

邻甲酚酞褪色分光光度法定量测定 γ -环糊精含量

张 昊¹ 张 毅¹ 程博闻² 王攀磊¹ 田 云¹

(天津工业大学纺织学院¹, 天津 300387)

(天津工业大学; 改性与功能纤维天津市重点实验室², 天津 300387)

摘 要 以邻甲酚酞(OCP)为探针,首次建立了基于邻甲酚酞褪色反应的 γ -环糊精含量分光光度测定方法。其原理是在碱性条件下, γ -环糊精(γ -CD)包络OCP分子使其发生褪色反应,并且其褪色程度 ΔA 与 γ -CD浓度在一定范围内呈线性关系,符合朗伯比尔定律。研究了显色条件对 γ -CD含量测定的影响。结果表明:当在30℃下显色15 min,加入OCP浓度为0.21 mmol/L,缓冲液pH=9.51时, γ -CD在0~15 mmol/L范围内线性关系良好。回归方程为 $\Delta A = 0.0325 C_{\gamma\text{-CD}}$ (mmol/L),相关系数 $R^2 = 0.9975$,检出限为0.066 mmol/L,表观摩尔吸光系数 $\varepsilon = 3.06 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$,灵敏度较高。样品平均实测回收率在99.1~101.5%之间,测定结果RSD为1.47% ($n=10$)。该光度测定方法的准确度与HPLC法接近,且具有良好的稳定性与重现性,同时操作简便,测定快速,较HPLC法更易于推广普及。

关键词 γ -环糊精 邻甲酚酞 定量分析 分光光度法

中图分类号: TS236.9 文献标识码: A 文章编号: 1003-0174(2018)06-0120-07

网络出版时间: 2018-05-14 16:41:27

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20180514.1641.038.html>

环糊精(cyclodextrin,简称CD)是由环糊精葡萄糖基转移酶催化淀粉或其相关的物质所得到的环状化合物,最常见的有 α -CD、 β -CD、 γ -CD 3种,分别由6、7、8个葡萄糖残基通过 $\alpha-1,4$ 糖苷键连接而成。环糊精外亲水、环内疏水的性质使其能与各种有机物作用形成稳定的复合物,改变有机物的某些性质,从而在食品、医药、农业、化工等领域都具有广泛的用途^[1-6]。在这3种环糊精中, γ -环糊精内腔最大,具有更广泛的包埋客体分子的能力,并且其较高的水溶性、突出的乳化特性和安全性,使其在食品、制药和化妆品等领域具有很大的应用空间^[7-9]。故建立一种简便快速测定产品含量的方法,对实现 γ -环糊精的工业化生产和应用具有重要意义。

目前CD的测定方法有荧光分析法、旋光度法、还原糖测定法以及高效液相色谱法等,各有优缺点。荧光分析法是分析目前生物大分子的常用分析手段之一,但由于包括环糊精在内的多糖类物质本身并无荧光基团,故需要采用昂贵的衍生化试剂对环糊

精进行荧光化,测定成本较高,步骤烦琐,且重复性较低^[10-11]。比旋光度法主要采用一些自身无旋光性的物质作为探针,利用其与环糊精形成包络后引起后者旋光度变化值来间接测定环糊精含量,该方法测试灵敏较低,且由于环糊精的高旋光性,除探针之外的其他因素如pH、温度、甚至环糊精浓度等均可引起旋光度的变化,测定结果不稳定,易受干扰,只能作为一种辅助分析手段^[12]。还原糖法同样是多糖及寡糖类的常用定量方法,其原理是通过将样品酶解后测定酶解液中还原糖含量来对样品定量。其优点是反应灵敏,线性关系良好,缺点是缺少专一性,由于所有糖类物质对此方法均有相应,故如样品中含有的葡萄糖及淀粉等成分会影响测定结果^[13]。高效液相色谱(HPLC)法结果准确,精度高,且专一性强,但需要昂贵的色谱仪,对实验人员的要求也较高,且用时较长,难以广泛使用^[14-16]。相比较而言,分光光度法具有仪器简单,操作容易,测定快速等优点,且在一定条件下其测定结果与HPLC法相近,故较适于CD的一般生产和使用单位采用^[17-18]。

有关 γ -CD的分光光度法测定,国内外报道较少,仅Kato等^[19]及刘虹等^[20]有过研究。Tako首先以溴甲酚绿(BCG)为指示剂,利用BCG与 γ -CD形

基金项目:国家自然科学基金(51503147) 国家级现代农业产业技术体系专项(CARS-43-E-2)

收稿日期:2017-11-04

作者简介:张昊,男,1982年出生,讲师,纺织化学

通信作者:张毅,男,1959年出生,教授,纺织化学

成包络物后增色的原理,建立了 γ -CD 的分光光度测定方法。国内的刘虹等在此基础上通过优化工艺,对该法进行了完善。但以 BCG 为指示剂的 γ -CD 测定方法尚存在不足。首先,BCG 对 γ -CD 的增色机理尚不明确;其次,受 BCG 指示剂变色范围的影响,此法需在酸性环境中测定,由于环糊精不耐酸的特性,在酸性中极易分解,从而影响了此法测定结果的准确性^[21]。

由此可见,在 γ -CD 的分光光度测定中,探针的选择尤为重要。本文首次发现 γ -CD 与邻甲酚酞分子包络后会显著降低后者的吸光值,即 γ -CD 对邻甲酚酞溶液具有显著的褪色效应。且其吸光度减小值与 γ -CD 浓度在一定范围内呈线性关系,符合朗伯—比尔定律。此外,与溴甲酚绿不同的是,由于邻甲酚酞探针分子与 γ -CD 包络并褪色的 pH 条件为弱碱性(pH=9~10),而在此条件下环糊精结构比较稳定,故而在最大程度上避免了因样品的分解对测定结果的影响,使测定的准确性与稳定性方面得到必要的保障。基于此,本研究建立了以邻甲酚酞为指示剂的 γ -CD 含量分光光度测定方法,同时就各参数对测定的影响进行了讨论,优化了测定方法,并对测定结果的准确性、重复性进行了深入分析。

1 材料与方法

1.1 主要材料

γ -环糊精(γ -CD):德国瓦克化学试剂有限公司,分析纯;邻甲酚酞(OCP):上海恒远生物科技有限公司,分析纯。

1.2 主要仪器与设备

岛津 2600 紫外可见分光光度计:日本岛津公司;Waters 1525 高效液相色谱仪:美国沃特世公司。

1.3 实验方法

1.3.1 溶液的配制

邻甲酚酞溶液:以 90% 乙醇溶液配制 4.2 mmol/L OCP 母液,使用时再以 20% 乙醇溶液稀释配制所需浓度溶液;pH=9.51 碳酸钠/碳酸氢钠缓冲溶液:由 0.1 mol/L 碳酸钠与 0.1 mol/L 碳酸氢钠溶液配制并以酸度计校准; γ -CD 标准储备液:准确称取一定质量 γ -CD,以去离子水配制成 25 mmol/L 的 γ -CD 标准储备液 100 mL。使用时,再以去离子水稀释制成所需浓度的 γ -CD 待测样品溶液。

1.3.2 γ -CD 的分光光度测定方法

吸光度差值 ΔA 的测定:取一定浓度 OCP 溶液

3 mL 加入比色管中,随后加入一定浓度的 γ -CD 溶液 3 mL,以 pH=9.51 碳酸钠/碳酸氢钠缓冲溶液定容至 25 mL 并混匀。于 30℃ 恒温水浴中静置 15 min 后,在 567 nm 处以缓冲溶液为参比测定其吸光度。在空白实验中,以 3 mL 蒸馏水替代 γ -CD 溶液,其余实验操作相同。

吸光度差值(ΔA) = 空白溶液吸光度(A') - 样品溶液吸光度(A)

γ -CD 标准曲线的绘制:取一定浓度的 OCP 溶液 3 mL 分别加入数个比色管中,随后依次在各管中加入浓度为 1.5、3、4.5、6、7.5、9 mmol/L 的 γ -CD 溶液 3 mL,以 pH=9.51 碳酸钠/碳酸氢钠缓冲溶液将各管定容至 25 mL 并混匀。于 30℃ 恒温水浴中静置 15 min 后,在 567 nm 处以缓冲溶液为参比测定其吸光度。在空白实验中,以 3 mL 蒸馏水替代 γ -CD 溶液,其余实验操作相同。以 γ -CD 浓度为横坐标,被测样品溶液与空白溶液吸光度差 ΔA 为纵坐标作图,得到一正相关曲线,作为 γ -CD 标准曲线。

此方法的检出限采用式(1)计算^[22]:

$$DL = \frac{K' \times S_h}{k} \quad (1)$$

式中:DL 为检出限/mmole/L; K' 为根据一定置信水平确定的系数, IUPAC 建议取 3; S_h 为空白多次测得信号的标准偏差(至少 20 次); k 为方法的灵敏度,即标准曲线的斜率。

计算此方法中 OCP-(γ -CD) 包络物的摩尔吸光系数采用式(2)计算^[23]:

$$\varepsilon = \frac{\Delta A}{b \times c} \times 8.333 \quad (2)$$

式中: ε 为 OCP-(γ -CD) 包络物的摩尔吸光系数/ $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$,在此用吸光度差表示; ΔA 为吸光度差值; b 为液池厚度/cm; c 为物质的量浓度/mol/L;8.333 为样品溶液的测定时的稀释比。

1.3.3 γ -CD 的 HPLC 测定方法

准确称取一定量 γ -CD 与去离子水配制成 10 mmol/L 的标准溶液,随后以去离子水分别稀释成 5、4、3、2、1、0.5 mmol/L 标准溶液,分别以 50 μ L 的进样量注入 Waters 1525 高效液相色谱仪,根据峰面积和浓度绘制标准曲线。色谱条件为:色谱柱: Aqueous Column 2.5 μ m 150 \times 4.6 mm;流动相:甲醇:水(5:95);流速:1.0 mL/min;进样量:50 μ L;柱温:40℃。随后配制浓度为 4.5 mmol/L 的 γ -CD 待测样品溶液,以相同的色谱条件进行含量测定。

2 结果与分析

2.1 邻甲酚酞褪色原理

邻甲酚酞(简称 OCP) 又称邻甲苯酚酞, 与酚酞具有相近的化学结构及理化性质, 其变色范围为 8.2~9.8, 其酸式结构为无色的内酯形式, 碱式结构为醌式而显红色。 γ -CD 使 OCP 褪色的原理可如图 1 所示。当 OCP 分子处于变色 pH 范围内时, 结构不稳定, 容易发生重排, 在与 γ -CD 形成包络物后, 部分 OCP 中心碳原子由原来的 sp^2 杂化转化为以 sp^3 杂化轨道成键, 其结构发生了由醌式向内酯形式的转变, 从而阻碍了三苯环共轭体系的形成, 并使 OCP 溶液褪色^[24]。

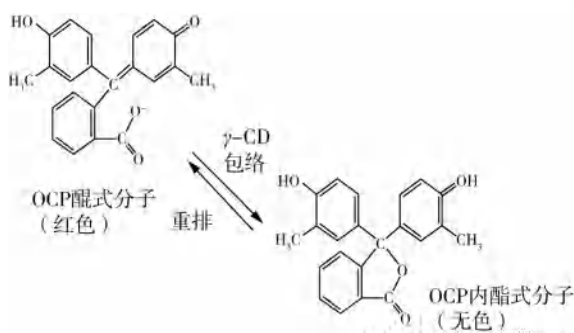


图1 OCP 与 γ -CD 形成包络物褪色的原理示意

2.2 γ -CD 与 OCP 包络物的光谱分析

由图 2 可知, OCP 在碱性条件下最大吸收波长为 567 nm, 在与 γ -CD 形成包络物后, OCP-(γ -CD) 谱峰形状与 OCP 类似, 而在最大吸收波长处则出现显著减色效应。由图 2 中还可发现, 在 567 nm 下 OCP-(γ -CD) 的减色程度随 γ -CD 含量的增加而增大, 即在一定范围内, 此吸光度差值 ΔA 与 γ -CD 浓度呈线性关系, 符合朗伯—比尔定律。这也是本文基于邻甲酚酞褪色法的 γ -CD 含量分光光度测定的理论依据^[25]。

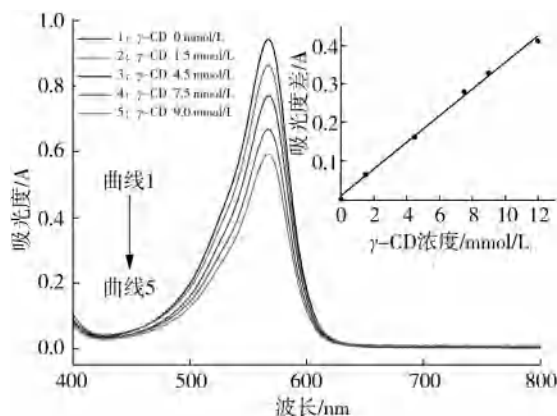


图2 OCP 及不同浓度 γ -CD 与 OCP 形成包络物的吸收光谱

2.3 显色时间的确定

OCP-(γ -CD) 体系达到稳定状态需要一段时间, 期间样品的吸光度会随时间的增加而减小, 即发生褪色效应。以一定时间为间隔测定其吸光度, 并以被测样品溶液与空白溶液吸光度差 ΔA 对显色时间作图, 结果如图 3 所示。可知, 在前 5 min OCP-(γ -CD) 形成速度较快, 吸光度降低较大, 褪色效应明显。其后形成速率变得缓慢, 吸光度降低程度也随之减小。显色 15 min 后, 吸光度达到稳定, 并在其后 10 min 内基本保持不变。本文选择 γ -CD 与 OCP 混合静置 15 min 后测定其吸光度。

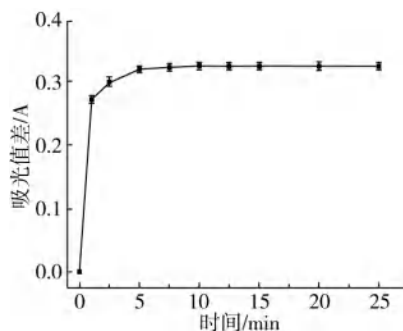


图3 OCP-(γ -CD) 形成速率及稳定性

2.4 测定条件对 γ -CD 测定的影响

2.4.1 pH 对 γ -CD 测定的影响

加入不同 pH 值的碳酸钠/碳酸氢钠缓冲液使体系呈不同 pH, 按 1.3.2 小节中实验的方法测定其吸光度, 并以 ΔA 对 γ -CD 浓度作图, 结果如图 4 所示。

起初随 pH 增大测定曲线斜率随之增大, 即灵敏度升高。当 pH=9.51 时, 斜率达到最大值, 超过此 pH 斜率又有所下降。由 2.1 中原理分析可知, 当 OCP 分子处于变色范围内时, 结构不稳定, 部分 OCP 分子在与 γ -CD 形成包络后分子发生重排, 共轭结构遭到破坏, 使溶液出现减色效应。故本法 γ -CD 含量的测定需要适宜的碱性环境。但当体系碱性过

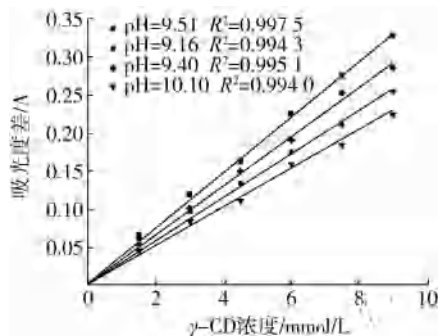


图4 pH 对 γ -CD 测定的影响

高时,这种由醌式向内酯式的结构转变可能较难发生,使褪色现象减弱^[26]。由此可知,以OCP为探剂的 γ -CD分光光度测定时,其缓冲体系pH应处于OCP分子的变色范围内,但不宜过高,在本文建立的方法中以pH=9.51为宜。

2.4.2 温度对 γ -CD测定的影响

由图5可知,在30℃以下,随着温度的升高,测定曲线的斜率逐渐增大,即灵敏度提高,说明 γ -CD与OCP分子形成复合物的驱动力大小受温度的一定影响。适当提高温度可使OCP-(γ -CD)包络物的稳定性增加,使减色效应增强,提高了检测的灵敏度。但当温度超过30℃后,曲线斜率又有下降趋势,且相关系数 R^2 值较小,说明标曲线性关系下降。可能是由于温度过高时不利于OCP-(γ -CD)结构的稳定,不仅会影响检测的灵敏度,也容易引起数据波动,影响检测的准确性。故在本文中 γ -CD含量的测定温度以30℃为宜。

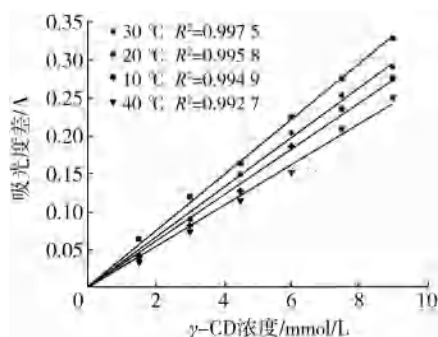


图5 温度对 γ -CD测定的影响

2.4.3 OCP浓度对 γ -CD测定的影响

加入3 mL不同浓度的OCP溶液,测定其吸光度,并以 ΔA 对 γ -CD浓度作图,结果如图6所示。可以看出,OCP浓度对测定 ΔA 与 γ -CD浓度之间的线性关系影响不大,但影响测定的灵敏度。标准曲线斜率随OCP浓度的提高逐渐增大,但当OCP

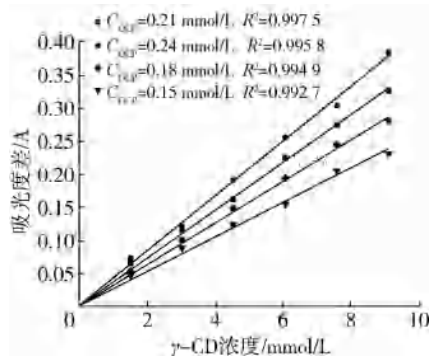


图6 OCP浓度对 γ -CD测定的影响

浓度大于0.21 mmol/L后,曲线斜率虽然继续增加,但此时测试样品的吸光值已大于1,超出朗伯—比尔定律的最佳测定浓度范围,故综合考虑测试方法的灵敏性及测试结果的可靠性,本文选择探剂OCP浓度为0.21 mmol/L。

2.5 标准曲线与检出限

在选定的测定条件下,按实验方法测定其吸光度,并以 ΔA 对 γ -CD浓度作图,结果如图7所示。当测定 γ -CD的浓度范围为0~15 mmol/L时, R^2 为0.9975;但当其浓度测定范围扩大为0~21 mmol/L时, R^2 降低为0.9712。试验确定 γ -CD的线性测定范围为0~15 mmol/L。校准曲线方程 $\Delta A = 0.0325c_{\gamma\text{-CD}}$ (mmol/L), R^2 为0.9975。检出限为0.066 mmol/L,表观摩尔吸光系数 $\varepsilon = 3.06 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

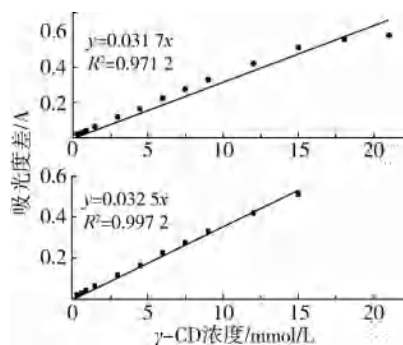


图7 γ -CD测定线性范围的确定

2.6 γ -CD测定的重复性实验与标准加入回收实验^[28]

配制25 mmol/L的 γ -CD标准储备液100 mL,从中取5 mL稀释至一定体积,按1.3.2中的实验方法测定 γ -CD含量,平行测定10次,作为 γ -CD测定的重复性实验,结果如表1所示。再各取5份25 mmol/L的 γ -CD标准储备液5 mL加入不同试管,随后继续加入不同量的标准储备液,并均稀释至同等体积,测定加标样品浓度并计算回收率,结果如表2所示。可以看出,重复性测定结果 $\text{RSD} = 1.47\%$ ($n = 10$),回收率在99.1~101.5%之间,表明本分光光度法测定 γ -CD含量有较高的准确度和可重复性^[29]。

表1 γ -CD测定的重复性实验结果

测定值/mmL/L	平均值/mmL/L	标准偏差/mmL/L	RSD/% $n = 10$
4.94, 5.01, 4.87, 4.92, 5.04	4.97	0.073	1.47
5.09, 4.95, 5.05, 4.90, 4.93			

表 2 γ -CD 测定的加标回收率实验结果

样品	加标量/mmL/L	加标测定值/mmL/L	平均值/mmL/L	RSD/% , $n=5$	回收率/%
#1	1.5	6.42 , 6.31 , 6.46 , 6.50 , 6.38	6.41	1.14	99.1
#2	3.0	8.12 , 8.18 , 7.93 , 8.15 , 7.97	8.07	1.39	100.5
#3	4.5	9.54 , 9.39 , 9.42 , 9.51 , 9.40	9.45	0.72	99.8
#4	6.0	11.15 , 11.30 , 11.21 , 10.93 , 11.06	11.13	1.28	101.5
#5	7.5	12.62 , 12.59 , 12.48 , 12.54 , 12.58	12.56	0.55	100.7

2.7 分光光度法与 HPLC 法测定 γ -CD 的比较

配制已知浓度 (4.5 mmol/L) 的 γ -CD 标准溶液, 分别采用 1.3.3 中的 HPLC 法及本文的分光光度测定法进行浓度测定, 每种测定方法平行测定五次。同时, 将分光光度法测定的样品结果与高效液相色谱法测定的结果进行对比, 结果见表 3。从表 3 中的数据可知, 两种方法的测定结果相当吻合, 分光光度法的平均测定值、标准偏差与 (RSD) 变异系数均与 HPLC 法相差很小, 说明其在精准度方面已经十分接近色谱法。但由于分光光度测定法与 HPLC 法相比, 具有操作简便、测定快速、设备简单, 且对实验人员技术水平要求不高等优点, 因此更易于推广普及。

表 3 分光光度法与 HPLC 法测定 γ -CD 的结果比较

	测定值/mmL/L	平均值/mmL/L	标准偏差/mmL/L	RSD/% , $n=5$
HPLC 法	4.53 , 4.47 , 4.51 , 4.40 , 4.49	4.48	0.050	1.12
分光光度法	4.42 , 4.52 , 4.47 , 4.38 , 4.50	4.46	0.058	1.29

3 结论

首次以邻甲酚酞 (OCP) 为探针建立了基于 OCP 褪色反应的 γ -CD 含量分光光度测定方法。当 OCP 浓度为 0.21 mmol/L, 碳酸钠/碳酸氢钠缓冲溶液 pH=9.51, 30℃显色 15min 时, 褪色程度 ΔA 与 γ -CD 浓度在 0~15 mmol/L 范围内线性关系良好, $R^2=0.9975$ 。该测试方法灵敏度高, 表观摩尔吸光系数 $\varepsilon=3.06 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 检出限为 0.066 mmol/L。样品平均实测回收率在 99.1%~101.5% 之间, 测定结果 RSD 为 1.47% ($n=10$), 具有良好的稳定性与可重复性。此分光光度法与 HPLC 法的测定结果较为吻合, 准确度高, 加之其测定方法简便, 测定快速、普及性强等优点, 有望成为一种新的 γ -CD 定量分析的有效工具, 应用于 γ -环糊精的工业化生产和加工中。

参考文献

- [1] VALLE E M M D. Cyclodextrin their uses: A review [J]. Process Biochemistry, 2004, 39(9):1033-1046
- [2] MANAKKER F V D, VERMONDEN T, NOSTRUM C F V, et al. Cyclodextrin-based polymeric materials: synthesis, properties, and pharmaceutical/biomedical applications [J]. Biomacromolecules, 2009, 10(12):3157-3175
- [3] 邓刚, 许杭琳, 焦聪聪, 等. SVM 回归法在佛手精油 β -环糊精包合工艺优化中的应用 [J]. 中国粮油学报, 2012, 27(4):59-63
- [4] 田耀旗, 金征宇, 邓力, 等. 维生素 D₃- β -环糊精包合物稳定性及抗回生研究 [J]. 中国粮油学报, 2008, 23(5):95-98
- [5] ZHANG J, MA P X. Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: recent progress and future perspective [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2013, 65(9):1215-1233
- [6] PARK C, KIM H, KIM S, et al. Enzyme responsive nanocontainers with cyclodextrin gatekeepers and synergistic effects in release of guests [J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131(46):16614-16615
- [7] LI Z, WANG M, WANG F, et al. γ -Cyclodextrin: a review on enzymatic production and applications [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2007, 77(2):245-255
- [8] HUANG H, YU H, TANG G, et al. Low molecular weight polyethylenimine cross-linked by 2-hydroxypropyl- γ -cyclodextrin coupled to peptide targeting HER2 as a gene delivery vector [J]. Biomaterials, 2010, 31(7):1830-1838
- [9] CAVALLI R, TROTTA F, TROTTA M, et al. Effect of alkylcarbonates of γ -cyclodextrins with different chain lengths on drug complexation and release characteristics [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2007, 339(1-2):197-204

- [10] KONDO H, NAKATANI H, HIROMI K. Analysis of mixtures of α - and β -cyclodextrins using fluorescent dyes [J]. Carbohydrate Research, 1976, 52(1): 1-10
- [11] WALWORTH M J, CONNATSER R M, SEPANIAK M J. Extraction, separation, and fluorometric analysis of selected environmental contaminants [J]. Journal of Separation Science, 2009, 32(17): 2985-2992
- [12] 武雪芬, 白雁, 张广照. 旋光度法测定 β -环糊精-双氯芬酸钠的包合比 [J]. 中国药学杂志, 2001, 36(8): 548-550
- WU X F, BAI Y, ZHANG G Z. Determination of the inclusion ratio of β -cyclodextrin-diclofenac sodium polarimeter [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2001, 36(8): 548-550
- [13] 刘书磊, 黄永忠, 黄虹. 等. 麦芽糖转糖基酶产环糊精性质的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(1): 55-58
- LIU S L, HUANG Y Z, HUANG H, et al. Characterization of amylomaltase to produce cyclodextrins [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(1): 55-58
- [14] WANG J H. Determination of paeonol in the supramolecular inclusion complexes of β -cyclodextrin derivatives by RP-HPLC [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2011, 26(4): 112-142
- [15] MAO Yong, DENG Yuan, LI Jiao, et al. HPLC for simultaneously determination of a mixed-cyclodextrin of α β γ -cyclodextrin [J]. Foods & fermentation Industries, 2009(10): 138-140
- [16] 毛勇, 邓媛, 李皎. 高效液相色谱法测定混合环糊精中 α -环糊精的含量 [J]. 中国食品添加剂, 2010(3): 237-239
- MAO Y, DENG Y, LI J. Study of HPLC in the determination of α -cyclodextrin with in mixed-cyclodextrins [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2010(3): 237-239
- [17] TANG B, WANG X, LIANG H, et al. Study on the supramolecular interaction of thiabendazole and β -cyclodextrin by spectrophotometry and its analytical application [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2005, 53(22): 8452-8459
- [18] 刘虹, 顾正彪, 洪雁. 等. 甲基橙褪色分光光度法定量测定 α -环糊精 [J]. 中国粮油学报, 2008, 23(5): 186-189
- LIU H, GU Z B, HONG Y, et al. Fading spectrophotometric determination of α -cyclodextrin with methyl orange [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2008, 23(5): 186-189
- [19] KATO T, HORIKOSHI K. Colorimetric determination of γ -cyclodextrin [J]. Analytical Chemistry, 1984, 56(9): 1738-1740
- [20] 刘虹, 顾正彪, 洪雁. 等. 溴甲酚绿增色分光光度法测定 γ -环糊精 [J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(4): 451-455
- LIU H, GU Z B, HONG Y, et al. Hyperchromic spectrophotometric determination of γ -cyclodextrin with bromocresol green [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2009, 28(4): 451-455
- [21] 童林荟. 环糊精化学—基础与应用 [M]. 第一版. 北京: 科学出版社 2001: 12-14
- TONG L H. Cyclodextrin chemistry—basic and application [M]. First edition. Beijing: Science Press, 2001: 12-14
- [22] 滕云梅. 乙酰丙酮分光光度法测定土壤中甲醛的检出限分析 [J]. 北方环境, 2011(7): 208-208
- TENG Y M. Detection limit analysis of the acetylacetone spectrophotometry determination for formaldehyde in soil [J]. Northern Environment, 2011(7): 208-208
- [23] 武汉大学. 分析化学 [M]. 第四版. 北京: 高等教育出版社, 2001: 218-224
- Wuhan University, Analytical chemistry [M]. Forth edition. Beijing: Higher Education Press, 2001: 218-224
- [24] NICHOLSON L. Kinetics of the fading of phenolphthalein in alkaline solution [J]. Journal of Chemical Education, 1989, 66(9): 725-726
- [25] 邱细敏, 钱锋, 李志良. 酚酞作探针用于 β -环糊精的分光光度法测定 [J]. 化学世界, 1992(3): 126-129
- QIU X M, QIAN F, LI Z L. The application of phenolphthalein as a indicator in spectrophotometry determination of β -cyclodextrin [J]. Chemical World, 1992(3): 126-129
- [26] 李文德, 周俊侠, 张力田. 分光光度法测定 β -环糊精时条件变化对纯度分析的影响 [J]. 中国粮油学报, 1995(2): 39-43
- LI W D, ZHOU J X, ZHANG L T. The impacts of the conditional variant of β -cyclodextrin Spectrophotometry Determination on the purity analysis [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 1995(2): 39-43
- [27] 田林双, 于伟, 吴存兵. 等. 光度法测定小麦粉中过氧化苯甲酰研究 [J]. 中国粮油学报, 2013, 28(6): 96-100
- TIAN L S, YU W, WU C B, et al. Spectrophotometric determination of flour benzoyl peroxide [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2013, 28(6): 96-100
- [28] 阳泽平, 刘忠芳, 胡小莉. 等. 甲基绿褪色分光光度法测定维生素 K_3 [J]. 分析化学, 2006, 34(s1): 269-271
- YANG Z P, LIU Z F, HU X L, et al. Fading spectrophotometric determination of vitamin K_3 with methylGreen [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2006, 34(s1):

269 – 271

[29] 张如, 戴巧玲, 吴小燕, 等. 分光光度法测定燕麦 β -葡聚糖含量 [J]. 中国粮油学报, 2016, 31(6): 140 – 145

ZHANG R, DAI Q L, WU X Y, et al. Quantification of oat β -glucan by spectrophotometry [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2016, 31(6): 140 – 145.

Quantitative Determination of γ -Cyclodextrin with *o*-Cresolphalein Fading Spectrophotometry

Zhang Hao¹ Zhang Yi¹ Cheng Bowen² Wang Panlei¹ Tian Yun¹

(School of Textiles, Tianjin Polytechnic University¹, Tianjin 300387)

(Tianjin Municipal Key Laboratory of Fiber Modification and Functional Fiber, Tianjin Polytechnic University², Tianjin 300387)

Abstract A new spectrophotometric determination method of γ -Cyclodextrin content based on *o*-cresolphalein (OCP) fading reaction was established, using OCP as a probe. Its theory was that under alkaline condition, the γ -cyclodextrin reacted with OCP molecule to form an inclusion complex. The concentration of γ -CD was linear proportional to the degree of fading ΔA within a certain concentration range, which in accordance with Lambert-Beer's law. The influence of chromogenic conditions on determination of γ -CD content was researched, and the results showed that there was a good linear relationship with γ -CD in the concentration from 0 to 15 mmol/L under the condition that the OCP concentration was 0.21 mmol/L, buffer solution pH = 9.51, proceeding at 30 °C for 15 min. The regression equation was $\Delta A = 0.0325C_{\gamma\text{-CD}}$ (mmol/L), correlation coefficient $R^2 = 0.9975$, apparent molar absorption coefficient $\varepsilon = 3.06 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, and the detection limit was 0.066 mmol/L, which had relatively high sensitivity. The average measured recovery rate of samples was 99.1% ~ 101.5%, and the determined RSD was 1.47% ($n = 10$). This spectrophotometric determination method had accuracy close to HPLC method, and good stability and reproducibility, as well as the straightforward operation and the quick determination, which was easier for promotion and popularization compared with HPLC method.

Key words γ -CD, *o*-cresolphalein, quantitative analysis, spectrophotometry

(上接第 119 页)

studied. The results showed the optimal ZEN-degrading temperature for 7D3-2 is 30 °C, pH 7.0; When the inoculum size was less than 10%, the ZEN degradation rate of 7D3-2 was positively correlated with the inoculum size. The ZEN degradation rate of 7D3-2 was not significantly different when the ZEN concentration was from 1.0 mg/L to 25.0 mg/L. However, when ZEN concentration was higher than 25.0 mg/L, the ZEN degradation rate was inversely proportional to the initial ZEN concentration, but the absolute amount of the degraded ZEN was positively correlated with the initial ZEN concentration. Location experiment showed that the ZEN degrading substance in 7D3-2 was mainly located outside the cells. 7D3-2 can not only degrade ZEN in culture solution, but also degrade ZEN in corn flour. Therefore, this study supplies feasible solution for biotical detoxification of ZEN in grain and feed besides enriching the resources of ZEN degrading bacteria.

Key words zearalenone, biodegradation, screening, identification, *Bacillus amyloliquefaciens*