

离子色谱法测定水稻叶片中草酸根离子

徐霞*, 应兴华, 谢黎虹

(农业部稻米及制品质量监督检验测试中心、中国水稻研究所, 杭州 310006)

摘要: 研究建立了带抑制电导检测器的离子色谱测定水稻叶片中草酸根离子的分析方法。样品经去离子水超声提取后上机分析。采用离子交换分离, 抑制电导测定, 外标法定量。 $C_2O_4^{2-}$ 的最小检出量为 1.25×10^{-10} g, 加标回收率为 85.5% ~ 100.0%, 相对标准偏差 < 5%。

关键词: 离子色谱; 水稻; 草酸根离子

草酸是一种最简单的二元羧酸, 它在调节细胞 Ca^{2+} 浓度、促进 HNO_3 还原、诱导植物抗病性、螯溶土壤中难溶性磷和缓解酸性土壤铅毒等方面起着重要作用。水稻叶片中含有大量草酸, Yoshihara 等在研究水稻抗性时, 发现草酸对褐稻虱有拒食作用^[1]。草酸一般以可溶性的钾盐、钠盐或不溶性的草酸钙结晶存在于水稻叶片的植物细胞中, 其中以草酸钙结晶最为普遍, 且易于测定。而可溶性草酸盐是膨压和渗透调节的重要物质。国内外学者普遍采用高锰酸钾滴定法^[2-3]测定植物体内草酸的含量, 而有关植物体内游离态草酸根离子测定的研究则相对较少^[4-8]。因此, 本文试将带抑制电导检测器的离子色谱用于水稻叶片中草酸根离子的分析, 研究了样品前处理和有关色谱条件, 建立了快速、准确、简便的分析方法。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

ICS-2000 型离子色谱仪 (美国, Dionex), 配 EG40 电导检测器和 Chromeleon(r) 色谱工作站; Dionex IonPacAS11 (250 mm × 4 mm) 分析柱, T-25 型高速组织捣碎机 (德国, IKA), A-11 型分析用研磨机 (德国, IKA), KQ-800TDE 型高频数控超声波清洗器 (江苏), 恒温水浴箱。

分析和测定用水均为去离子水 (由 Millipore 公司的纯水器制得); 草酸钠为工作基准试剂, 购自北京化学试剂研究所。

1.2 标准溶液

$C_2O_4^{2-}$ 标准储备液用草酸钠配成浓度为 1.0 g/L 备用, 测定时采用逐级稀释法, 用去离子水稀释成浓度分别为 0、0.02、0.4、2、5、10、20 mg/L 的系列作为标准曲线的试液。

1.3 样品前处理

将田间采集的水稻叶片清水洗后, 用去离子水清洗、晾干。取一定量的叶片剪碎, 置于研磨机中研碎混匀后, 备用。准确称取样品 0.5 g (精确到 0.0001 g), 加入 50 mL 去离子水, 匀浆 2 min (12000 r/min), 于 60 °C 超声提取 30 min, 静置后将溶液转移至 200 mL 容量瓶, 定容, 取 1 mL 试液过微孔滤膜 (孔径 0.45 μm) 后进样。

1.4 色谱条件

EGC II-KOH 淋洗液发生器, 淋洗液浓度为 10 mmol/L, 等度洗脱; 流速 1.0 mL/min; 柱温 and 检测器温度均为 30 °C; 抑制器为 ASRS-ULTRA II (4 mm) 自动抑制循环模式, 工作电流 25 mA; 进样量 25 μL。以保留时间定性, 外标峰面积法定量。

2 结果与讨论

2.1 淋洗液浓度的选择

为了获取最佳的分离效果, 对淋洗液浓度进行了选择, 见图 1。当淋洗液浓度为 10 mmol/L 时, $C_2O_4^{2-}$ 的保留时间为 3.56 min, 图 2 为草酸根离子的标准色谱图。

* 作者简介: 徐霞 (1976-), 女, 硕士研究生

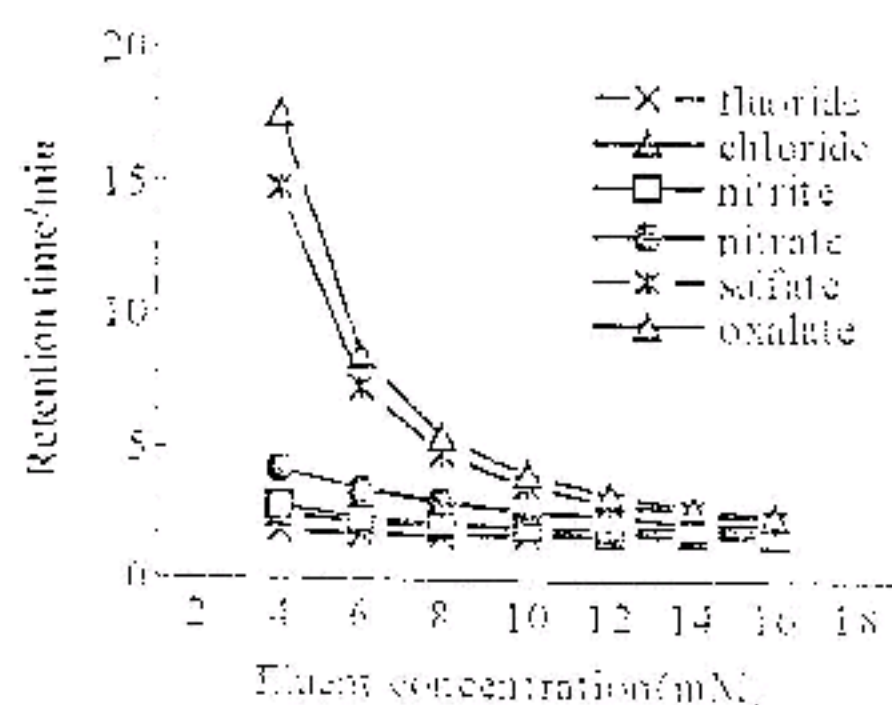


图1 淋洗液浓度对阴离子保留时间的影响

Fig.1 Retention times of anions at different eluent concentrations

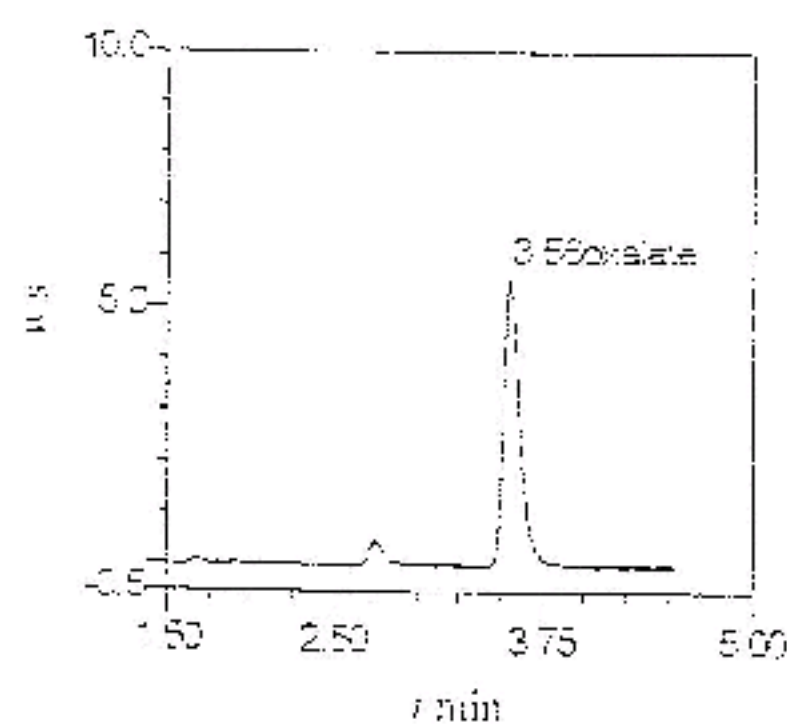


图2 标准样品的色谱图

Fig.2 Chromatogram of $C_2O_4^{2-}$ standard solution

2.2 提取方法的选择

对同一样品分别用超声提取和沸水浴^[9]两种提取方法测定 ($n = 6$)。测定平均值分别为 14.33 和 14.42 mg/g。两法的相对误差 $< 5\%$ ，经 F 检验结果显示两者无显著差异 ($p > 0.05$)。

2.3 工作曲线和检出限

在选定的色谱条件下，以 $C_2O_4^{2-}$ 浓度 ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标，以峰面积 ($\mu\text{s} \cdot \text{min}$) 为纵坐标，作面积对浓度标准曲线，得回归方程： $y = 0.1257x - 0.0066$ ，相关系数为 0.9999 ($n = 6$)。 $C_2O_4^{2-}$ 在 0.02 ~ 20 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈良好线性关系。按 $S/N = 3$ ， $C_2O_4^{2-}$ 的最小检出量为 1.25×10^{-10} g。称样 0.5 g 时，方法的最低检出限为 2 mg/kg。

2.4 精密度和准确度

对同一样品按“1.3”所述处理后进行 11 次测定，相对标准偏差 $RSD < 5\%$ 。采用标准加入法进行回收率试验，结果见表 1。图 3 ~ 4 为样品中 $C_2O_4^{2-}$ 的色谱图及标准添加色谱图。

表1 回收率测定结果 ($n = 6$)

Tab.1 The recovery of oxalate from samples ($n = 6$)

加入量 $I/(\text{mg/g})$	本底值 $I/(\text{mg/g})$	测定值 $I/(\text{mg/g})$	回收率 $/\%$	相对标准偏差 $/\%$
1.0	14.42	15.34	92.0	3.9
5.0	14.42	19.42	100.0	2.1
10.0	14.42	22.97	85.5	4.5

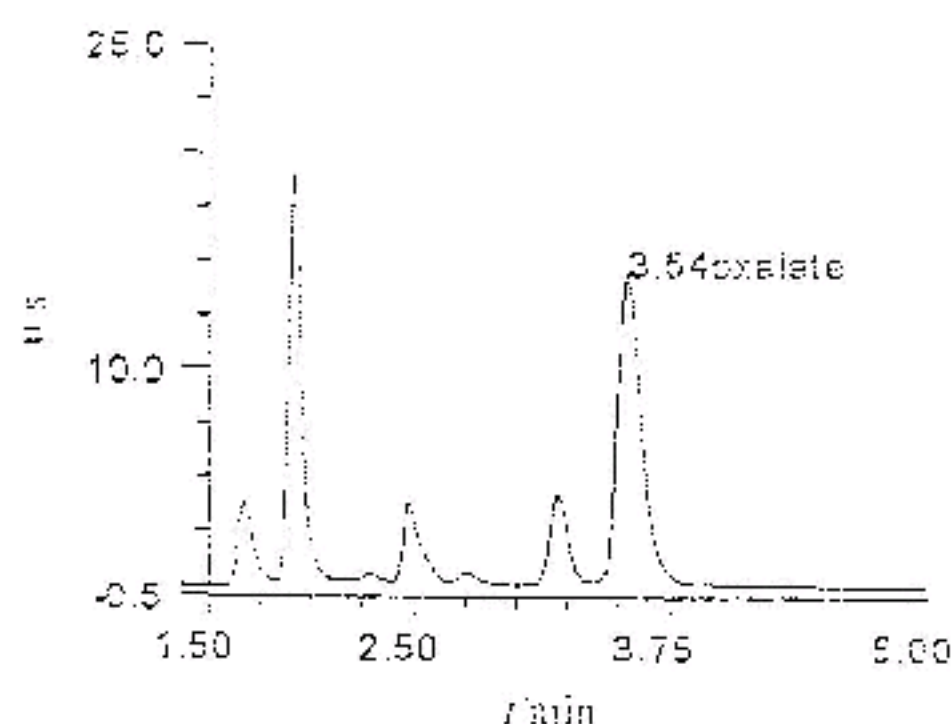


图3 样品的色谱图

Fig.3 Chromatogram of sample

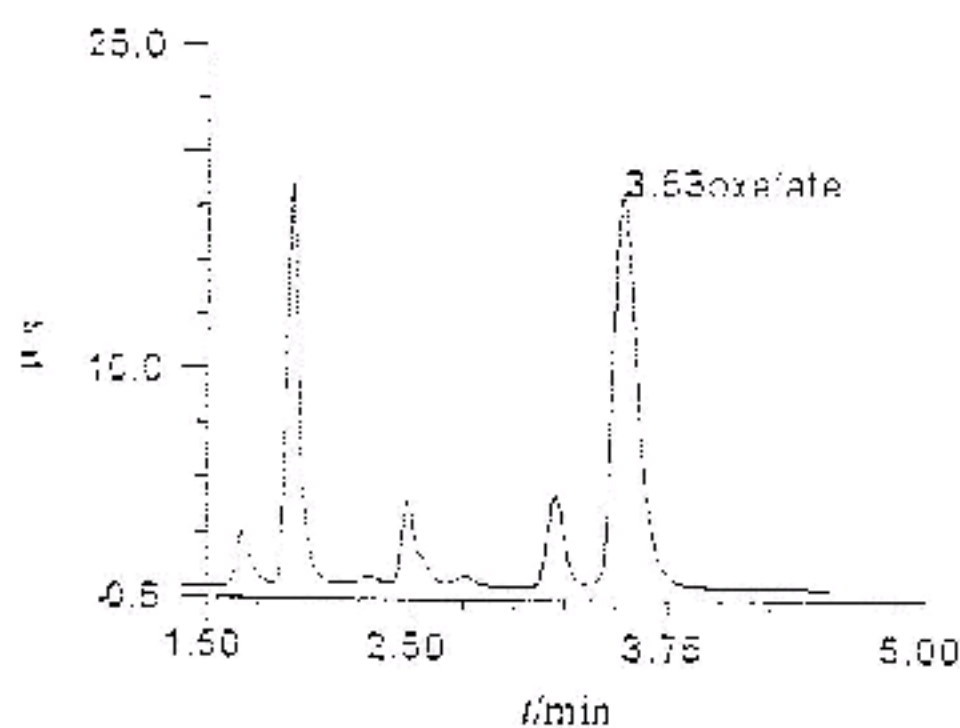


图4 添标样品的色谱图

Fig.4 Chromatogram of sample spiked with 5.0 mg/g $C_2O_4^{2-}$

3 结论

离子色谱法能快速、准确的测定水稻叶片中的草酸根离子，方法重现性好、精密度高。该方法也可用于各种植物样品中草酸根离子的检测，同时对探讨植物中各种形态草酸的代谢和生理功能也具有一定的实际意义。

致谢：感谢水稻生物学国家重点实验室陈红旗助理研究员为本研究提供水稻试验材料。

参考文献

- [1] Yoshihara T, Sogawa K, Pathak M D *et al.* Ent Exp App, 1979, 26: 314
- [2] Baker C J L. Analyst, 1954, 77: 340
- [3] Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis, 1980, 13th edn. AOAC, Washington, DC, 541
- [4] Ishii Y. Anal Sci, 1991, 7: 263
- [5] 胡敏, 刘晋匡, 贺杏清等. 营养学报, 1990, 12(1): 73
- [6] 朱岩, 徐素君. 食品科学, 1993, 7: 62
- [7] 周锦, 牟世芬, 侯小平等. 色谱, 1995, 13(5): 395
- [8] 俞乐, 彭新洲, 杨崇等. 分析化学, 2002, 30(9): 1119

Determination of oxalate in rice by ion chromatography XU Xie^{*}, YING Xing-hua and Xie Li-hong

(Rice Product Quality Supervision and Inspection Center, Ministry of Agriculture, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006)

Abstract: A rapid and simple method for determination of oxalate in rice by ion chromatography with suppressed conductivity detector was developed. The oxalate was extracted from samples with 60°C deionized water under ultrasonication. An anion-exchange column (250 mm × 4 mm) and suppressed conductivity detector were employed. External standard method was used for the quantitative analysis. The detection limits of oxalate was 1.25×10^{-10} g. The recovery of proposed method ranged from 85.5% to 100.0% and the relative standard deviation was less than 5%.

Keywords: Ion chromatography; Rice; Oxalate