

固定时间—加标浓度直读法测定 小麦中铜的生物吸收比

高向阳^{1,4}, 朱盈蕊², 高道竹³, 王长青⁴

(1. 郑州科技学院 食品科学与工程系, 河南 郑州 450064; 2. 郑州市质量技术监督检验测试中心, 河南 郑州 450006; 3. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122; 4. 河南农业大学 食品科学技术学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 研究小麦与土壤中微量铜的相关性和生物吸收比特性, 以南阳彩色小麦、周麦 16、偃展 4110 为样品, 用固定时间—浓度直读法进行快速测定。结果表明: 各地区种植的小麦粉中铜含量为 2.17~7.81 $\mu\text{g/g}$, 蓝麦铜含量较高, 周麦 16 铜含量较低。巩义地区小麦铜含量在 4.599~7.808 $\mu\text{g/g}$, 高于各品种小麦的本底; 郑州地区小麦铜含量在 2.17~4.52 $\mu\text{g/g}$, 均低于同一麦种的铜含量。小麦的生物吸收比与品种、土壤特性密切相关, 周麦 16 生物吸收比较低, 为 13.06%~22.73%; 蓝麦生物吸收比较大, 为 30.98%~39.81%。

关键词: 南阳彩色小麦; 土壤; 铜; 生物吸收比; 浓度直读法

中图分类号: O 657.15; S 512.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2015)04-0070-05

Determination of the biological absorption ratio of copper in wheat by fixed-time and concentration direct-reading method

GAO Xiang-yang^{1,4}, ZHU Ying-rui², GAO Qiu-zhu³, WANG Chang-qing⁴

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

Abstract: The relativity and biological absorption ratio characteristic between wheat and its trace copper in the soil was studied, taking Nanyang color wheat, Zhoumai 16 and Yanzhan 4110 as samples, rapidly determined by fixed-time and concentration direct-reading method. The result showed that the copper content was 2.17~7.81 $\mu\text{g/g}$ in each sample of wheat flour, the highest total content of copper in blue wheat, the lowest total content of copper in Zhoumai 16. The copper content of wheat from Gongyi district was 4.599~7.808 $\mu\text{g/g}$, above other varieties of wheat background. The copper content was 2.17~4.52 $\mu\text{g/g}$ in wheat from Zhengzhou district, lower than that of the same wheat variety. The biological absorption ratio of wheat was closely related to the varieties and the characteristics of the soil. The biological absorption ratio of Zhoumai 16 was relatively low as 13.06%~22.73%, while that of blue wheat was relatively high as 30.98%~39.81%.

Key words: Nanyang color wheat; soil; copper; biological absorption ratio; concentration direct-reading

铜是多数动植物的组成成分和必需元素, 以铜蛋白的形式储存于肝脏, 或在各组织内合成细胞色

收稿日期: 2014-12-20

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。

素氧化酶、过氧化物歧化酶、酪氨酸酶等,铜蛋白和铜酶在机体内有重要的生理作用。研究发现,人体内过量铜离子可诱发老年痴呆症^[1]。高铜血症常见于心脑血管疾病、血液病、恶性肿瘤、肝胆系统疾病等,低铜血症主要见于婴幼儿低铜血症、肝豆状核变性、卷发综合征等^[2-3]。因此,维持体内铜平衡对人体机能非常重要。

目前测定食品中的铜主要有原子吸收法^[4-5]、等离子光谱法^[6]、电导法^[7]、浮选分光光度法^[8]、化学发光法^[9]、催化荧光法^[10]、阳极溶出伏安法^[11]等。由于离子选择性电极^[2]具有仪器设备简单、选择性强、快速简便等特点,越来越受到人们的关注。小麦是我国主要粮食作物,南阳彩色小麦是新品种和宝贵的种质新资源,其铜含量水平与土壤环境、品种特性间的相关性未见文献报道。本实验将微波消解技术、标准加入浓度直读法联用,快速测定小麦及其种植土壤中的微量铜含量。研究各地区和各品种小麦中铜的生物吸收比,为小麦种植、推广以及功能性食品研发提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

偃展4110、周麦16:郑州市种子公司提供;南阳彩色小麦(普通紫麦、蓝麦、硬质紫麦、灰麦):河南省南阳市农科所小麦研究室提供。小麦样品用去离子水洗3次,置烘箱中烘干后,用粉碎机磨成粉状,储于塑料袋中,用时放入称量瓶中,于60℃下烘至恒质量。

土壤样品的制备 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15 cm之内的土壤样品约1 kg,放在通风处自然风干后,于研钵中研至全部过100目筛,储于自封袋中,用时放入称量瓶中,于60℃下烘至恒质量。

1.2 仪器与试剂

MDS-6型微波消解/萃取仪:上海新仪微波化学科技有限公司;FW80微型高速万能试样粉碎机:天津市泰斯特仪器有限公司;铜离子选择性电极、217型双盐桥饱和甘汞电极、PXSJ-216型离子分析仪、温度自动校正传感器: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。

总离子强度调节剂(TISAB)溶液:将pH4.00的HAc+NaAc缓冲液和5.0 mol/L KNO₃,0.50 mol/L

NaF+0.1 mol/L HCHO,按2:1:1的体积比混合,储于试剂瓶中备用。

100.0 mg/L铜离子标准溶液:准确称取0.1472 g分析纯硝酸铜于小烧杯中,用pH4.00硝酸溶解后,定容于500 mL容量瓶中,混匀。

双氧水、硝酸、氢氟酸均为优级纯,无水硝酸铜为分析纯。所用水为二次亚沸重蒸去离子水,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 试验步骤

1.3.1 小麦种植方法

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,按品种顺序一周内种植完毕。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 样品的消解

称取1.1恒质量的样品0.4000 g(称准至0.0001 g)于小烧杯中,小麦粉加4 mLHNO₃和2 mLH₂O₂,土壤加入4 mLHNO₃和2 mLHF,放置15 min,按表1程序消解后,小烧杯于150℃控温电热板上赶酸,冷至室温后转入25 mL容量瓶中,用水洗涤小烧杯数次,洗液合并于容量瓶中,定容至刻度。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 电极的校准

将活化好的电极用重蒸水洗至空白值12 mV左右,取100.0 mg/L铜标液20.00 mL,加入TISAB溶液5.00 mL。将电极对放入溶液中,选择“已知添加”模式,用固定时间法,5 min时读数。校准结果显示电极实际响应斜率为29.56。

1.3.4 样品的测定

按下离子分析仪的“模式/4”键,按“▲/0”或“▼/.”键后,再按“确认”键选择“已知添加”项,进入测量模式。选择浓度单位为“mg/L”,斜率校准、空白浓度校准后输入添加标液的体积值V_{add}为0.20 mL试样液的体积V_x为20.00 mL和标液浓度

值 ρ_s 为 100.0 mg/L, 加入 TISAB 溶液 5.00 mL 后, 将校准好的电极置于被测试液中, 仪器显示当前的电位和温度值。轻轻摇动试液数次, 5 min 后, 按“确认”键, 仪器显示“添加标液”字样, 按设定体积值添加 100.0 mg/L 的标液 0.20 mL; 待 5 min 后, 再按“确认”键, 仪器直接给出试液的质量浓度 ρ_{Cu} , 按下式计算铜的质量分数 ω_{Cu} 。

$$\omega_{Cu}/(\mu\text{g/g}) = \frac{31.50 \times \rho_{Cu}}{m}$$

其中: m —样品质量, g ; ρ_{Cu} —仪器上直接读出的溶液中铜的质量浓度, mg/L 。

1.4 数据处理

采用 SPSS (Statistical Product and Service Solutions) for Windows 和 Microsoft Excel 软件进行实验数据处理。

2 结果与分析

2.1 电极的转换系数

转换系数是电极实际响应斜率占理论斜率的百分比, 是衡量电极工作质量的重要参数, 其值越接近 100%, 表明电极遵循能斯特响应的本领越强。由 1.3.3 可知, 所用电极的实际响应斜率为 29.56, 铜选择性电极的理论斜率为 29.58, 选用电极的质量较高。

2.2 微波消解体系的选择

实验表明, 选用 $\text{HNO}_3 + \text{HF}$ 混酸消解土壤样品、选用 $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ 混酸体系消解小麦样品的消解效果较好。

2.3 干扰离子

用溶液法测得铜电极对 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 的选择性系数小于 1.0×10^{-3} , 对铜的测定无干扰。 Fe^{3+} 的干扰用 NaF 掩蔽剂消除, 用 HCHO 掩蔽 Hg^{2+} 、 Ag^+ 的干扰。

2.4 缓冲溶液 pH 的影响

分别向 25 mL 容量瓶加 10.00 mg/L 硝酸铜溶液 0.500 mL, 加总离子强度调节剂 5.00 mL, 分别依次用 pH 3.60、4.00、4.40、4.80、5.20、5.60 的 $\text{HAc} \sim \text{NaAc}$ 缓冲溶液定容, 于离子分析仪上测定铜含量。溶液 pH 4.00 时, 测定结果换算为 10.24 mg/L, 与 10.00 mg/L 标液的误差最小, 即总离子强度调节剂中 $\text{HAc} \sim \text{NaAc}$ 缓冲液最佳 pH 为 4.00。

2.5 铜离子溶液 pH 的影响

向六个 25 mL 容量瓶中分别加 10.00 mg/L 硝酸铜溶液 0.500 mL 和 TISAB 溶液 5.00 mL, 用 pH 5.50、5.00、4.50、4.00、3.50、3.00 的硝酸溶液分别定容后测定。硝酸铜溶液 pH 4.00 时, 测定结果为 10.21 mg/L, 与 10.00 mg/L 标液的误差最小, 即待测液最佳 pH 为 4.00。

2.6 TISAB 溶液用量的确定

向六个 25 mL 容量瓶中各加 10.00 mg/L 硝酸铜溶液 0.500 mL, 加 TISAB 依次为 0.00、1.25、2.50、5.00、7.50、10.00 mL, 用 pH 4.00 硝酸溶液定容后测定。结果表明: 加入 TISAB 溶液 5.00 mL 时, 测定结果为 10.35 mg/L, 与 10.00 mg/L 标液误差最小, 即加入 TISAB 最佳量为 5.00 mL。

2.7 对照测定

以郑州硬质紫麦为样品, 按该法与原子吸收法进行对照测定, 电极斜率 $K = 29.56$ 。火焰原子吸收法设定的工作灯电流 5.0 mA; 波长 324.78 nm; 光谱带宽 0.4 nm; 燃气流量 2 000 mL/min; 燃烧器高度 6.0 mm; 负高压 300 V。结果如表 2。

表 2 加标直读法与火焰原子吸收法对照测定结果

测定方法	硬质紫麦铜含量/($\mu\text{g/g}$)	测定结果/($\mu\text{g/g}$)	P 值
火焰原子吸收法	4.355, 4.172, 3.996, 4.527,	4.26 ± 0.190	>0.05
	4.215, 4.416, 4.084		
标准加入直读法	4.336, 4.510, 3.801, 4.283,	4.31 ± 0.303	
	4.441, 4.055, 4.717		

通过 F 检验和 t 检验表明: 加标直读法与火焰原子吸收法之间既不存在显著的偶然误差, 也不存在显著的系统误差, 结论的置信度为 95%。

2.8 精密度和检出限

取 1.00 mg/L 铜离子标准溶液 25.00 mL, 按试验方法进行 11 次平行测定, 添加 ρ_s 为 100.0 mg/L 的标液体积 V_{add} 为 0.20 mL。测定的相对标准偏差 RSD 为 7.2%, 按三倍标准偏差 (3S) 计算, 该法对铜离子的检出限为 0.027 8 $\mu\text{g/g}$ 。

2.9 回收率

以郑州灰麦为样品, 向消解管中加 2.50 mg/L 的铜标准溶液后, 按实验步骤进行了 6 次回收率实验表明, 回收率在 90.5%~105.4% 之间。

2.10 小麦中铜的测定结果

对各地种植的小麦铜含量进行 6 次平行测定, 含量均值如表 3。

表3 小麦全麦粉中的铜含量均值 $\mu\text{g/g}$

品种	郑州地区	漯河地区	巩义地区	焦作地区	商丘地区	麦种本底
硬质紫麦	4.274	5.286	7.287	5.428	4.917	6.131
普通紫麦	3.614	5.191	5.662	5.038	4.371	5.484
灰麦	3.091	5.702	7.097	6.070	5.558	6.429
蓝麦	4.524	6.016	7.808	6.202	5.869	6.583
偃展4110	3.177	4.099	5.785	4.308	3.988	4.656
周麦16	2.171	2.463	4.599	3.809	2.343	4.222

由表3知,同一麦种在不同地区种植后铜含量不同。巩义种植的各品种小麦铜含量均较高,且高于麦种本底,其它地区铜含量均低于麦种本底,含量相对最低的是郑州。

由表4知,硬质紫麦除漯河、焦作、商丘间无差异外,其他地区和本底有显著性差异;普通紫麦除漯河和巩义间、焦作和漯河、本底间无显著性差异外,其他各地区和本底间有显著性差异;灰麦除漯河和焦作间、漯河和商丘间、焦作和本底间无显著性差异外,其他各地和本底间有显著性差异;蓝麦除漯河和焦作、本底间,漯河和焦作、商丘间无显著性差异外,

其他各地和本底间有显著性差异;偃展4110除漯河和商丘、焦作间,焦作和本底间无显著性差异外,其他各地和本底间有显著性差异;周麦16除郑州、漯河和商丘间无差异外,其他各地区和本底间有显著性差异。

同一地区种植小麦品种不同,铜含量不同,蓝麦的铜含量最高,周麦16的铜含量最低,小麦中的铜含量存在品种间的差异性,如表5。

由表5知,郑州硬质紫麦的铜含量仅次于蓝麦,除偃展4110和灰麦间、硬质紫麦和蓝麦间无显著性差异外,其它各品种间有显著性差异;漯河除灰麦和普通紫麦、硬质紫麦间,灰麦和蓝麦间无显著性差别外,其它各品种间有显著性差异;巩义地区除偃展4110和普通紫麦间,硬质紫麦和灰麦间无显著性差异外,其它各品种间有显著性差异;焦作灰麦铜含量仅次于蓝麦,除硬质紫麦和普通紫麦间,灰麦和蓝麦间无显著性差异,其它各品种间有显著性差异;商丘灰麦铜含量仅次于蓝麦,且无显著性差异,其它各品种间存在显著性差异。

表4 不同地区小麦铜含量的差异性 $\mu\text{g/g}$

产地	硬质紫麦 ($\bar{X} \pm S$)	普通紫麦 ($\bar{X} \pm S$)	灰麦 ($\bar{X} \pm S$)	蓝麦 ($\bar{X} \pm S$)	偃展4110 ($\bar{X} \pm S$)	周麦16 ($\bar{X} \pm S$)
郑州	4.27 ± 0.279 ^a	3.61 ± 0.341 ^a	3.09 ± 0.205 ^a	4.52 ± 0.398 ^a	3.18 ± 0.177 ^a	2.17 ± 0.161 ^a
漯河	5.29 ± 0.492 ^b	5.19 ± 0.404 ^{cd}	5.70 ± 0.651 ^{bc}	6.02 ± 0.336 ^{bc}	4.10 ± 0.253 ^b	2.46 ± 0.272 ^a
巩义	7.29 ± 0.270 ^d	5.66 ± 0.316 ^d	7.10 ± 0.210 ^e	7.81 ± 0.305 ^d	5.79 ± 0.379 ^d	4.60 ± 0.416 ^d
焦作	5.43 ± 0.449 ^b	5.04 ± 0.132 ^e	6.07 ± 0.207 ^{cd}	6.20 ± 0.407 ^{bc}	4.31 ± 0.399 ^{bc}	3.81 ± 0.146 ^b
商丘	4.92 ± 0.114 ^b	4.37 ± 0.104 ^b	5.56 ± 0.136 ^b	5.87 ± 0.537 ^b	3.99 ± 0.224 ^b	2.34 ± 0.256 ^a
本底	6.13 ± 0.150 ^e	5.48 ± 0.380 ^{cd}	6.43 ± 0.107 ^d	6.58 ± 0.354 ^e	4.66 ± 0.231 ^e	4.22 ± 0.241 ^e

注:同一列相同字母表示差异不显著,不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。

表5 同一地区不同品种小麦的铜含量的差异性 $\mu\text{g/g}$

品种	郑州 ($\bar{X} \pm S$)	漯河 ($\bar{X} \pm S$)	巩义 ($\bar{X} \pm S$)	焦作 ($\bar{X} \pm S$)	商丘 ($\bar{X} \pm S$)
硬质紫麦	4.27 ± 0.279 ^d	5.29 ± 0.492 ^e	7.29 ± 0.270 ^e	5.43 ± 0.449 ^e	4.92 ± 0.114 ^d
普通紫麦	3.61 ± 0.341 ^e	5.19 ± 0.404 ^e	5.66 ± 0.316 ^b	5.04 ± 0.132 ^e	4.37 ± 0.104 ^e
灰麦	3.09 ± 0.205 ^b	5.70 ± 0.651 ^{cd}	7.10 ± 0.210 ^e	6.07 ± 0.207 ^d	5.56 ± 0.136 ^e
蓝麦	4.52 ± 0.398 ^d	6.02 ± 0.336 ^d	7.81 ± 0.305 ^d	6.20 ± 0.407 ^d	5.87 ± 0.537 ^e
偃展4110	3.18 ± 0.177 ^b	4.10 ± 0.253 ^b	5.79 ± 0.379 ^b	4.31 ± 0.399 ^b	3.99 ± 0.224 ^b
周麦16	2.17 ± 0.161 ^a	2.46 ± 0.272 ^a	4.60 ± 0.416 ^a	3.81 ± 0.146 ^a	2.34 ± 0.256 ^a

注:同一列相同字母表示差异不显著,不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。

2.11 土壤中的铜含量

按1.3方法处理土壤样品和进行测定,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,结果如表6。

表6 土壤样品中的铜含量 $\mu\text{g/g}$

种植地区	土壤中铜含量					平均值	RSD/%
郑州	12.63	12.75	11.91	11.35	11.81	12.09	4.9
漯河	14.40	14.59	15.39	15.95	15.20	15.11	4.1
巩义	25.28	23.14	25.52	26.19	25.85	25.20	4.8
焦作	16.22	17.92	17.74	16.02	15.90	16.76	5.9
商丘	17.73	17.68	18.16	18.87	17.27	17.94	3.4

其中,巩义地区土壤中铜含量最高,郑州地区最低。

2.12 小麦中铜的生物吸收比

铜的生物吸收比是植物干基样品中铜的质量分数占其生长土壤干基中铜质量分数的百分比,它表征植物从环境中吸收、富集铜的能力和水平,是筛选和评价小麦富铜水平的重要参数。由表3和表6计算的小麦生物吸收比如表7。

表7 小麦铜的生物吸收比 %

产地	硬质紫麦	普通紫麦	灰麦	蓝麦	偃展4110	周麦16
郑州	35.35	29.89	25.07	37.42	26.28	17.96
漯河	34.98	34.35	37.74	39.81	27.13	16.30
巩义	28.92	22.47	28.16	30.98	22.96	18.25
焦作	32.39	30.06	36.22	37.00	25.70	22.73
商丘	27.41	24.36	30.98	32.71	22.23	13.06

从表7可以看出,同一生长环境,不同品种小麦对土壤铜的富集程度不同。蓝麦的生物吸收比较大,周麦16生物吸收比较小,表明生物吸收比与品种的生理特性和基因密切相关。同品种小麦生长环境不同,铜的吸收比也不同,可能与土壤中铜的存在形态有一定关系。因此,小麦对土壤铜的选择性吸收、富集量大小与生长环境、土壤性质和小麦品种密切相关。

3 结论

建立了微波消解样品,加标浓度直读法快速测定小麦及其生长土壤中微量铜的新方法,计算出了不同品种在不同地区种植后的生物吸收比,为小麦种植过程中铜的迁移富集特性提供依据。该法所用

仪器便携、操作简便、读数直观,与火焰原子吸收法对照测定,经显著性检验表明两种方法间不存在显著的偶然误差和系统误差。研究结果表明,小麦的生物吸收比与品种和种植地区的土壤环境相关,彩色小麦铜的生物吸收比普遍高于普通小麦。其中,蓝麦的生物吸收比为30.98%~39.81%,高于其它品种;巩义地区种植的各品种小麦和土壤中铜的含量均高于其它地区,焦作和漯河地区种植的彩色小麦铜的生物吸收比高于30%。

参考文献:

- [1]赵保路.尼古丁预防帕金森氏综合症和老年痴呆症的分子机理研究[J].生物物理学报,2007,23(2):81-92.
- [2]侯振江,孟晨阳.铜代谢及其临床意义[J].微量元素与健康研究,2002,19(3):68-70.
- [3]丛涛,赵霖.微量元素铜铁硒锰的检测及临床营养学意义[J].微量元素与健康研究,2006,23(6):59-61.
- [4]顾佳丽,赵刚,马占玲.超声波提取一原子吸收光谱法测定谷物中镉、铜、铅和锌的含量[J].食品科学,2013,34(8):168-171.
- [5]苑鹤,王卫娜,吴秋华,等.磁性石墨烯/原子吸收法测定环境水样中的痕量铜[J].分析测试学报,2013,32(1):69-73.
- [6]王明锐,陶宁丽,袁友明,等.干法消解—等离子光谱法同时测定大米中的铜和镉[J].绿色科技,2014,(5):250-251.
- [7]Cai N, An F Q, Ma X L. Determination of copper ion concentration by Conductometric titration method using Chelate complex - Triethylenetetramine as the titration agent[J]. J Guangxi Univ, 2006, 31(3): 241-244 (in Chinese).
- [8]Cheng Q, Dong H R. Solvent Sublation Using Dithizone as a Ligand for Determination of Trace Elements in Water Samples [J]. Microchimica Acta, 2005, 150(1): 59-65.
- [9]潘玉珍,汪东,何云飞.用靛蓝胭脂红-H₂O₂流动注射化学发光法测定水样中的铜(II)[J].化学研究,2014,(5):488-491.
- [10]Chen H Q, Liang A N, Wang L, et al. . Ultrasensitive determination of Cu²⁺ by synchronous fluorescence spectroscopy with functional nanoparticles[J]. Microchimica Acta, 2009, 164(3-4):453-458.
- [11]朱浩嘉,潘道东,顾愿愿,等.同位体汞阳极溶出伏安法测定牛奶中镉、铅、铜[J].食品科学,2014,35(8):121-124.
- [12]Ferial Dendougui, Georg Schwedt. Use of an ion selective electrode to determine the complexing of copper in food extracts dependent upon the pH[J]. European Food Research and Technology. 2002, 215(1):76-82. 完