

铁氰化钾分光光度法测定单宁的适用性

肖 纯 张凯农 阳长敏 侯大军

(西南农业大学食品科学学院, 重庆 630716)

摘 要 分析了 $\text{FeCl}_3\text{--K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 分光光度法测定植物单宁的适用性。结果表明, 在 $\text{pH} < 2.2$ 时的酸性介质中单宁- $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 最大吸收峰在 $680 \sim 720\text{nm}$ 之间, 绝大多数情况下吸收峰在 695nm 处, 比色液单宁浓度在 $0 \sim 80\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 时未形成沉淀前, 遵守朗伯—比耳定律。时间变异系数每分钟 $\pm 0.05\%$, 回收率 $94.7\% \sim 105.2\%$, 相对误差 $1.2\% \sim 5.3\%$ 。该方法受在酸性条件下能将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 的物质和形成沉淀的物质干扰。测定结果与鞣红—高锰酸钾滴定法相接近。

关键词 植物成分 单宁 分光光度法 铁氰化钾

单宁亦称植物多酚, 是分子量在 $500 \sim 3000$ 范围内的一系列化合物, 对植物生长、发育、繁殖、动物营养等有特殊意义。早在 200 多年前就已引起研究者的注意。单宁定量方法很多, 目前已发表的有近百种, 大体可分为重量法, 容量法, 比色法, 分光光度法, 核磁共振法, 质谱法, 色谱法等, 但只能在有限范围内应用, 至今尚无一致公认的方法。铁氰化钾分光光度法是国内最近发表的一个新方法, 虽然适用范围有限, 干扰因素较多, 但测定结果与鞣红—高锰酸钾滴定法相接近。本文探讨这一新法的适用性, 旨在对其进行验证, 以进一步推广应用。

1 材料和方法

1.1 主要仪器和设备

Beckman DU-7 型扫描分光光度计。岛津 UV-120-02 型分光光度系统。

1.2 试剂和试材

试剂: 酸(AR), 鞣酸(AR), 中国单宁(LR), 咖啡碱(LR), 抗坏血酸(AR), $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (AR), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (AR), HCl (AR), 葡萄糖(AR), 氨基酸(LR)。

试材: 市售商品茶, 水果, 蔬菜, 西南农大实验农场夏作物。

1.3 试剂配制

$0.008\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 水溶液; $0.100\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 FeCl_3 水溶液; $5\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的酸、鞣酸、中国单宁、茶多酚、抗坏血酸、咖啡碱和谷氨酸水溶液。

1.4 方法

样液制备:植物新鲜根、茎、叶、花、果等按杨伟方法^[1]处理,脱水加工后的植物材料参照 GB—8305—87 制备。

操作:吸取相当于单宁 $1\sim 40\mu\text{g}$ 的样液置于 25ml 容量瓶中,依次加入 $0.50\text{ml } 0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{FeCl}_3$,摇匀再加 $0.5\text{ml } 0.008\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 后蒸馏水或 $1\times 10^{-4}\sim 1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 HCl , NaOH 水溶液定容。分光光度计上测消光值。标准曲线制作,用不同量的纯品单宁溶液替代样液绘制标准曲线。

2 结果与讨论

2.1 吸收曲线

单宁不同浓度、不同材料的吸收曲线如图 1。

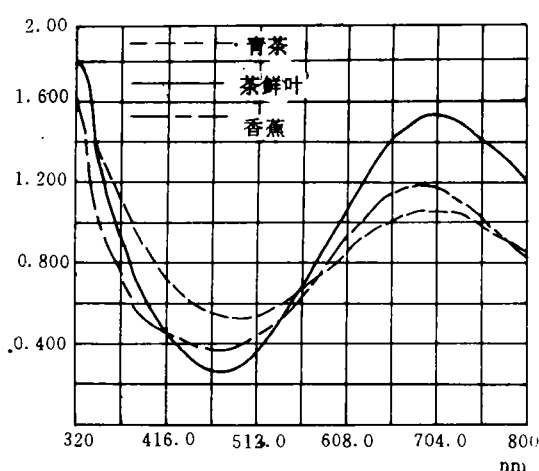


图 1 单宁— $\text{K}_3\text{Fe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 吸收光谱曲线

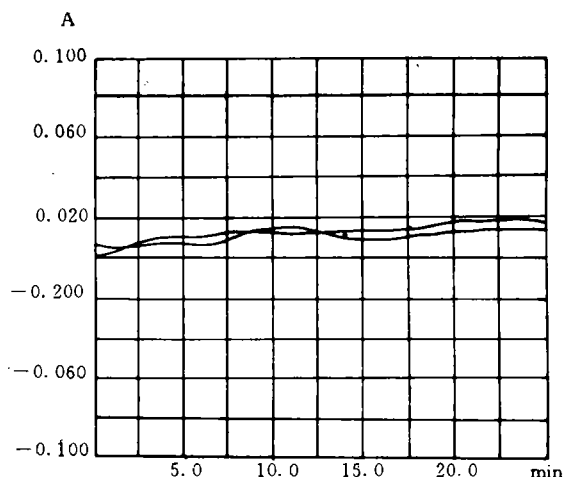


图 2 单宁— $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 时间扫描曲线

单宁— $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 反应产物的最大吸收峰稳定在 $680\sim 720\text{nm}$ 之间,因单宁来源、浓度和比色液 pH 的不同而峰点发生移动,未形成沉淀前在 695nm 处差异不明显。

2.2 时间的影响

695nm ,单宁— $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 的时间稳定性曲线如图 2。

呈色物质消光值时间变化系数在定容后 25min 的变化系数为 $\pm 0.05\%$ 。

2.3 pH 的影响

FeCl_3 水溶液呈酸性,与样液比为 $5:1$ 以上时比色液 pH 为 2.2 以下,样液制备中添加了酸、碱、盐, pH 改变, 695nm pH 消光值曲线如图 3。酸对消光值的影响很小,用浓度大于 $0.01\text{mol}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的 NaOH 定容时无吸收峰。比色液 $\text{pH } 3.2\pm 0.3$ 有一缓冲突跃。

2.4 干扰物质

在 $\text{pH}<3$ 时能将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 的物质和因素对本方法都有干扰,常见的有抗坏血酸,金属元素离子,酪氨酸等。蛋白质及在酸性条件形成沉淀的物质,吸附 $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的成分,对本方法有干扰。 $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]\cdot\text{H}_2\text{O}$ 本身很容易形成沉淀是本方法的最大缺点。

2.5 标准曲线

单宁不同,还原 Fe^{3+} 的能力也不同。测定不同试材时最好用与试材单宁组成相近的纯品制作标准曲线。茶多酚、中国单宁的标准曲线如图 4。

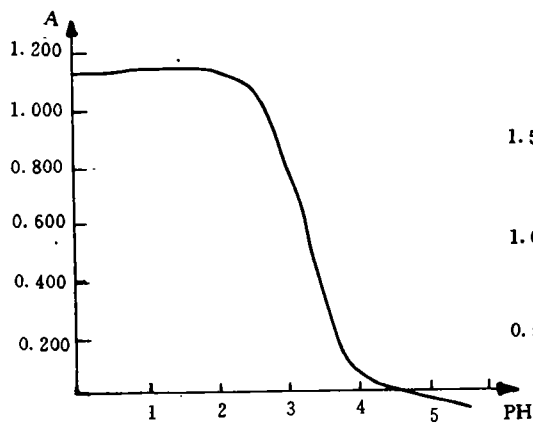


图 3 pH-消光值曲线

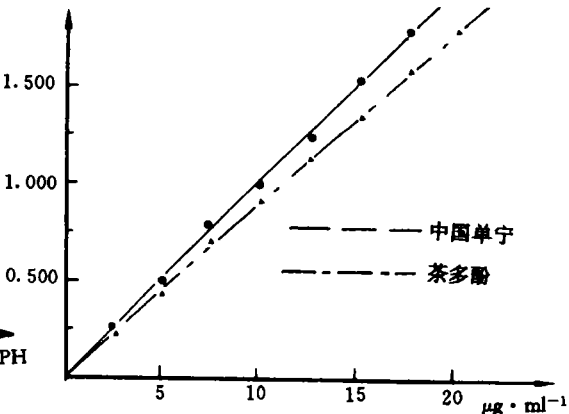


图 4 中国单宁的标准曲线

2.6. 样品分析

对不同试材直接用本方法测定单宁含量后加入相当于原始含量 10%~200% 纯品植物单宁后回收率在 94.7%~105.2% 之间,相对误差 1.2%~5.3%。

与靛红—高锰酸钾滴定法相比较结果见表 1。本方法测定结果与靛红—高锰酸钾滴定法的结果相吻合。

表 1 $\text{KFe}(\text{CN})_6$ 比色法与高锰酸钾滴定法的比较 ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)

试材	高 锰 酸 钾 滴 定 法			$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 比 色 法		
	初始值	添加 $15\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	回收率 %	初始值	添加 $15\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	回收率 %
鲜叶	19.30	34.92	104.1	19.71	35.49	105.2
绿茶	18.40	33.72	102.1	19.80	35.43	104.2
苋菜根	4.21	20.14	106.2	4.33	18.55	94.8
香蕉	7.29	22.01	98.1	7.20	21.74	96.9
黄花	2.71	16.62	92.7	2.99	17.20	94.7
水稻茎	13.41	18.58	101.1	3.20	18.07	99.1

3 结 论

本文的实验结果表明:单宁— $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 的可见光吸收峰在 680~720nm 之间;本方法受在酸性条件下还原 Fe^{3+} 的物质形成沉淀和吸附 $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的物质干扰; $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ —单宁的稳定性受 pH 的影响,pH<2.5 时影响不明显;不同单宁还原 Fe^{3+} 的能力不同,方法限于测定能用相近还原能力的纯品绘制标准曲线的样品; $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot \text{H}_2\text{O}$ 本身很容易形成沉淀而影响测定。

参 考 文 献

- 1 杨伟:分光光度法测定果实中的单宁. 华北农学报, 1993, 8(2): 116~119
- 2 中国标准出版社总编室编. 中华人民共和国国家标准. 第 97 卷. 1992, 538~539
- 3 Kuntzel A. Gerbereichemisches Taschenbuch. Verlag von Theodor Setinkopff, 1955, 17—119
- 4 鞠志国. 一种改进的酚类物质测定方法. 莱阳农学院学报, 1989, 6(2): 48~51

Applicability of $K_3Fe(CN)_6$ and Its Visible Absorptiometry in Determining Tannins

Xiao Chun Zhang Kainong Yang Changmin Hou Dajun

(College of Food Science, Southwest Agricultural University, Chongqing 630716)

Abstract The applicability of $K_3Fe(CN)_6$ and visible absorptiometry in determining plant tanins was analysed. The result indicated that under acidity conditions ($pH < 2.2$) its peak absorption wavelength lies between 680—720nm, mostly at 695 nm. The concentration of tannin in the range of 1—80 $\mu g \cdot ml^{-1}$ is in accord with the Lambert—Ber's Law. The Extinction coefficient changing within 25 minutes is $\pm 0.05\%$ per minut, the tannin recovery rate is between 91.7% and 105.2%, and the relative error between 1.2—5.3%. Under acidity conditions the whole process is disturbed from those materials that are able to reduce Fe^{+3} to the Fe^{+2} and those that have been precipitated. The result mentioned above is similar to that of indigored—permanganate titration.

Key words: Plant ingredient; Tannin; Visible absorptiometry; $K_3Fe(CN)_6$