分后,粉碎成粉状,储于塑料袋中,用时取适量于称量瓶中,60 °C 干燥至恒质量,备用。

土壤样品制备:用多点取样法,分别取小麦种植时、次年 3 月小麦返青时和收割时离地表 20 cm 之内的土壤样品各 1 kg 左右,除去杂物,于通风处自然风干后,充分混匀,用四分法分取约 1.0 kg,分多次于研钵中研至全部过 80 目筛,混合后储于自封袋中,用前于称量瓶中在 60 °C 下烘至恒质量,备用。

1.2 仪器与试剂

MDS-6 型微波消解/萃取仪:上海新仪微波科技有限公司;FW80 微型高速万能试样粉碎机:天津市泰斯特仪器有限公司;PXSJ-216 型离子分析仪:上海精密科学仪器有限公司;SYZ-B 型石英亚沸高纯水蒸馏器:江苏宜兴市勤华石英玻璃仪器厂;IFFM-D 型流动注射化学发光分析仪:西安瑞迈电子科技有限公司。

双氧水(GR):天津市科密欧化学试剂开发中心;三氯化铬、EDTA·2Na、质量分数为 6% 的亚硫酸(AR):天津市科密欧化学试剂开发中心;硝酸(GR):开封化学试剂总厂;氢氟酸(GR):天津市化学试剂三厂;鲁米诺(含量 ≥ 99%):苏州工业园区亚科化学试剂有限公司。

0.1 mol L⁻¹ 的 EDTA·2Na 溶液;pH3.50 的稀硫酸溶液;5.0 × 10⁻⁴ mol/L 鲁米诺溶液(pH 12.50);4 × 10⁻² mol/L 双氧水;1.00 μg/mL 铬标准溶液。

所用水为二次亚沸重蒸去离子水,所用玻璃仪器均用 2 mol/L 稀硝酸浸泡过夜,依次用去离子水、二次亚沸重蒸水洗净后投入使用。

1.3 方法

1.3.1 小麦种植方法设计

同一品种小麦分为 7 份,1 份作为本底样品,1 份为留用样品,其余 5 份作为种子。各地区分别在同一环境地块取 30 m²,按品种顺序一周之内种植完毕,并按大田管理方法进行日常管理,次年 6 月成熟时收获,按 1.1 方法处理小麦和土壤样品。

1.3.2 样品消解

称取恒质量的样品 0.400 0 g(准确至 0.000 1 g)于溶样杯中,小麦粉样品加入 4 mL HNO₃和 2 mL H₂O₂,土壤样品加入 4 mL HNO₃和 2 mL 氢氟酸,放置 15 min,按表 1 程序进行微波消解,冷却至室温。将溶样杯置于 150 °C 控温电热板上赶酸后转入 25 mL 容量瓶,用水洗涤溶样杯数次,洗液并入容量瓶中,定容至刻度,混匀备用。同时做空白。

表 1 微波消解程序

步骤	压强/MPa	时间/min	功率/W
1	0.5	5	800
2	0.8	5	800
3	1.1	5	1 000
4	1.3	5	1 000

1.3.3 仪器参数设定

在仪器负高压为 300 V 的条件下,流动注射化学发光仪按表 2 设定的步骤运行。

表 2 化学发光仪的运行参数

步骤	左泵速 (r/min)	右泵速 (r/min)	时间/s	重复次数	阀位	数据是否读出
1	60	60	10	1	左	否
2	85	85	8	1	右	否
3	80	70	25	0	左	是

1.3.4 标准曲线绘制

准确吸取 0.00、0.025、0.050、0.10、0.15、0.20、0.25、0.625、1.25、2.50、5.00、7.50、10.00 和 12.50 mL 的 1.00 μg/mL 铬标准使用液,分别置于 25.00 mL 容量瓶中,加入 0.1 mol/L 的 EDTA·2Na 0.50 mL,用 pH 3.50 的稀硫酸定容,在表 2 条件下,用 pH 12.50、浓度为 5.0 × 10⁻⁴ mol/L 鲁米诺溶液和 4 × 10⁻² mol/L 双氧水测定。根据测得的相对化学发光值与标准溶液的浓度分段绘制标准曲线。

1.3.5 样品测定

取 1.3.2 消解定容试液 5.00 mL 于小烧杯中,加入 3 mL 亚硫酸,煮沸 10 min 左右,冷至室温,调节 pH 至 3.50,转移到 25.00 mL 容量瓶中,加入 0.1 mol/L 的 EDTA·2Na 0.50 mL,用 pH 3.50 的稀硫酸定容,混匀。在与标准曲线完全相同的条件下测定,将测得的化学发光值代入线性方程或通过标准曲线求得样品中铬的含量。

1.3.6 生物吸收比计算

铬的生物吸收比是小麦样品中铬的质量分数与其生长土壤中铬质量分数的百分比,反映了不同小麦品种吸收、富集铬的能力,是筛选和评价小麦富铬水平的重要参数。根据小麦及其生长土壤中铬的含量,即可计算出各品种小麦的生物吸收比。

2 结果与分析

2.1 线性回归方程及相关系数

由 1.3.4 方法分段绘制工作曲线可知,在三价铬的质量浓度小于 10 ng/mL 时,标准曲线的回归方程为 $y = 31.634x - 1.3777$, 相关系数 r 为 0.9993; 三价铬质量浓度大于 10 ng/mL 时,回归方程为 $y = 74.1x - 756.36$, 相关系数 r 为 0.9997。

2.2 微波消解体系选择

HNO₃ + H₂O₂ 与 HNO₃ + HClO₄ 两种混合酸体系消解生物样品的效果较好,通过比较,从安全角度

考虑,测定小麦样品中 Cr³⁺ 时,选用 HNO₃ + H₂O₂ 消解体系;土壤样品选用 HNO₃ + HF 混酸体系,便于分解土壤中的硅酸盐。

2.3 试液最佳 pH 确定

当负高压为 300 V,双氧水浓度为 4.0 × 10⁻² mol/L、pH 12.50 的鲁米诺浓度为 4.0 × 10⁻⁴ mol/L 对 1.0 × 10⁻⁶ μg/mL Cr³⁺ 标准溶液调节 pH 值,按表 2 参数进行测定,结果表明:试液在 pH 3.50 时相对化学发光值最大,测定的灵敏度高,试液的 pH 值最佳。

2.4 双氧水浓度的影响

试验表明:当负高压为 300 V,pH 12.50 鲁米诺的浓度为 4.0 × 10⁻⁴ mol/L,1.0 × 10⁻⁶ μg/mL Cr³⁺ 标准溶液的 pH 为 3.50 时,用不同浓度的双氧水,按表 2 参数进行测定,结果表明:双氧水浓度在 4.0 × 10⁻² mol/L 时相对发光值最大。

2.5 鲁米诺浓度的影响

负高压为 300V,双氧水的浓度为 4.0 × 10⁻² mol/L,1.0 × 10⁻⁶ μg/mL Cr³⁺ 标液的 pH 为 3.50,用 pH 12.50 的鲁米诺按表 2 参数进行测定,结果表明:鲁米诺浓度为 4.0 × 10⁻⁴ mol/L 时相对发光值最大。

2.6 干扰离子

Cr³⁺ 浓度为 5.0 × 10⁻⁸ mol/L 时,室温条件下,在 EDTA·2Na 存在时,2 000 倍的 SO₄²⁻、Cl⁻、K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、NH₄⁺,1 000 倍的 Fe²⁺、Fe³⁺,100 倍的 Cu²⁺、NO₃⁻、Zn²⁺ 在 0.5 h 内对 Cr³⁺ 的测定无明显干扰。

2.7 检出限与相对标准偏差

在负高压为 300 V,在最佳条件下按表 2 参数运行,对 5.0 × 10⁻⁸ mol/L Cr³⁺ 标准溶液进行 11 次平行测定,按 3 倍标准偏差(3S)计算出的检出限为 3.75 × 10⁻¹¹ mol/L,相对标准偏差 RSD 为 4.5%。

2.8 回收率

准确称取三个地区灰麦粉,加入不同量的铬标准溶液,在与样品相同的条件下进行加标回收率测定,测定结果回收率在 93.66%~99.09% 之间。

2.9 小麦中铬含量测定结果

按 1.3.5 对各地区种植的小麦和种子进行测定,每个样品测定 5 次,检验无可疑值后,取平均值报告,结果见表 3。

由表 3 可知,各品种小麦种子在不同地区种植后,铬含量均有所变化。商丘地区种植的各品种小

麦中铬的含量较高,且均高于小麦种子本底;巩义地区种植的各品种中铬的含量较低,且均低于小麦种子本底。彩色小麦中,普通紫麦的铬含量高于其它彩麦品种。

表3 各品种小麦全麦粉中铬的含量 ng/g

品种	郑州	漯河	巩义	商丘	焦作	种子本底
硬质紫麦	219.5	176.4	128.9	251.3	132.9	206.5
普通紫麦	223.1	200.1	142.9	451.6	178.4	348.5
灰麦	181.8	160.2	140.0	230.8	164.7	203.6
蓝麦	210.5	139.7	137.3	205.0	177.9	203.2
偃展4110	197.2	203.4	160.3	316.8	162.1	209.5
周麦16	163.0	168.2	126.3	215.2	134.1	189.8

2.10 土壤中铬含量测定结果

按1.3节处理土壤样品并进行测定,每个样品进行5次平行测定,检验无可疑值后取平均值报告,结果见表4。

表4 小麦种植地区土壤中铬的含量 μg/g

种植地区	郑州	漯河	巩义	焦作	商丘
铬含量(干基)	1.366	2.279	1.461	1.235	1.635

由表4可知,各地区土壤样品中铬的含量在1.235~2.279 μg/g之间,由低至高依次是焦作、郑州、巩义、商丘和漯河。

2.11 小麦的生物吸收比

根据表3和表4,由1.3.6节计算出各地区种植小麦的生物吸收比如表5,反映了不同品种小麦在不同地区富集铬的能力,是筛选和评价小麦富铬水平的重要参数。

表5 小麦在不同地区种植时铬的生物吸收比 %

产地	硬质紫麦	普通紫麦	灰麦	蓝麦	偃展4110	周麦16
郑州	16.07	16.33	13.31	15.41	14.44	11.93
漯河	7.74	8.78	7.03	6.13	8.92	7.38
巩义	8.82	10.6	9.78	9.40	10.97	8.64
焦作	10.76	14.45	13.34	14.40	13.13	10.86
商丘	15.37	27.62	14.12	12.54	19.38	13.16

从表5可知,在同一生长环境下,不同品种小麦对土壤中铬的富集程度不同,周麦16生物吸收比相对较小,普通紫麦相对较大,表明生物吸收比与品种的特性密切相关。同一品种小麦在不同的生长条件下对土壤铬的吸收比也不同,郑州和商丘地区小麦的生物吸收比较高,漯河地区较低,可能与各地区土壤中铬的存在形态有一定关系。在生物体系中,

三价铬是最稳定的形式,不会转变为六价铬^[12]。一般有机态铬含量越高,植物越容易吸收利用。因此,小麦对土壤中铬的吸收、富集量大小与土壤性质、小麦品种、土壤中铬的存在形态密切相关。

3 结论

将流动注射化学发光技术与微波消解技术结合,使两者的优点得到充分发挥。该法测定元素铬,具有取样量少、分析快速、灵敏度和选择性高等优点。研究表明:小麦样品中含有铬的质量分数在126.3~451.6 ng/g,是人们补充铬的天然食品原料。不同地区种植的小麦含铬量不同,商丘和郑州地区种植的小麦含铬普遍较高;不同品种小麦的生物吸收比不同,普通紫麦的生物吸收比达27.62%,是理想的富铬食品原料,有一定的培育前景。

参考文献:

- [1]刘亚明,牛欣,冯前进. 葡萄糖耐量因子(GTF)研究概述[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2003,4(6):367-369.
- [2]郑林,周侃,翁本德,等. 铬与人体健康研究[J]. 广东微量元素科学,2003,10(5):11-15.
- [3]高向阳,高新真,朱盈蕊,等. 微波消解-断续流动-双道原子荧光光谱法测定南阳彩色小麦中的硒[J]. 食品科学,2013,34(12):261-264.
- [4]顾捷,刘琴,祝银,等. 微波消解-塞曼石墨炉原子吸收光谱法检测贝类中的铬[J]. 宁波大学学报(理工版),2014,27(1):76-79.
- [5]石岩,肖新月,魏锋,等. 基于微波消解和ICP-AES技术的鹿角胶中有害元素测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(16):151-153.
- [6]徐春祥,赵云,朱晓军. ICP-OES同时测定婴幼儿营养食品中的14种元素[J]. 光谱实验室,2008,25(3):356-358.
- [7]陈意光,阮文红,罗东辉,等. 紫外分光光度法测定食品模拟物中六价铬和铝[J]. 食品与机械,2012,(3):65-67.
- [8]侯法菊,苗延虹,陈玉静,等. 微波消解-双指示剂双波长催化分光光度法测定食品中的铬[J]. 食品科学,2011,32(22):234-236.
- [9]何宗莉. 微机极谱仪测定食品中微量铬[J]. 预防医学情报杂志,2006,22(1):121-122.
- [10]苏永祺,李珮斯,任露陆,等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定奶粉中的铬[J]. 现代食品科技,2010,26(4):415-417.
- [11]高向阳,史超,郝梅,等. 微波程序压力消解-逆扩散流动注射化学发光法快速测定枸杞果中的微量铬[J]. 河南科学,2010,28(10):1249-1253.
- [12]陈海阳,汪积慧. 活性铬在糖尿病食品中的安全性[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2002,23(7):819-820.