

刘荣森,赵文善,张长水. 铁氰化钾分光光度法测定茶叶中的铁[J]. 江苏农业科学,2015,43(9):344-346.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.111

铁氰化钾分光光度法测定茶叶中的铁

刘荣森¹, 赵文善², 张长水³

(1. 河南林业职业学院,河南洛阳 471002; 2. 河南大学化学化工学院,河南开封 475004; 3. 河南科技大学化工与制药学院,河南洛阳 471003)

摘要:为了探索茶叶中总铁含量测定的新方法,利用湿法把茶叶消化,使茶叶中的铁游离出来,加入 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ 使 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,再加入 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, Fe^{2+} 与 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 生成可溶性普鲁士蓝,再通过测定普鲁士蓝的吸光度来测定茶叶中总铁的含量。 Fe^{3+} 含量在 $0.02 \sim 9.60 \mu\text{g}/\text{mL}$ 均具有良好的线性关系,线性回归方程 $D = 0.1842C + 0.0288$ (D 为吸光度; C 为质量浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$),相关系数 $r = 0.999$ 。测定了市售 3 种茶叶中铁的含量,平均加样回收率为 97.47%。该法具有分析成本低、试剂无毒、操作简单、灵敏度高、线性范围较宽、仪器普及率高等优点。

关键词:普鲁士蓝;分光光度法;茶叶;铁

中图分类号: O657.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0344-02

茶叶具有止渴、清神、利尿、治咳、祛痰、明目、益思、除烦去腻、驱困轻身、消炎解毒等功效。茶叶中含有茶单宁、蛋白质、生物碱、果胶、氨基酸、钾、钙、镁、锰、铁等。其中铁元素在人体中具有造血功能,参与血红蛋白、细胞色素及各种酶的合成,促进生长,铁还在血液中起运输氧和营养物质的作用。人体缺铁可导致缺铁性贫血、免疫功能下降和新陈代谢紊乱。测定茶叶中的铁含量对茶叶营养价值的评估具有重要的意义。已报道的茶叶中铁的测定方法有:光化学伏安法^[1]、分光光度法^[2-4]、原子吸收光谱法^[5-8]、荧光熄灭法^[9]等。利用生成普鲁士蓝的可见光分光光度法测定茶叶中的铁含量还未见报道。本试验首先把茶叶消化,加入 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$,使茶叶中的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,然后加入 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, Fe^{2+} 与 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 生成可溶性普鲁士蓝,通过测定普鲁士蓝在 712 nm 处的吸光度来测定茶叶中总铁的含量。本法所用仪器简单,操作容易,干扰少,所用试剂无毒且价格便宜,测定灵敏度高、线性范围较宽,应用于茶叶中铁含量的测定,结果令人满意。

1 材料与方 法

1.1 试剂与材料

铁标准溶液($10 \mu\text{g}/\text{mL}$):用十二水硫酸铁铵(AR,天津市光复精细化工研究所)配制,准确称取 0.4317 g 十二水硫酸铁铵,加入 6 mol/L 硫酸 10 mL 及适量蒸馏水溶解,转移至 500 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,配制含铁 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液。准确移取含铁 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液 20.00 mL,转移至 200 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀。盐酸羟胺(10%):称取盐酸羟胺(AR,国药集团化学试剂有限公司)4.0 g,放入小烧杯中,加入 36 mL 蒸馏水,搅拌溶解,转移入棕色试剂瓶中(临用时配制)。铁氰化钾($1.500 \text{ mmol}/\text{L}$):称取 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (AR,天津市德恩化学

试剂有限公司)0.2469 g,放入小烧杯,加入适量蒸馏水溶解,转移至 500 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀。

市售茶叶 3 种:信阳毛尖、安溪铁观音、祁门红茶,均购自洛阳市茶叶市场。

1.2 仪器

TU-1900 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);电子天平(上海奥豪斯仪器有限公司);PHS-3C 型精密酸度计(上海大普仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 样品处理 样品按照王功平等^[10]、陈祥海等^[11]的方法进行处理,首先把样品放入烘箱中,90℃烘干至恒质量。把样品研碎,称取茶叶样品 2.0000 g,放入 200 mL 三角瓶中,加入 30 mL 浓硝酸和 3 mL 浓硫酸,放置过夜,将三角瓶放在电炉上加热至沸腾 20~30 min,溶液呈棕黄色,冷却,再加入 2 mL 浓硝酸,煮沸,重复以上操作,当加浓硝酸不再显示棕色时,说明茶叶已消化完全,这时溶液呈澄清状态,继续加热煮沸至冒白烟。冷却,转移至离心管中,用离心机 4 000 r/min 离心 30 min。弃去沉淀,把上清液转移入 50 mL 容量瓶中,用氢氧化钠溶液调节溶液 pH 值为 1.0,加水至刻度。

1.3.2 测定方法 准确移取 2.00 mL 茶叶提取液,放入 12.50 mL 比色管中,加入 1.00 mL 10% 的盐酸羟胺,再加入 1.80 mL $1.500 \text{ mmol}/\text{L}$ 的 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液,用蒸馏水稀释至刻度,室温放置 10 min,以试剂空白为参比,用分光光度计测定溶液在 712 nm 处的吸光度。

2 结果与分析

2.1 反应机理

通过消化反应使茶叶中的铁游离,然后加入盐酸羟胺使 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,再加入 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, Fe^{2+} 与 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 生成可溶性普鲁士蓝。通过测定普鲁士蓝在 712 nm 处的吸光度可间接测定茶叶中总铁的含量。

2.2 最大吸收波长的选择

按照“1.3”节的试验方法,以试剂空白为参比,用 TU-1900 双光束紫外可见分光光度计扫描生成可溶性普鲁

收稿日期:2014-12-26

基金项目:国家自然科学基金(编号:51105130)。

作者简介:刘荣森(1964—),男,河南洛阳人,硕士,副教授,主要从事植物成分分析。E-mail:hnlxddd@163.com。

士蓝在 500~900 nm 的吸收光谱。图 1 表示生成可溶性普鲁士蓝的光吸收曲线,最大吸收波长为 712 nm,故本试验选择测定波长为 712 nm。

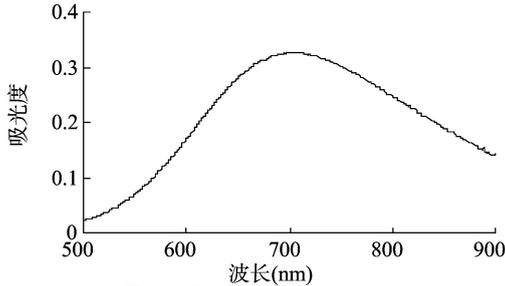


图1 可溶性普鲁士蓝的吸收光谱

2.3 $K_3[Fe(CN)_6]$ 的用量

考察了 $K_3[Fe(CN)_6]$ 用量对吸光度的影响。图 2 表示 $K_3[Fe(CN)_6]$ 用量为 0.4~3.0 mL 时,溶液的吸光度变化。当 $K_3[Fe(CN)_6]$ 用量为 1.80 mL 时,吸光度达到最大,继续增加 $K_3[Fe(CN)_6]$ 的用量,溶液吸光度基本保持不变,说明 $K_3[Fe(CN)_6]$ 已与还原生成的 Fe^{2+} 完全反应,故选择 1.500 mmol/L $K_3[Fe(CN)_6]$ 溶液用量为 1.80 mL。

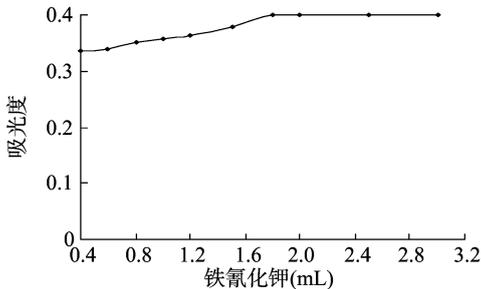


图2 铁氰化钾用量对吸光度的影响

2.4 pH 值及显色时间的选择

考察了 pH 值对吸光度的影响,当 pH 值在 0.5~4.0 范围内,考察了不同 pH 值溶液吸光度的变化情况,图 3 表示了溶液 pH 值对吸光度的影响。当溶液的 pH 为 1.0 时,溶液的吸光度最大,随着溶液 pH 值的增大,溶液的吸光度逐渐减小。故本试验选择 pH 值为 1.0。

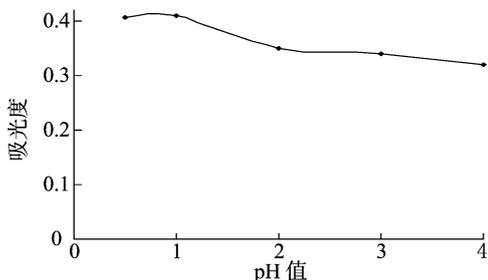


图3 pH 值对吸光度的影响

$K_3[Fe(CN)_6]$ 与 Fe^{2+} 生成可溶性普鲁士蓝的反应在室温下就能进行,考察了显色时间对吸光度的影响,从放置时间 1 min 到 30 min,每 5 min 测定 1 次吸光度,观察溶液吸光度的变化情况。溶液的吸光度从 5 min 到 30 min 几乎保持不变。故本试验选择放置时间为 10 min。

2.5 干扰物质的影响

在最佳试验条件下,配制 Fe^{3+} 含量为 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液

进行测定,控制相对误差在 $\pm 5\%$ 之内,对一些茶叶中常见的有机成分(咖啡碱、茶单宁、叶绿素、叶黄素、维生素 C)和一些常见离子(Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+})进行了干扰影响的测定。研究表明:100 倍的咖啡因、150 倍的茶多酚和维生素 C、300 倍的叶绿素和叶黄素不影响测定,300 倍的 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 不影响测定。

2.6 工作曲线与检出限

配制 Fe^{3+} 含量(C)分别为 0、0.16、0.40、0.80、1.60、2.40、3.20、4.00、4.80、5.60、6.40、7.20、8.00、8.80、9.60 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液,根据试验方法测其吸光度 D 并进行线性回归。 Fe^{3+} 含量在 0.02~9.60 $\mu\text{g/mL}$ 均具有良好的线性关系,线性回归方程 $D=0.1842C+0.0288$,相关系数 $r=0.999$ 。摩尔吸光系数 $\epsilon=1.03 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。对 11 份 Fe^{3+} 含量为 0.32 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液进行了平行试验,标准偏差 $\sigma=1.23 \times 10^{-3}$,检测限($3\sigma/k$)为 0.020 $\mu\text{g/mL}$ 。

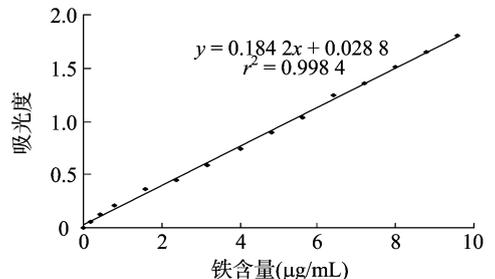


图4 工作曲线

2.7 样品测定和回收率试验

2.7.1 样品测定 准确称取每份待测样品 2.000 0 g,按照“1.2”节的试验方法进行样品处理和测定。通过标准曲线法测定样品中的铁含量,结果见表 1。

2.7.2 加标回收率试验 准确称取信阳毛尖、安溪铁观音、祁门红茶各 2.000 0 g,分别加入铁 0.200 0 mg,按“1.3”节的方法进行回收率试验,结果见表 1:回收率为 96.6%~98.6%。

表 1 样品测定结果及回收率试验 ($n=6$)

样品	总铁含量 (mg/kg)	RSD (%)	加入量 (mg/kg)	测定值 (mg/kg)	回收率 (%)
信阳毛尖	242.6	1.87	100.0	339.2	96.6
安溪铁观音	175.8	1.49	100.0	274.5	98.7
祁门红茶	203.1	1.74	100.0	300.2	97.1

3 结论

为了测定茶叶中总铁的含量,首先通过消化,使茶叶中的铁游离出来,加入盐酸羟胺使 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,然后加入 $K_3[Fe(CN)_6]$, Fe^{2+} 与 $K_3[Fe(CN)_6]$ 生成可溶性普鲁士蓝。确定了普鲁士蓝分光光度法测定茶叶中铁的最佳试验条件。建立了吸光度与铁含量的关系,铁含量在 0.02~9.60 $\mu\text{g/mL}$ 均具有良好的线性关系,平均回收率达到 97.47%。成功分析了市售 3 种茶叶中铁的含量,结果令人满意。

参考文献:

- [1] Jiang Z L, Liu X H, Zhao, et al. Novel photochemical voltammetric method for the determination of traces of iron in tea[J]. Analytica Chimica Acta, 1997, 354(1): 359-363.

帅丽乔娃,郑国栋,张清峰,等. 菝葜提取物的抗氧化作用[J]. 江苏农业科学,2015,43(9):346-349.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.112

菝葜提取物的抗氧化作用

帅丽乔娃, 郑国栋, 张清峰, 黎冬明

(江西农业大学江西省天然产物与功能食品重点实验室,江西南昌 330045)

摘要:研究菝葜不同溶剂提取物的抗氧化活性,以2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)为阳性对照,测定菝葜50%乙醇提取物中的石油醚相、三氯甲烷相、乙酸乙酯相、正丁醇相、水相,以及浓度为0.2~1.2 mg/mL时,菝葜50%乙醇提取物清除·OH、O₂⁻·、DPPH·、ABTS⁺·能力、总抗氧化能力。结果表明,各萃取物均有不同程度的抗氧化活性,且与质量浓度呈量效关系,不同极性提取物中抗氧化能力大小为:乙酸乙酯相>正丁醇相>水相>醇提物>石油醚相>三氯甲烷相;当BHT浓度为1.2 mg/mL时,对·OH、DPPH·、O₂⁻·、ABTS⁺·清除率分别为63.52%、60.41%、70.35%、92.17%,亚铁还原能力(FRAP)值为(151.57±0.16)mmol/g;而1.2 mg/mL乙酸乙酯相对·OH、DPPH·、O₂⁻·、ABTS⁺·的清除率分别为58.73%、66.46%、73.17%、95.84%,FRAP值为(186.25±0.21)mmol/g;除清除·OH外,在其他抗氧化效果方面,乙酸乙酯比BHT更好。以上结果表明,菝葜乙酸乙酯层中抗氧化物质的活性最强,且抗氧化活性与乙酸乙酯萃取物呈量效关系。

关键词:菝葜;萃取物;抗氧化作用

中图分类号: Q946.91⁺9;R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0346-04

菝葜为百合科植物菝葜(*Smilax china* L.)的干燥根茎,别称金刚藤、金刚树等,主要分布在长江以南地区。菝葜的根、茎、叶均可入药,其中根茎作为中药使用更为常见。菝葜根茎中含有皂苷、黄酮、鞣质、生物碱、氨基酸、糖、多元酚等多种成分^[1],具有活血化瘀、抗菌消炎、清热利湿、强筋壮骨、补气活血等功效^[2]。

自由基过多或清除过慢,会加速机体的衰老进程并诱发各种疾病,一些抗氧化剂能够有效地清除自由基,从而能够预防或治疗这些疾病。但是研究发现,过量食用这类物质对人体健康不利,因此寻找安全、可靠的抗氧化物质成为近年来世

界各国研究的重点内容之一。目前,许多来自天然植物中的提取物被证明具有良好的抗氧化活性^[3],它们不仅可以通过清除自由基起到抗衰老的作用,而且还有吸收放射性物质毒害的能力,对辐射损伤器官具有良好的防护作用,是具有广泛开发前景的天然抗氧化剂^[4]。

目前,关于菝葜提取物抗氧化活性的研究还不是很多,菝葜甲醇提取物在高浓度时具有1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除能力(IC₅₀=7.4 g/mL)和细胞生存保护能力;进一步研究表明,菝葜乙酸乙酯、正丁醇、水提取物均有很强的DPPH自由基清除能力^[5]。赵钟祥等从菝葜中分离得到了3个芪类化合物、9个天然多酚类化合物,对其进行抗氧化活性检测结果表明:这些化合物均具有较强的抗氧化活性,能有效清除DPPH自由基^[6]。前人研究的抗氧化指标都比较单一,本试验的抗氧化指标为清除·OH、O₂⁻·、DPPH·、ABTS[2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐]自由基能力,以及总抗氧化能力,种类更多,数据更全面,可为菝葜作为新型天然抗氧化剂的开发利用提供理论依据。

收稿日期:2014-09-14

基金项目:国家“863”计划(编号:2013BAD10B04);国家自然科学基金(编号:31160320)。

作者简介:帅丽乔娃(1989—),女,江西南昌人,硕士研究生,研究方向为天然产物的分离提取。E-mail:405907750@qq.com。

通信作者:郑国栋,博士,副教授,研究方向为天然产物的分离提取、功能食品等。Tel:(0791)83813420;E-mail:zrs150716@aliyun.com。

[2] Sharma A K, Singh I. Spectrophotometric trace determination of iron in food, milk, and tea samples using a new bis-azo dye as analytical reagent[J]. *Food Analytical Methods*, 2009, 2(3): 221-225.

[3] 高建军, 柴红梅. 催化甲基紫褪色光度法测定茶叶中的微量铁[J]. *光谱实验室*, 2013, 30(1): 234-237.

[4] 葛笑兰, 谢秀娟, 张振新. 甲基橙-亮绿体系动力学光度法测定茶叶中痕量铁[J]. *分析科学学报*, 2010, 26(3): 367-369.

[5] Farhat Y, Aleem R, Anwar J, et al. Determination of iron and manganese in tea samples by flame atomic absorption spectroscopy[J]. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 2000, 22(2): 94-97.

[6] 董宏博, 崔桂花, 赵文秀. 茶叶中锰、铁、锌、铬等10种微量元素的快速测定[J]. *广东微量元素科学*, 2012, 19(8): 34-37.

[7] 梁多, 黄敏, 王一凡. 原子吸收光谱法测定五种茶叶中的铁、锰元素[J]. *广东化工*, 2013, 40(15): 180-181.

[8] 蒋天智, 吴铭强, 周志, 等. FAAS法测定原生态茶叶中的微量铁[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(26): 11399-11400.

[9] 代钢, 敖登高娃. 2,4-二氯苯基荧光酮-Triton X-100荧光熄灭法测定中草药、茶叶中的微量Fe[J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, 24(7): 848-850.

[10] 王功平, 练梦南, 黄锁义. 分光光度法测定桂西茶叶中铁的含量[J]. *广东微量元素科学*, 2005, 12(8): 57-59.

[11] 陈祥海, 李树梅, 黄锁义. 分光光度法测定野菜中铁的含量[J]. *微量元素与健康研究*, 2005, 22(6): 37-38.