

## 一种改进的总棉酚测定方法

侯菊倩 徐 超 王晓红 沈阳医学院营养与食品卫生学教研室(110031)

美国早在 1965 年就报导了由 WHO/FAO/UNICEF 提出的用于人类食用棉籽粉中游离棉酚(FG)不得超过 0.06%,总棉酚(TG)不得超过 1.2%的限制。<sup>[1]</sup>美国国家棉籽产品协会于 1987 年也制定了无腺体棉籽产品的分级标准。A 级 TG < 400mg/kg; AA 级 TG < 100 mg/kg; AAA 级 TG < 10mg/kg。<sup>[2]</sup>我国是产棉大国,为更好地开发棉籽蛋白,制定适合我国实际情况的卫生及质量标准十分必要。关于棉酚的测定,目前有紫外分光光度法、气相色谱法,由于仪器昂贵,不宜在基层执行;苯胺比色法操作麻烦,样品提取需要长时间振荡、过滤、分离等,再加上要在冰箱中过夜,既费时又费力;三氯化锑比色法虽然操作简单,但稍有不慎就会引起溶液混浊,造成结果不好甚至失败。本室参考美国 Walter A 等人以 3-氨基-1-丙醇为混合试剂测定总棉酚的方法,<sup>[3]</sup>进行了适当的修改,并对方法的线性关系、回收率、精密度等方面进行检验。

**1 实验原理** 棉酚在酸性条件下,被 3-氨基-1-丙醇提取后溶解于中等极性的有机溶剂中,与显色剂苯胺反应,生成黄色的二苯胺棉酚,与标准系列比较定量。

### 2 材料与方法

#### 2.1 材料

棉籽仁 有腺体棉籽仁、无腺体棉籽仁均由辽宁省农科院经济作物研究所提供。

棉籽非贮存蛋白粉 本室自制

异丙醇己烷混合液 异丙醇+正己烷  
=60+40

混合试剂 吸取 2mL 3-氨基-1-丙醇和 10mL 冰醋酸于 100mL 容量瓶中,冷却至室温,用 N-N 二甲基甲酰胺稀释至刻度(二甲基甲酰胺使用前重蒸馏,收集 152~153℃馏出液)。该试剂配制后一周内稳定。

苯胺 加入锌粉后重蒸馏,收集 183~184℃馏出液,当试剂空白吸收值超过 0.022 时需重新蒸馏(冰箱保存)。

以上试剂均为分析纯

标准棉酚溶液 称取 25mg 纯棉粉(由无锡轻工业学院提供,纯度为 98%),用混合试剂溶解并定容至 50mL(0.5mg/mL)。

722 型光栅分光光度计 上海第三分析仪器厂制造。

电热恒温水浴 上海医疗器械厂。

#### 2.2 方法

参考美国 Walter A 等人以 3-氨基-1-丙醇为混合试剂测定总棉酚的方法。<sup>[3]</sup>

**2.2.1 标准曲线的制备及其相关系数的检验**

准确吸取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5mL 标准棉酚溶液于 50mL 容量瓶中,分别以混合试剂补充至 10mL,同时以 10mL 混合试剂做为空白,将全部容量瓶置 100℃水浴中 30min,冷却后用异丙醇-己烷混合液定容至刻度并充分混匀。

吸收双份上述稀释液(包括空白)各 2mL 于 25mL 容量瓶中(相当于棉酚 0、10、20、30、40、50、60、70μg)。其中一份均各加入苯胺 2mL,于 100℃水浴中放置 30min,冷至室温。双份溶液再各用丙醇-己烷混合液定容至刻度,混匀后于室温下放置 1h。用分光光度计在 440nm 处,以不含苯胺的空白液做为参比溶液,测定各试剂的空白吸收值,然后以加苯胺的空白液为参比溶液,测定各标准液的吸收值。以每个标准液的吸收值中减去对应空白液的吸收值而获得校正吸收值(A)。

计算棉酚标准液浓度与吸收值之间的相关系数,并进行显著性检验,经直线回归求得回归方程,并绘制标准工作曲线。

## 2.2.2 样品测定

称取约含 1~5mg 总棉酚的样品(粉碎并过 40~60 目筛)于 50mL 容量瓶中,快速加入 10mL 混合试剂并用 10mL 混合试剂做空白,在 100℃水浴中加热 30min,冷却至室温,以异丙醇-己烷混合液定容并混匀,以中速滤纸过滤,滤液收集于具塞玻璃瓶中。

吸取双份的滤液及空白液各 2mL 于 25mL 容量瓶中,其中一份加入 2mL 苯胺显色,于 100℃水浴中 30min,以下步骤同标准曲线的制备至获得校正吸收值 A,查标准曲线或用回归方程得出液体分样中棉酚的含量(μg)。

计算

$$\text{总棉酚}(\%) = \frac{G}{W \times \frac{V}{50} \times 1000} \times 1000$$

$$\frac{5 \times G}{W \times V}$$

G—样品液体分样中的棉酚 mg 数

W—样品重量 g

V—用于分析的液体的分样体积 mL。

## 2.2.3 回收率测定

采用标准加入法分别对棉酚含量高(0.92%)与棉酚含量低(0.0068%)的两种棉籽仁粉进行测定。

## 2.2.4 精密度的测定

用本方法对有腺体棉籽仁粉和棉籽仁非储存蛋白粉(NPS)分别进行几次测定,并计算其标准差和相对偏差。

## 3 结果

3.1 标准曲线与相关分析 见表 1。

3.2 回收率测定结果 见表 2、表 3。

3.3 精密度测定结果 见表 4。

## 4 讨论

从表 1 可看出,棉酚含量在 10~70μg 范围内线性关系良好,相关系数为 0.9996%,经相关系数显著性检验, $P < 0.0005$ ,曲线呈高度相关。

从表 2、表 3 可看出,用本方法测定棉酚含量低的样品时平均回收率为 88.04%,测定棉酚含量较高的样品的平均回收率为 97.92%,说明本法测定各种样品回收率均满意。

从表 4 可以看出,本方法测定棉酚含量高或低的样品,结果均十分满意,说明本方法重现性好,精密度高。

表 1 总棉酚标准工作曲线的吸光度值及相关分析

序号	0	1	2	3	4	5	6	7
液体分样	0		20		40		60	
含纯棉酚(μg)		10		30		50		70
	0.000		0.052		0.105		0.157	
吸光度(A)		0.021		0.076		0.130		0.182
<i>r</i> =0.9996		<i>P</i> <0.0005						

表 2 回收率的测定(低含量)

序号	1	2	3	4	样
相当于液体分样中					
纯棉酚加入量	10	20	30	40	0
测定总棉酚	10.61	21.20	29.54	39.39	2.73
测定总棉酚(样) <sup>(1)</sup>	7.88	18.47	26.81	36.66	
回收率%	78.80	92.35	89.36	91.65	
平均回收率%		88.04			

注 (1): 样表示样品中棉酚含量

表 3 回收率的测定(高含量)

序号	1	2	3	样
相当液体分样中	10	20	40	0
纯棉酚加入量				
测定总棉酚含量	44.87	54.34	73.30	34.85
测定总棉酚(样) <sup>(1)</sup>	10.02	19.49	38.45	
回收率%	100.20	97.45	96.13	
平均回收率%		97.92		

注 (1): 样表示样品中棉酚含量

表 4 精密度测定结果

	棉酚含量				平均值	标准差	变异系数
	1	2	3	4			
有腺体	0.960		0.871		0.9166	0.0444	4.85
棉籽粉		0.918		—			
棉籽非储	0.0189		0.0174		0.0183	0.000716	3.9
存蛋白粉		0.0189	0.0182				

## 5 结论

用 3-氨基-1-丙醇为混合试剂测定棉酚的方法具有简单易行,不需要特殊仪器,线性关系好,回收率较高,精密度较高,重现性好等优点,故认为本法可以推广使用,并可对我国制定总棉酚的测定标准方法提供参考。

## 6 参考文献

- 1 Walter. A, Pons, J. R. J. AOAC, 1977, 60(2):252
- 2 E. W. Lusas, et al. J. AOCS, 1987, 64(6):839
- 3 Walter A, et al. 3-Amino-Propanol as aComplexing agent in the intermonitor of totalgossypol. The American on Chemist society. 1985; 2(35): 261 ~ 265
- 4 中华人民共和国卫生部食品卫生监督检验所编. 食品卫生检验方法(理化部分)注解. 1987; 11. 2
- 5 山东聊城师范学院化学系. 棉酚蛋白质棉酚的测定方法. 中国酿造. 1982; 1(2): 9

# 饮用天然矿泉水氟离子、 氯离子、硝酸根、硫酸根离子的快速测定

栗文元 谷日旭 山西省卫生防疫站 (030012)

饮用天然矿泉水中  $\text{F}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  离子含量的测定, 目前主要

是电极法、滴定法及比色法。<sup>[1]</sup>这3种方法分析速度慢,影响准确测定因素多,