

蔬菜中硫氰酸化合物的测定

吴建雄 吴伟坚
(实验中心) (昆虫生态研究室)

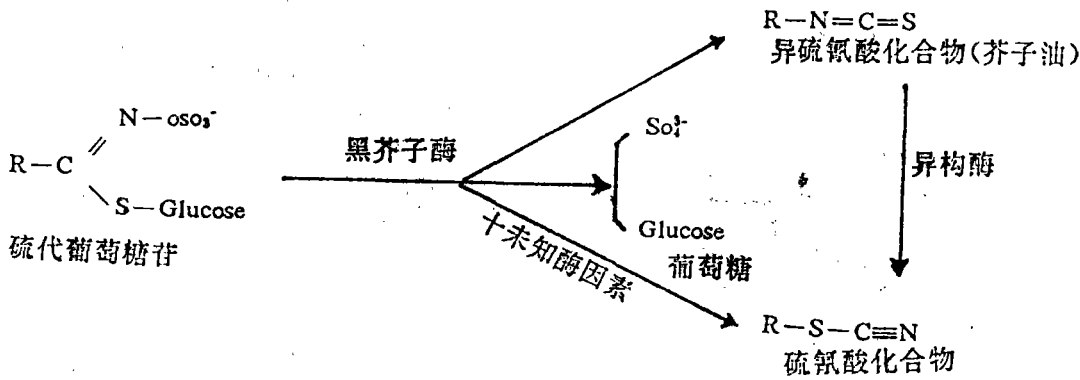
摘要 硫氰酸化合物广泛地存在于十字花科作物中, 一些研究指出它与这些作物呈现出甲状腺素活性和对某些虫害的发生有关。本研究测定了国内常见的五种十字花科蔬菜中 SCN^- 的含量。同时对此分析方法的适宜条件进行了摸索, 提供了一种较为简便快速测定 SCN^- 的分析方法。

在 0.5M HNO_3 介质中, 过量的 Fe^{3+} 与 SCN^- 反应显色, 反应混合物的 λ_{max} 为 460 nm, 测定范围: 0~2.0 $\mu\text{g/ml}$ (KSCN), 相关系数 $r=0.9994$, 最低检出限: 0.4 $\mu\text{g/ml}$ (KSCN)

关键词 硫代葡萄糖苷; 硫氰酸化合物; 分光光度法

十字花科蔬菜中含有的硫代葡萄糖苷 (glucosinolates) 是一类植物次生物质, 是十字花科蔬菜香辛气味的来源。这类植物次生物质是吸引一些害虫 (如小菜蛾 *Plutella xylostella* L. 菜粉蝶 *Pieris rapae* 等) 成虫产卵和幼虫取食的信息化合物, 而对一些害虫 (如一种凤蝶 *Papilio polyzenes* 又是剧毒物质^[2]。另外, 硫代葡萄糖苷还与动物的甲状腺肿大和植物的根肿病有关。研究植物中硫代葡萄糖苷的含量在植物保护、畜牧和医疗卫生领域中都很有意义。

当前, 硫氰酸化合物形成的机理并不十分明确, Gmelin 和 Virkanen^[3,4,10] 认为硫代葡萄糖苷通过普遍存在十字花科植物中的黑芥子酶和一种尚未分辨出的酶, 水解生成硫氰酸化合物, 其水解过程如下:



蔬菜中硫氰酸化合物含量的测定较多利用分光光度法, 国外已有报导: 芸苔属、萝卜属^[1,5~8]等蔬菜中硫氰酸化合物的测定。国内蔬菜中硫氰酸化合物的测定尚未见报导。本文通过对国内常见的五种十字花科蔬菜, 即芸苔属 (*Brassica* L.) 中的甘兰类: 芥兰 *Brassica albolabra* Bailey 椰菜 *B. oleracea* L. 白菜类: 菜心 *B. parachinensis* bailey 白菜, *B. chinensis* L. 和

• 广东省科委科学基金资助项目
1991-07-27 收稿

豆瓣菜属 (*Nasturtium*) 的西洋菜 *Nasturtium officinal* R. Br. 中硫氰酸化合物含量的测定, 详细探讨和摸索其适宜的测定条件。

1 试验部分

1.1 主要仪器和试剂

Beckman Du-7 型紫外可见分光光度计。

KSCN 标准溶液 (1.0 mol/L): 称取 97.18 g KSCN 溶于适量水中, 定容至 1 L。以 AgNO_3 为基准物质, 硫酸高铈铵为指示剂, 标定 KSCN 浓度。

KSCN 工作液 (97.13 $\mu\text{g/ml}$): 逐级稀释 KSCN 标准溶液。

0.4 mol/L $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3/1\text{N HNO}_3$ 溶液: 80g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 溶解于 250 ml 2N HNO_3 中, 定容至 500 ml。

5% HgCl_2 溶液

1.2 试验方法

称取 5.0 g 捣碎, 混匀的样本 (鲜重), 加水 30 ml, 回流 20 min, 冷却后, 过滤, 洗涤残渣, 定容至 100 ml, 吸取 5.0 ml 定容液于 10 ml 试管中, 加入 5.0 ml 0.4 mol/L $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3/1\text{N HNO}_3$ 溶液, 混匀。立即在分光光度计上, 波长 460 nm 处, 读出吸光度 A 值。在上述反应混合液中加入一滴 5% HgCl_2 溶液, 混匀后作为空白。

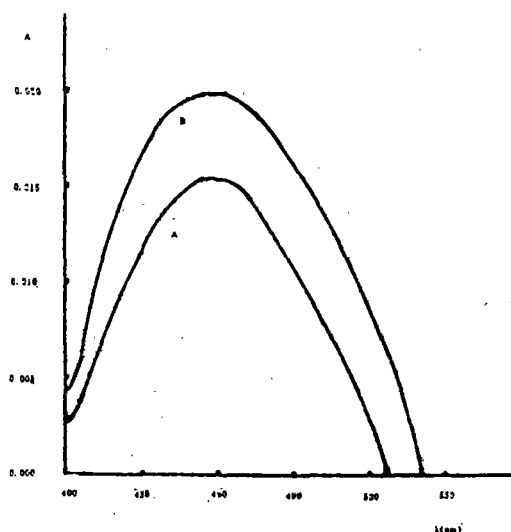


图1 吸收光谱曲线

A, 芥兰样本, 0.701 $\mu\text{g/ml}$ (KSCN)

B, KSCN 标样, 1.14 $\mu\text{g/ml}$

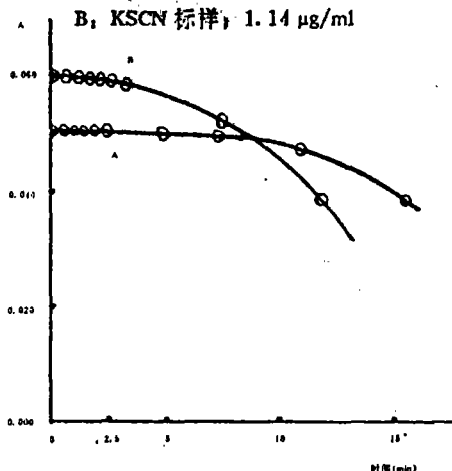


图2 反应混合物的吸光度与时间的关系

A, KSCN 标样, 1.94 $\mu\text{g/ml}$

B, 椰菜样本, 2.55 $\mu\text{g/ml}$ (KSCN)

2 结果和讨论

2.1 适宜测定条件的确定

2.1.1 吸收光谱曲线 KSCN 标样和蔬菜样本与 0.4 mol/L $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3/1\text{N HNO}_3$ 的反应混合液的最大吸收波长均在 460 nm。其溶液显橙红色。

2.1.2 提取液的放置时间 回流提取液在 4℃ 的冰箱内放置 1 周后, 其吸光度 A 值读数稳定, 重现性较好。这可以被认为是硫代葡萄糖苷体充分水解的结果。

2.1.3 反应混合物的稳定性 当 SCN^- 过量存在时, 反应产物为稳定的 $[\text{Fe}(\text{CNS})_6]^{3-}$, 而在测定 SCN^- 时, 加入过量 Fe^{3+} 的情况下, 生成不同于 $[\text{Fe}(\text{CNS})_6]^{3-}$ 的橙红色混合物, 性质不稳定^[9], 植物体内微量的硫氰酸化合物与 Fe^{3+} 反应生成物的寿命显得更为短暂, Gmelin 和

Virilanen^[5]的研究表明:硫代葡萄糖苷体; rhodanidogenic glucosides 在较低的 pH 值 (3.5) 下水解, 由于腈的形成, SCN^- 的收率不能定量。虽然蔬菜样本在回流及 4℃ 条件下放置 1 周后, 水解反应基本完成, 但在显色反应中混合液 $[\text{H}^+]$ 浓度为 0.5N 的条件下, 仍不可避免有少量腈的形成。图 2 为反应混合物的吸光度随时间的变化曲线, KSCN 标样在 10 min 内吸光度 A 值较为稳定, 而蔬菜样本在反应后约 3 min 内, 就必须读数完毕。

2. 1. 4 硝酸铁浓度的影响 不同的 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 浓度所反应生成混合物的吸光度 A 见图 3, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 在 0.8 g/10ml 混合液左右 (即: 0.4 mol/L $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ / 1N HNO_3), 吸光度 A 最大, 据此, 本文选用: 0.4 mol/L $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ / 1N HNO_3 。

2. 1. 5 酸度的影响 图 4 为酸度曲线, HNO_3 浓度为 1 N 左右 (混合液 $[\text{H}^+]$ 浓度为 0.5N), 吸光度 A 值最大。所以, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ — HNO_3 溶液中 HNO_3 浓度选用 1 N。

2. 1. 6 5% HgCl_2 溶液的应用 蔬菜的提取液加入 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ — HNO_3 溶液后, 形成了 1 种黄色物质, 它干扰了 Fe^{3+} — SCN^- 反应混合物的直接测定, 混合液在加入 1 滴 5% HgCl_2 溶液后, Fe^{3+} — SCN^- 反应混合物被破坏, 可提供作为空白。

2. 1. 7 工作曲线的线性范围, 最低检出限和添加回收率 在选定的上述测定条件下, KSCN 的浓度在 0~2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围, 吸光度 A 与 KSCN 浓度成直线关系, 较符合比尔定律, 样本测定的重现性良好。其线性回归方程为: $A = 0.023\ 00 \times C_{\text{KSCN}} (\mu\text{g}/\text{ml}) - 7.718 \times 10^{-4}$ 线性相关系数 $r = 0.999\ 4$, 最低检出限: 0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (KSCN) 添加回收率: $92 \pm 2\%$ 。

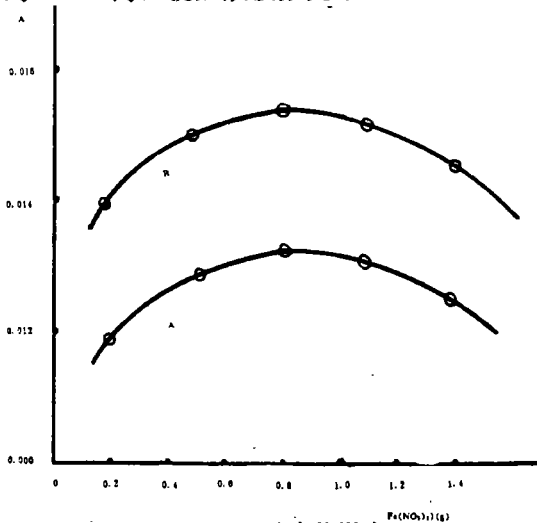


图 3 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 浓度的影响

A: KSCN 标样, 0.583 $\mu\text{g}/\text{ml}$

B: 白菜样本, 0.696 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (KSCN)

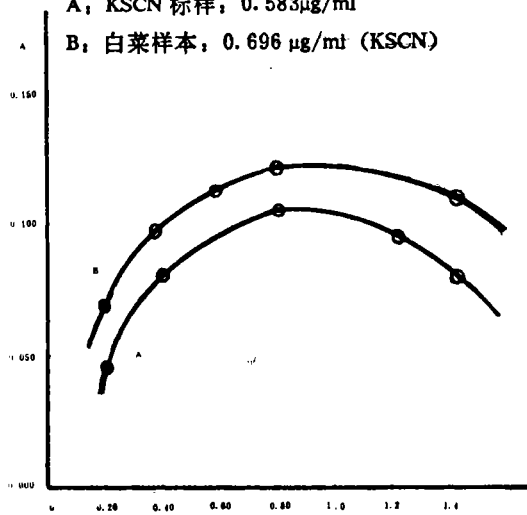


图 4 酸度的影响

A: KSCN 标样, 4.55 $\mu\text{g}/\text{ml}$

B: 椰菜样本, 5.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (KSCN)

表 1 分析方法的回收率实验

样本名称	测定值 μg/g*	加入 KSCN μg	回收率 %	平均值 %	标准 偏差	变异系数 %
菜心	28.2	141	91.2	91.8	1.94	2.11
	27.0	141	89.3			
	27.2	141	93.0			
	28.0	141	93.6			
西洋菜	48.9	244.5	92.4	92.7	0.781	0.843
	51.9	244.5	93.2			
	50.5	244.5	91.7			
	49.9	244.5	93.4			
椰菜	124.4	622	89.1	90.4	1.66	1.84
	122.7	622	91.6			
	125.0	622	88.8			
	130.6	622	92.0			
芥兰	43.9	219.5	92.5	91.3	1.66	1.82
	42.7	219.5	92.7			
	41.6	219.5	90.6			
	42.2	219.5	89.2			
白菜	26.5	132.5	95.6	93.6	2.07	2.21
	25.6	132.5	90.7			
	26.0	132.5	94.2			
	26.1	132.5	93.9			

* 样本含量按鲜重计算

2. 2 五种十字花科蔬菜硫氰酸化合物含量的测定
其结果见表 2:

表 2 五种蔬菜中硫氰酸化合物 (KSCN) 含量测定结果

样本名称	测定结果 μg/g*	平均值 μg/g	标准偏差	变异系数%
菜心	28.2	27.6	0.589	2.13
	27.0			
	27.2			
	28.0			
西洋菜	48.9	50.3	1.25	2.49
	51.9			
	50.5			
	49.9			
椰菜	124.4	125.7	3.42	2.72
	122.7			
	125.0			
	130.6			
芥兰	43.9	42.6	0.976	2.29
	42.7			
	41.6			
	42.2			
白菜	26.5	26.1	0.374	1.43
	25.6			
	26.0			
	26.1			

* 样本含量按鲜重计算

致谢 本文承蒙本校实验中心黄尚容高级工程师审阅和修改, 在此表示感谢!

参 考 文 献

- 1 Calvin Chong and Bible. Variation in thiocyanate content of radish plants. J. Amer. Soc. Hort Sci. 1974, 99 (2), 159~162
- 2 Erickson J. M. et al. Sinigrin, A chemical barrier to the black swallowtail butterfly, *Papilio polyxenes*. Ecology, 1974, 55, 103~111
- 3 Gmelin R. and A. I. Virtanen. A new type of enzymatic cleavage of mustard oil glucosides. Acta Chem Scand. 1959, 13, 1474~1475
- 4 Gmelin R. and A. I. Virtanen. The enzymic formation of thiocyanate (SCN^-) from a precursor (s) in *Brassica* species. Acta Chem scand, 1960, 14, 507~510.
- 5 Gmelin R. and A. I. Virtanen. Glucobrassicin, der Precursor Von SCN^- 3-Indolylacetonitril and Ascorbigen in *Brassica oleracea* species. Ann Acad. Sci. Fennicae. 1961, Series A. II. 107, 3~25
- 6 Hak-Yoon Ju et al. Variation of thiocyanate ion content in cauliflower and broccoli cultivars. J. Amer. Soc. Hort, Sci. 1980, 105 (2), 187~189
- 7 Johnston T. D. and D. I. H. Jones. Variations in the thiocyanate content of kale varieties. J. Sci. Food Agric. 1966, 17, 70~71.
- 8 Josefsson E. Content of rhodankogenic glucosides in some Brassica crops. J. Sci. Food Agric. 1967, 18, 492~495.
- 9 Schlesinger H. L. and Van Valkenburgh H. B. The structure of ferric thiocyanate and the thiocyanate test for iron. J. Amer. Chem. Soc. 1931, 53, 1212
- 10 Virtanen A. I. Studies on organic sulphur compounds and other labile substance in plants. Phytochemistry, 1965, 4, 207~228

THE DETERMINATION OF THIOCYANATE IN CRUCIFEROUS VEGETABLES

Wu Jianxiong

(Experimental Central)

Wu weijian

(Lab. of Insect Ecology)

Abstract Thiocyanate is widely distributed in cruciferous crops. It has been frequently reported that those crops show goitrogenic activity, and the presence of this chemical is related to the occurrence of some cruciferous vegetable pests. In this paper, the thiocyanate content of five cruciferous vegetables in China was assayed. A simple and rapid analytic method for the determination of thiocyanate is suggested.

In 0.5N-acid, the determination of thiocyanate by the addition of a large excess of ferric salt was made with a spectrophotometer. The Soret band of the complex lied at 460 nm. Beer's law was obeyed for KSCN in the range of 0~2.0 $\mu\text{g/ml}$. The limit of detectability for KSCN was 0.4 $\mu\text{g/ml}$.

Key words thioglucosida; thiocyanate; spectrophotometry