

分光光度法测定果实中的单宁

杨 伟

(山东农业大学基础部, 泰安 271018)

摘 要 利用 $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 深蓝色配合物进行分光光度法测定果实中的单宁, 结果表明, 在 $\text{pH}2.5 \sim 3.0$ HCl 介质中, $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的最大吸收波长在 760nm ; 在 760nm 处, $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的摩尔吸光系数为 $7.4 \times 10^5 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; 单宁浓度在 $0.1 \sim 1.6 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 范围内遵守 Beer 定律; 回收率在 $96.0 \sim 103.3\%$ 之间; 多次平行测定的变异系数约为 1.6% 。

关键词 果实 单宁 吸光度 分光光度法

单宁广泛存在于植物的叶、果实、树皮、树木和根等植物器官中, 它与果实成熟前后的涩味、苦味和霉褐变密切相关。因此, 测定果实中单宁的含量具有重要意义。以往的测定多采用 KMnO_4 滴定法^[1,2], 但操作繁杂, 并有不易判断滴定终点的弊病^[3]。在 HCl 介质中, 单宁能将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , Fe^{2+} 与 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 反应生成 $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 蓝色配合物, 其色深浅与单宁含量成正比。根据这个原理, 利用分光光度法即可测定果实中的单宁, 这一方法, 尚未见报道。鉴于此, 本文探讨了形成 $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 进行分光光度法测定果实中单宁的适宜条件和方法。应用该法测定柿子、苹果、香蕉等样品中的单宁含量, 得到满意的结果。

1 实验方法

1.1 主要仪器和试剂

仪器 722 型光栅分光光度计(上海第三分析仪器厂); UV-120-02 型分光光度计(日本岛津)。

试剂 优级纯单宁配成 $100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 标准溶液, 用前稀释 10 倍; 其他试剂均为分析纯; FeCl_3 ; 配成 HCl 溶液。

1.2 处理方法

将果实洗净去皮, 按常规法取样, 置组织捣碎机中捣碎, 称取捣碎均匀的样品 $15\text{g} \sim 20\text{g}$, 用蒸馏水定量地转移入 250ml 容量瓶中, 充分摇动后定容, 摇匀, 干滤纸过滤。滤液即为待测试液。

吸取一定量单宁标准溶液或待测试液, 置于 25ml 比色管中, 依次加入蒸馏水 10ml 、 $0.100\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{FeCl}_3$ 0.50ml , 摇动, 待 5min , 加 $0.008\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0.50ml , 蒸馏水定容, 摇匀, 30min 后, 于 760nm 测定吸光度, 试剂空白作参比。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱曲线

用不同浓度的单宁溶液,按实验方法显色后,对不同波长的光测定吸光度(采用 UV-120-02 型分光光度计)。KFe[Fe(CN)₆]配合物的吸收光谱曲线为图 1。图 1 明显显示出,在 pH 2.5~3.0 的 HCl 介质中显色后,形成的深蓝色 KFe[Fe(CN)₆]配合物的最大吸收波长在 760nm。

2.2 溶液酸度的影响

用浓度为 $1.000\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的单宁溶液,在不同 pH 条件下显色,于 760nm 测定吸光度,绘制 A-pH 曲线(图 2)。图 2 表明,溶液 pH 值在 2.5~3.0 范围内,配合物的吸光度最大,而且基本不变。我们即在这一 pH 范围内显色。

2.3 标准曲线

取一系列不同浓度的标准单宁溶液,按实验方法显色后,在 1cm 比色皿中,于 760nm,分别测定吸光度,绘制标准曲线(图 3)。图 3 表明,单宁浓度在 $0.1 \sim 1.6\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

2.4 摩尔吸光系数

用不同浓度的单宁标准溶液,按实验方法显色后,在 1cm 比色皿中于 760nm 分别测定吸光度,计算后得配合物的摩尔吸光系数为 $7.4 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (表 1)。说明 KFe[Fe(CN)₆]吸收光灵敏。

2.5 样品分析

2.5.1 回收试验 于已测得单宁含量的果实浸提液中,加入一定量的单宁,对加入单宁的量进行回收试验。在不同浓度的果实浸提液中加入不同量的单宁,回收率在 96.00%~103.30%之间(表 2)。

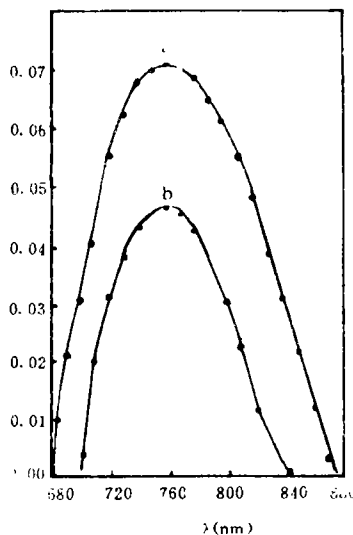


图 1 KFe[Fe(CN)₆]的吸收光谱曲线

a. $0.800\mu\text{g}$ 单宁/ml b. $1.000\mu\text{g}$ 单宁/ml

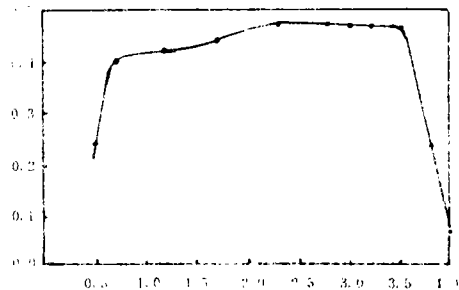


图 2 A-pH 曲线

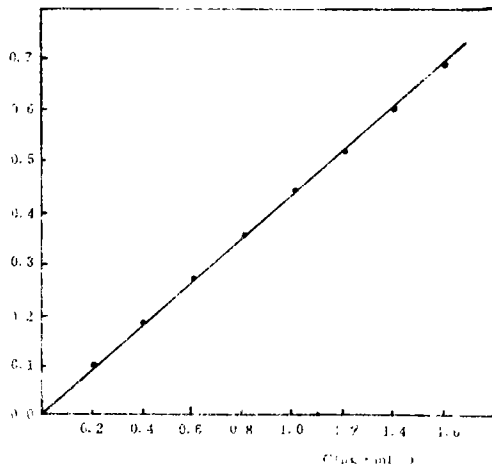


图 3 单宁的标准曲线

表1 $KFe[Fe(CN)_6]$ 的摩尔吸光系数

单宁浓度($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	吸光度(A^*)	摩尔吸光系数($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)
0.600	0.264	7.5×10^5
0.800	0.342	7.3×10^5
1.000	0.433	7.4×10^5

* $L = 1\text{cm}$

表2 果实浸提液中加入单宁的回收试验

果 实	浸提液中单宁浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	加入单宁的量 ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	检出单宁总量 ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	回收率 (%)
柿 子	0.765	0.100	0.862	97.00
	1.028	0.300	1.325	99.00
	0.350	0.500	0.853	100.60
	0.552	0.700	1.230	96.86
	0.240	0.900	1.134	99.33
	0.375	1.100	1.490	101.40
苹 果	0.337	0.200	0.530	96.50
	0.712	0.400	1.110	99.50
	1.180	0.600	1.800	103.30
	0.155	0.800	0.950	99.38
	0.530	1.000	1.540	101.00
	0.530	1.200	1.728	99.83
香 蕉	0.790	0.100	0.886	96.00
	0.417	0.300	0.708	97.00
	0.417	0.500	0.900	96.60
	0.960	0.700	1.652	98.86
	0.160	0.900	1.070	101.10
	0.408	1.100	1.503	99.55

回收实验结果表明,测定的系统误差合乎要求,分析方法是可用的。

2.5.2 测定结果及精密度 对柿子、苹果、香蕉的提取液进行多次平行测定,各9次平行测定结果的相对标准偏差约为1.6%(表3),说明该法测定结果重复性较好。

表3 三种水果测定结果之精密度

果实提取液	测定结果($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)			平均值 ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	标准偏差	变异系数(%)
柿 子	0.646	0.636	0.638	0.634	± 0.009836	± 1.55
	0.620	0.643	0.622			
	0.629	0.626	0.644			
苹 果	0.591	0.603	0.581	0.593	± 0.01033	± 1.74
	0.591	0.593	0.579			
	0.599	0.590	0.612			
香 蕉	0.781	0.787	0.770	0.779	± 0.01086	± 1.39
	0.763	0.784	0.789			
	0.775	0.793	0.765			

测定结果表明,利用形成 $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 深蓝色配合物,采取分光光度法可以测定果实浸提液中单宁的含量,而且具有方法简便快速及灵敏度、准确度和精密度较高的特点。

参 考 文 献

- 1 黄伟坤等. 食品检验与分析. 北京:轻工业出版社,1989;545~546
- 2 北京农业大学园艺系. 果蔬贮藏加工学实验指导书. 1981;18~19
- 3 [日]作物分析法委员会. 栽培植物营养诊断分析测定法. 北京:农业出版社,1984;690

Determination of Tannin in Fruit by Visible Absorptiometry

Yang Wei

(*Shandong Agricultural University, Taian, 271018*)

Abstract Fe^{3+} could be restored to Fe^{2+} by tannin in hydrochloric acid medium, and Fe^{2+} reacted with $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ formed a blue matter which was $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, the shade of the colour was direct proportion with the amount of tannin in solution. According to these principles, a method for determination tannin in fruit by visible absorptiometry was advanced. The results showed that at pH 2.5—3.0 in medium hydrochloric acid, the maximum absorbing wavelength of the matter at 760 nm; at this point, the molar absorptivity of the matter was $7.4 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; and the concentration of tannin in the range of 0.1—1.6 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, complied with Beer's law; the rate of recovery of tannin was between 96.0 and 103.3 percent; the coefficient of variation determined in several parallel tests was 1.6 percent.

Key words: Fruit; Tannin; $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; Absorbance; Visible absorptiometry