

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2014)01-0027-03

Folin-Ciocalteus法测定马铃薯中的总多酚

李 静, 聂继云*, 毋永龙

(中国农业科学院果树研究所, 辽宁 兴城 125199)

摘要: 本文建立了紫外分光光度计法准确测定马铃薯中的总多酚。对影响Folin-Ciocalteus法测定马铃薯中总多酚含量的主要因素进行了研究, 确定了在1.0 mL样品提取液或标液中依次加入5.0 mL水、1.0 mL显色剂和3.0 mL 7.5%碳酸钠溶液, 摇匀, 显色2 h后在765 nm测定吸光度的最佳检测条件, 并对马铃薯样品进行了测定, 精密度为7.7%, 回收率为100%~108%。本方法适用于常规实验室马铃薯总多酚的测定。

关键词: 马铃薯; 总多酚; Folin-Ciocalteus法

Determination of Total Polyphenols in Potato Using Folin-Ciocalteus Method

LI Jing, NIE Jiyun*, WU Yonglong

(Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xingcheng, Liaoning 125199, China)

Abstract: An improved UV spectrophotometry method was developed for analysis of total polyphenols in potato. Folin-Ciocalteus method for total polyphenols determination in potato was studied. After a series of optimization experiments, the best determination procedure of Folin-Ciocalteus method was put forward, that is, 5.0 mL water, 1.0 mL coloration reagent, and 3.0 mL 7.5% sodium carbonate solution were added orderly into 1.0 mL extraction of sample or standard gallic acid, then blended, and measured at 765 nm after coloration for 2 h. Under this procedure, relative standard deviation of the method was 7.7%, and average recovery rate was 100%-108%. This method is applicable to conventional laboratory determination of total polyphenols in potato.

Key Words: potato; total polyphenols; Folin-Ciocalteus

马铃薯的多酚含量较高, 在加工过程中, 马铃薯中含有的多酚类物质与多酚氧化酶(PPO)作用氧化成醌, 在进一步缩合成黑色素, 引起褐变, 影响制品的风味和营养^[1,2], 因此在加工和育种中需要对多酚含量进行测定和监控。常用的植物中多酚测定方法有皮粉法、高锰酸钾滴定法、酒石酸亚铁螯合法、香草醛法、正丁醇-盐酸法、Folin-酚法、铁氰化钾分光光度法(PB法)和液相色谱法等^[3-10]。测定蔬菜中总多酚常采用Folin-酚法, 包括Folin-Denis法(即FD法)和Folin-Ciocalteus法(即FC法), FC法是FD法的改进方法, 它是在FD试剂中加入锂盐, 克服了FD试剂的不稳定性, 较之更为灵敏^[7,8]。虽已用于马铃薯中总多酚的测定^[9,10], 但未见对其最佳测定

的条件筛选, 不利于马铃薯中总多酚的准确测定。本试验对用Folin-Ciocalteus法测定马铃薯中总多酚含量的测定条件进行了研究, 筛选了最佳测定条件, 获得了很好的精密度和准确度, 为马铃薯中总多酚的准确测定提供了一定的参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 马铃薯样品

市售马铃薯, 洗净晾干, 取可食部分切碎, 液氮冷冻研磨, -80℃冷冻备用。

1.1.2 试剂

钨酸钠、钼酸钠、硫酸锂、磷酸、盐酸、溴水

收稿日期: 2013-07-10

基金项目: 农业行业标准研究项目(2013300)。

作者简介: 李静(1972-), 女, 副研究员, 从事食品品质与营养检测及标准研究。

*通信作者(Corresponding author): 聂继云, 研究员, 博士, 主要从事果品品质和风险评估研究, E-mail: jiyunnie@163.com。

和乙醇为分析纯。一水合没食子酸标样, Sigma - Aldrich公司。水为蒸馏水。

1.1.3 试剂的配制

FC显色剂: 称取 $50 \text{ g} \pm 0.01 \text{ g}$ 钨酸钠($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), $12.5 \text{ g} \pm 0.01 \text{ g}$ 钼酸钠($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 用 350 mL 蒸馏水溶于 1 000 mL 回流瓶中, 加入 25 mL 磷酸($\text{H}_3\text{PO}_4 \geq 85\%$)及 50 mL 浓盐酸, 充分混匀, 小火加热回流 2 h, 再加入 75 g 硫酸锂, 25 mL 蒸馏水, 0.5 mL 溴水, 然后开口继续沸腾 15 min, 冷却后定容 500 mL, 过滤, 置于棕色瓶中, 用时加入 1 倍蒸馏水。

7.5% 碳酸钠溶液: 称取 $37.5 \text{ g} \pm 0.01 \text{ g}$ 无水碳酸钠(Na_2CO_3)溶于 250 mL 温水中, 混匀, 冷却, 稀释至 500 mL。室温下至多保持 1 个月。

一水合没食子酸标准溶液: 准确称取 $0.110 \text{ g} \pm 0.001 \text{ g}$ 一水合没食子酸, 用 70% 乙醇溶液溶解并定容到 100 mL 容量瓶中, 此溶液一水合没食子酸浓度为 1 000 mg/L; 用 5 mL 分度吸管从此标准溶液吸取 0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 到 100 mL 容量瓶中, 用 70% 乙醇定稀释到刻度线, 即相当于 0.0, 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的一水合没食子酸标准溶液。

1.1.4 主要仪器

紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)、天平(日本岛津)、冷冻研磨机(美国 SPEX)、恒温水浴锅。

1.2 试验方法

1.2.1 马铃薯中总多酚的提取

取马铃薯可食部分, 液氮冷冻后, 用冷冻研磨机研磨成粉末状, 称取样品粉末 5 g, 精确到 0.01 g, 用 40 mL 70% 乙醇溶液洗入 50 mL 棕色离心管中, 30℃ 超声 30 min, 9 000 r/min 离心 5 min, 上清液倒入 100 mL 容量瓶中, 残渣再用 70% 乙醇溶液 35 mL 重复提取 1 次, 合并 2 次上清液, 用 70% 乙醇溶液定容, 备用。

1.2.2 标准曲线的制作

用分度吸管从 0.0, 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的一水合没食子酸标准溶液系列中吸取 1.0 mL, 分别加 5 mL 水, 1 mL FC 显色剂, 3 mL 7.5% 碳酸钠溶液, 显色, 此时相当于 0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的一水合没食子酸。放置 2 h 后, 在 765 nm 波长下测定标准系列溶液的吸光度, 绘制标准曲线(图 1)。

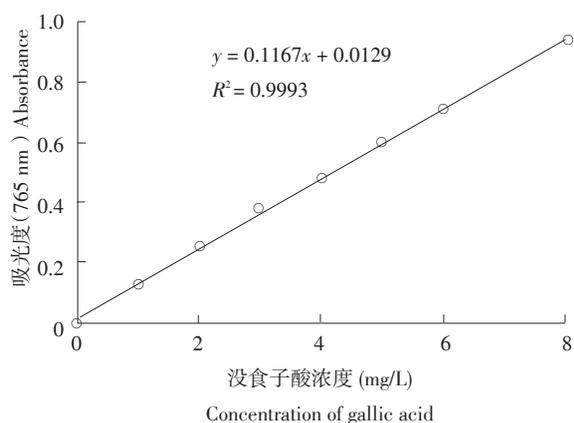


图 1 没食子酸标准曲线

Figure 1 Standard curve of gallic acid

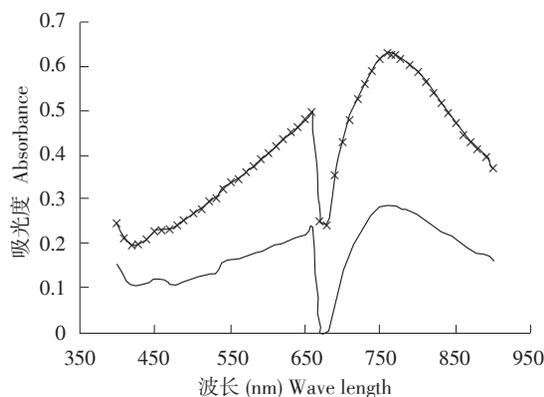
1.2.3 样品的测定

吸取 1.0 mL 样品溶液, 分别加入 5.0 mL 水, 1 mL FC 显色剂, 3 mL 7.5% 碳酸钠溶液, 显色, 放置 2 h 后, 在 765 nm 波长下测定样品的吸光度, 根据标准曲线分别求出样品中总多酚的浓度。

2 结果与分析

2.1 显色波长的选择

对 5.0 mg/L 没食子酸和马铃薯样品提取液在相同条件下显色, 显色后分别进行光谱扫描(图 2), 从图 2 可见, 样品提取物和没食子酸标准品具有相同的光谱图, 说明, 样品提取物同标准品是一类物质。样品提取物和没食子酸标准品显色后的在 765 nm 处有最大吸收峰, 因此选择测定波长为 765 nm。



“x”表示没食子酸, “-”表示马铃薯, 下同。

“x” mean gallic acid; “-” mean potato. The same below.

图 2 没食子酸和马铃薯样品光谱扫描图
Figure 2 Scan of gallic acid solution and extraction of potato

2.2 显色时间的选择

对 5.0 mg/L 没食子酸标样和马铃薯样品提取液显色后进行时间扫描(图3), 从图3可见, 标样及样品提取液在显色初期吸光度变化较大, 而在 2 h (120 min)后显色较稳定, 因此选择 2 h 后比色, 测定, 减小误差。

2.3 方法回收率试验

对马铃薯进行 2 个不同梯度的添加, 每个梯度平行测定 5 次, 回收率在 100% ~ 108% 范围内(表 1), 说明此方法具有较好的准确性。

2.4 马铃薯中总多酚含量的测定

对马铃薯进行平行测定, 各 9 次, 平行测定结

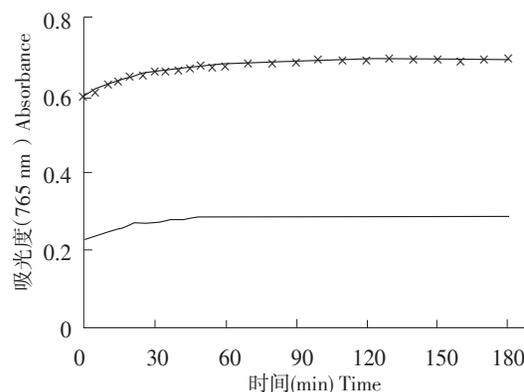


图 3 没食子酸和马铃薯显色稳定性

Figure 3 Standing time of coloring by FC method in gallic acid solution and potato

表 1 马铃薯的添加回收率

Table 1 Result of recovery experimentation in potatoes

样品 Sample	样品多酚含量(mg/g) Polypheno content	添加没食子酸量(mg/g) Gallic acid added	加入没食子酸后的测定值(mg/g) Value after gallic acid added	回收率(%) Recovery
马铃薯 Potato	0.32	0.2	0.52	100.0
		0.4	0.75	108.0

表 2 马铃薯的测定结果及精密度

Table 2 Result of precision experimentation in potato

样品 Sample	平行测定 Measurement 测定结果 (mg/g) Determination			平均值(mg/g) Average	变异系数(%) Relative standard deviation
马铃薯 Potato	0.37	0.35	0.31	0.32	7.70
	0.32	0.30	0.29		
	0.32	0.32	0.31		

果的相对标准偏差为 7.7% (表 2), 说明该方法测定结果具有较好的精密度。

3 讨论

利用紫外可见分光光度计 Folin - 酚显色法测定马铃薯中总多酚时, 测定的最佳波长和显色时间往往影响检测的灵敏度和测定的稳定性。本文通过对马铃薯提取液和标准品提取液的波长扫描筛选出马铃薯的最佳检测波长为 765 nm 与周胜男和陆宁^[9]测定马铃薯中总多酚时选择的测定波长相同, 而同曹艳萍等^[10]检测波长 779 nm 有所不同。本试验通过马铃薯样品提取液和标准品显色后的稳定性监测, 显色稳定时间为 2 h 以上, 这与周胜男和陆宁^[9]以及曹艳萍等^[10]选择的显色 1 h 后测定均有所不同。

通过对 Folin - Ciocalteus 显色法测定马铃薯中

总多酚测定条件的摸索, 确定马铃薯中总多酚的测定最佳测定条件为使用 70% 乙醇提取马铃薯中的总多酚, 吸取 1.0 mL 样品提取溶液, 分别加入 5.0 mL 水, 1 mL FC 显色剂, 3 mL 7.5% 碳酸钠溶液, 显色, 放置 2 h 后, 在 765 nm 波长下测定, 此方法准确, 回收率为 100%~108%; 精密度高, 变异系数仅为 7.7%, 完全适用于马铃薯中总多酚的测定。

[参 考 文 献]

- [1] 吴文标, 盛德贤, 吕世安, 等. 马铃薯酚类化合物的研究 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15(3): 158-162.
- [2] 李敏, 刘磊, 郭玉荣, 等. 马铃薯多酚氧化酶的特性研究 [J]. 甘肃农业大学学报, 2005, 40(2): 189-192.
- [3] 周卫龙, 孙安华, 钟萝. GB/T8313-2002, 茶 茶多酚测定 [S]. 北

中国马铃薯主产区植地土壤养分初步评价

陈明玮, 郭华春*, 李超, 杨慧菊

(云南农业大学薯类作物研究所, 云南 昆明 650201)

摘要: 本研究对中国马铃薯主产区的17个省(自治区)中90个市、县的130个土壤样本的有机质、全氮、速效氮、全磷、速效磷、全钾、速效钾、有效钙、有效镁、有效铁、有效锌、有效铜、有效锰进行分析, 以对中国马铃薯主产区的土壤养分丰缺状况作出初步评价。结果表明: 同一种营养元素在不同产区的含量相差很大; 西南产区和东北产区土壤有机质含量丰富, 西北产区和中原产区土壤有机质较为缺乏; 西南产区氮含量丰富, 西北产区和中原产区氮缺乏; 东北产区、西北产区和中原产区磷缺乏; 西南产区和西北产区钾缺乏。大部分产区土壤中有效钙含量都比较丰富, 只有云南、四川、重庆的部分地区含量较低; 有效镁的含量普遍较低; 有效铁、锌、铜、锰含量都很丰富。

关键词: 马铃薯产区; 土壤养分; 丰缺

Assessment of Soil Nutrients in Main Potato Production Areas in China

CHEN Mingwei, GUO Huachun*, LI Chao, YANG Huiju

(Root and Tuber Crop Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

Abstract: Soil organic matter, total nitrogen, phosphorus and potassium, and available nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, iron, zinc, copper, and manganese of 130 samples collected from 90 cities and counties of 17 provinces (autonomous regions) in China, in this research, were determined and analyzed, just making a preliminary evaluation for the status of soil nutrients in main potato production areas in China. The nutrient content of the same element varies greatly in various regions. Organic matter is abundant in southwest and northeast regions, while lack in northwest and central plains regions. Nitrogen is abundant in southwest region while lack in northwest and central plains regions. Phosphorus is deficient in northeast, northwest and central plains regions. Potassium is deficient in southwest and northwest regions. Except for some areas in Yunnan, Sichuan and Chongqing provinces, the available calcium is relatively rich in most producing areas. In general, the available magnesium content is low; however, the available iron, zinc, copper and manganese contents are very rich.

Key Words: potato producing area; soil nutrient; abundance and deficiency

收稿日期: 2013-12-16

基金项目: 国家马铃薯产业体系(CARS-10-P21)。

作者简介: 陈明玮(1986-), 男, 硕士研究生, 从事马铃薯栽培研究。

*通信作者(Corresponding author): 郭华春, 教授, 博士, 从事马铃薯栽培和生理研究, E-mail: ynghe@126.com。

=====
=====

京: 中国标准出版社, 2002.	[7] 李静, 聂继云, 李海飞, 等. Folin-酚法测定水果及其制品中总多酚含量的条件[J]. 果树学报, 2008, 25(1): 126-131.
[4] 李春阳, 许时婴, 王璋. 低浓度香草醛-盐酸法测定葡萄籽、梗中原花青素含量的研究[J]. 食品工业科技, 2004(6): 128-130.	[8] 石碧, 狄莹, 等. 植物多酚[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
[5] 董玉辉, 董春平, 代铁军, 等. SN/T 0800.9-1999, 进出口粮食、饲料单宁含量检验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1999.	[9] 周胜男, 陆宁. 马铃薯中多酚类物质提取方法的研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(6): 217-219, 222.
[6] 吴燕华, 刘文力, 阎红, 等. 高效液相色谱法测定苹果中的酚类物质[J]. 分析化学, 2002(7): 826-828.	[10] 曹艳萍, 李霄, 薛成虎, 等. 马铃薯皮多酚类物质的超声波提取工艺研究[J]. 延安大学学报: 自然科学版, 2012, 31(3): 73-75.