

水果、蔬菜中维生素 C 含量的测定 ——紫外分光光度快速测定方法探讨

郑京平^①

(福建省测试技术研究所 福州市北环中路 61 号 350003)

摘 要 本文利用维生素 C 具有对紫外产生吸收和对碱不稳定的特性, 建立了紫外分光光度快速测定水果、蔬菜维生素 C 含量的新方法。维生素 C 浓度在 $1.00\text{—}12.0\mu\text{g/mL}$ 范围内与吸收值呈良好的线性关系; 检出限为 $0.014\mu\text{g/mL}$; 加标回收率在 $97.9\%\text{—}99.0\%$ 之间。该法操作简单, 结果准确, 应用于维生素 C 含量的测定, 结果令人满意。

关键词 维生素 C, 紫外分光光度法, 水果, 蔬菜。

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2006)04-0731-05

1 前言

维生素 C 又称抗坏血酸, 是所有具有抗坏血酸生物活性的化合物的统称。它在人体内不能合成, 必须依靠膳食供给。维生素 C 不仅具有广泛的生理功能, 能防止坏血病, 关节肿, 促进外伤愈合, 使机体增强抵抗能力。而且在食品工业上常用作抗氧化剂、酸味剂及强化剂。因此, 测定食品中维生素 C 的含量以评价食品品质及食品加工过程中维生素 C 的变化情况具有重要的意义。

维生素 C 纯品为白色无臭结晶, 熔点在 $190\text{—}192^\circ\text{C}$, 易溶于水, 微溶于丙酮, 在乙醇中溶解度更低, 不溶于油剂。结晶抗坏血酸在空气中稳定, 但它在水溶液中易被空气和其他氧化剂氧化, 生成脱氢抗坏血酸; 在碱性条件下易分解, 见光加速分解; 在弱酸条件中较稳定。

维生素 C 含量的测定方法很多。一般方法有 2,6-二氯酚酚滴定法; 2,4-二硝基苯肼比色法; 荧光分光光度法; 电化学法和高效液相色谱法。

维生素 C 广泛存在于植物组织中, 新鲜的水果、蔬菜中含量较多。水果、蔬菜维生素 C 含量的测定依国标 GB/T 6195-1986 是采用 2,6-二氯酚酚滴定法^[1]。根据维生素 C 的氧化还原性质, 从样品溶液由蓝色转变为粉红色来辨别其终点的到达。但是多数水果、蔬菜样品其提取液都具有一定的色泽, 有的即使用硅藻土也很难脱色, 因此, 滴定终点不易辨认。而 GB/T 6195-1986 附录 A 二甲苯-二氯酚酚比色法虽然适用于测定深色样品还原型抗坏血酸, 但由于萃取液二甲苯为有机溶剂, 有很强的毒性, 既不利于操作人员的健康, 也不利于环境保护, 故不推荐此测试方法。紫外分光光度快速测定法^[2]是根据维生素 C 具有对紫外产生吸收和对碱不稳定的特性, 于波长 243nm 处测定样品溶液与碱处理样品两者吸光度之差, 通过查校准曲线, 即可计算样品中维生素 C 的含量。此法操作简单、快速准确、重现性好, 结果令人满意。特别适合含深色样品的测定。

① 联系人, 电话: (0591) 87814374(办); (0591) 87732389(宅); E-mail: zzf19910513@sina.com

作者简介: 郑京平(1961—), 女, 福州市人, 工程师, 主要从事化学分析工作。

收稿日期: 2006-03-07; 接受日期: 2006-03-29

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

DV 650 单光束扫描型紫外分光光度计(美国贝克曼公司); AE-240 电子天平(瑞士梅特勒公司); 高速组织捣碎机; 800 型离心沉淀器(上海手术器械厂)。

浸提剂: 2.0% (W/V) 偏磷酸溶液; 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液; 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 抗坏血酸标准溶液。以上试剂均为分析纯, 实验用水为蒸馏水。

2.2 实验方法

2.2.1 校准曲线的绘制

称取抗坏血酸 10mg (准确至 0.1mg), 用 2% 偏磷酸溶解, 小心转移到 100mL 容量瓶中, 并加偏磷酸稀释到刻度, 混匀, 此抗坏血酸溶液的浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。吸取 0.00、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.20mL 抗坏血酸标准使用溶液, 置于 10mL 比色管中; 用 2% 偏磷酸定容, 摇匀。此标准系列抗坏血酸的浓度分别为 0.00、1.00、2.00、4.00、6.00、8.00、10.0、12.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。以蒸馏水为参比, 在波长 243nm 处, 用 1cm 石英皿测定标准系列抗坏血酸溶液的吸光度。抗坏血酸吸光度为 A , 试剂空白吸光度为 A_0 , 计算吸光度差 $\Delta A = A - A_0$ 的值。以吸光度差值 ΔA 对抗坏血酸浓度 C 绘制校准曲线。

2.2.2 样品的测定

样液的制备: 将水果、蔬菜样品洗净、擦干, 称取具有代表性样品的可食部分 100g, 放入组织捣碎机中, 加入 100mL 浸提剂, 迅速捣成匀浆。称取 10—50g 浆状样品, 用浸提剂将样品移入 100mL 容量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀。若提取液澄清透明, 则可直接取样测定, 若有浑浊现象, 可通过离心来消除。

样液的测定: 准确移取澄清透明的 0.1—0.5mL 提取液, 置于 10mL 的比色管中, 用 2% 偏磷酸稀释至刻度后摇匀。以蒸馏水为参比, 在波长 243nm 处, 用 1cm 石英皿测定其吸光度。

待测碱处理样液的测定: 分别吸取 0.1—0.5mL 澄清透明提取液, 加入 6 滴 0.5mol/L 氢氧化钠溶液, 置于 10mL 比色管中混匀, 在室温放置 40min 后, 加入 2% 偏磷酸稀释至刻度后摇匀。以蒸馏水为参比, 在波长 243nm 处测定其吸光度。

2.2.3 结果计算

由待测样品与待测碱处理样品的吸光值之差查校准曲线, 即可计算出样品中维生素 C 的含量, 也可直接以待测碱处理液为参比, 测得待测液的吸光值, 通过查校准曲线, 计算出样品的维生素 C 的含量。

$$\text{维生素 C 的含量, mg/100g} = \frac{200 \times C}{m \times V};$$

其中: m ——样品重量, g; 200——稀释倍数; C ——从校准曲线上查得抗坏血酸的含量, $\mu\text{g}/\text{mL}$;
 V ——测试时吸取提取液体积, mL。

3 结果与讨论

3.1 反应条件选择

3.1.1 测定波长的选择

维生素 C 是烯醇化合物, 具有一 $\text{C}=\text{C}$ —基, 在可见区无吸收, 在紫外区有吸收, 按实验方法, 分别对不同浓度的维生素 C 与试剂空白溶液在 200—400nm 波长范围内进行扫描, 结果见图 1。由紫外吸收光谱图表明, 最大吸收峰在 243nm。因此, 选 243nm 作为测量波长。

3. 1. 2 溶剂的选择

由于维生素C 极不稳定, 在样品前处理过程中, 防止抗坏血酸的氧化是非常重要的。可采用添加偏磷酸、草酸的方法加以解决。因为它们均能抑制抗坏血酸的氧化酶, 而起稳定作用。但由于 2% 草酸在波长 243nm 处有非常强的吸收, 所以不能作为维生素 C 的提取液, 而 2% 偏磷酸虽然在波长 243nm 处有微弱的吸收, 见图1, 可通过扣除其空白吸光值, 便可计算出样品维生素C 的吸光值 ΔA 。因此, 本实验选择 2% 偏磷酸作为分光光度法的溶剂。

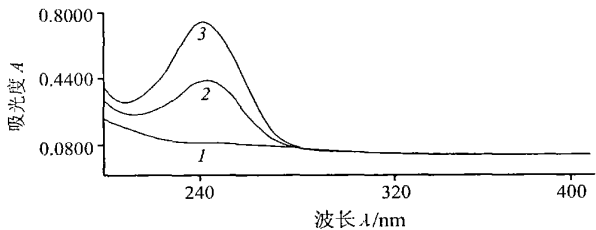


图 1 不同浓度维生素 C 紫外吸收光谱

1——2% 偏磷酸; 2——6.0 $\mu\text{g/mL}$ 维生素 C; 3——12. 0 $\mu\text{g/mL}$ 维生素 C。

3. 1. 3 静置时间的选择

根据维生素C 在碱性介质中不稳定, 易分解的特性, 经过实验表明, 水果、蔬菜提取液加碱后的静置时间与浸提液取样量有关。笔者以本测试方法最大取样量 0. 5mL 做实验, 加入碱液后室温放置时间与吸光度之间的关系, 结果见表 1, 可知在室温放置 35—90min, 吸光度达最小值且稳定, 故选择静置40min。

表 1 静置时间与吸光度 A 关系

时间 t (min)	5	10	15	20	25	30	35	40	60	90
吸光度 A	0. 4142	0. 3863	0. 3670	0. 3652	0. 3645	0. 3600	0. 3588	0. 3590	0. 3587	0. 3589

3. 1. 4 NaOH 试剂用量选择

水果、蔬菜加碱量与提取液的取样量有关, 当提取液取样量 $\leq 0. 5\text{mL}$ 时, 加入 6 滴(约 0. 3mL) 0. 5mol/L NaOH 溶液, 溶液呈碱性(pH 值 > 10), 利用维生素在碱性介质中不稳定特性, 达到破坏维生素C 的目的。若碱液加入量过大, 会影响最终测定液的酸碱度, 故选加入 6 滴 0. 5mol/L NaOH 溶液。若取样体积大于 0. 5mL 时, 应适当多加碱液至溶液 pH 值 > 10 , 此时在室温静置的时间也必须延长。

3. 2 方法的相关性和检测范围

在优化的实验条件下, 校准曲线按本法测定, 数据见表 2, 最大吸光度值最好不要超过 0. 8A, 否则浓度过高容易造成曲线弯曲。以吸光度差值 ΔA 对维生素C 含量作图, 得回归方程 $\Delta A = 0. 05496C + 0. 00651$, 相关系数 $r = 0. 9999$, 结果表明, 维生素 C 在 1. 00—12. 0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内吸光度 ΔA 与浓度 C 之间呈良好的线性关系, 服从比耳定律, 结果见图 2。

表 2 校准系列测定结果

标准溶液浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	0. 00	1. 00	2. 00	4. 00	6. 00	8. 00	10. 0	12. 0
吸光度 A	0. 0718	0. 1362	0. 1875	0. 3034	0. 4104	0. 5176	0. 6275	0. 7355
吸光度差值 ΔA	0. 0000	0. 0644	0. 1157	0. 2316	0. 3386	0. 4458	0. 5557	0. 6637

3. 3 方法检出限

连续测定空白吸光值 10 次, 吸光度值见表 3, 在置信度约 90% 时, 取置信系数 $K = 3$, 按上述线性方程, 其校准曲线斜率 $S = 0. 05496$, 则相对应的

表 3 空白 10 次平行测定结果

吸光度值					标准偏差 SD
0. 0718	0. 0720	0. 0720	0. 0723	0. 0726	0. 00025
0. 0723	0. 0721	0. 0721	0. 0719	0. 0718	

分析物浓度作为方程的检出限 $D \cdot L = KSD/S = 0.014(\mu\text{g}/\text{mL})$ 。

3.4 方法准确度

为确认分析结果的可靠性,了解试样中有无干扰物质存在,应用本法对样品进行加标回收试验,结果见表4,由表4可知,本方法回收率在97.9%—99.0%之间,平均回收率为98.3%,认为共存物质构成干扰已消除。

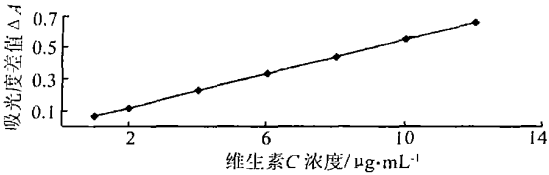


图 2 维生素C 的校准曲线

表 4 加标回收率测定结果

样品名称	本底值(μg)	加入标样量(μg)	测定值(μg)	回收值(μg)	回收率(%)	平均值(%)
西红柿	17.82	10.0	27.64	9.82	98.2	98.3
	17.82	20.0	37.40	19.58	97.9	
脐橙	55.50	10.0	65.40	9.90	99.0	
	55.50	20.0	75.10	19.60	98.0	

3.5 方法精密度

取2种维生素C含量不同的样品,每种样品平行测定5次,结果见表5,从测定结果可以看出,平行样测定有较好的重现性。

表 5 平行样品测定结果 (n= 5)

样品名称	测定值(mg/ 100g)					平均值(mg/ 100g)	RSD(%)
西红柿	17.71	17.25	16.65	16.59	16.92	17.02	2.73
脐 橙	53.18	52.68	53.60	53.08	52.50	53.01	0.82

3.6 不同方法对比试验

紫外分光光度法与2.6-二氯酚酚滴定法采用相同的前处理溶液,只是测试方法不同,从表6可以看出,不同方法测得维生素C的相对平均偏差均< 5.0%,表明2种方法结果相吻合,且紫外分光光度法不受颜色干扰和其他还原性物质的影响,更适合于含深色泽样品的测定。

表 6 不同方法对几种水果、蔬菜的测定结果

样品名称	2.6-二氯酚酚滴定法	紫外分光光度法	方法的相对平均偏差
	Vc(mg/ 100g)	Vc(mg/ 100g)	
小西红柿	18.3	17.0	3.68
花椰菜	55.0	53.3	1.85
脐橙	54.0	53.0	0.93
白菜	6.88	6.36	3.93
西兰花	76.7	75.6	0.72
甜椒	63.2	62.1	0.88

3.7 干扰物质的消除

由于水果、蔬菜中成分复杂,有些成分在紫外区243nm处也会产生吸收,利用维生素C在碱性溶液中具有不稳定性,可在样品中先加入碱液,调节溶液的pH值至碱性,破坏样品中维生素C,用此液作为空白,来校正干扰物质所产生的吸光值,此法具有较强的专一性。

3.8 酸度的影响

在波长为243nm,石英皿为1cm时,10mL 2%的偏磷酸的吸光值与6滴0.5mol/L NaOH溶液和2%偏磷酸配制成10mL溶液的吸光值,6次测定,结果吸光度恒定,说明少量的NaOH溶液而引起溶液微弱酸碱度变化,对吸光值不影响。

4 分析过程中的注意点

- (1) 标准抗坏血酸溶液必须现用现配。
- (2) 要求每批测定样品都要有校准曲线。
- (3) 在处理各种样品时, 如遇到泡沫产生, 可以加入数滴辛醇消除。
- (4) 若样品浑浊, 则可用离心机分离。用转速 3000r/min, 时间约为 20—30min, 至样液澄清、透明, 取上清液分析。
- (5) 一般分析纯抗坏血酸纯度为 99.5% 以上, 可不标定。如试剂发黄, 则弃去不用。或按 GB/T 6195-1986 附录 B 方法标定后再用。

5 结论

本文利用维生素 C 具有对紫外产生吸收和对碱不稳定的特性, 建立了紫外分光光度快速测定水果、蔬菜维生素 C 的新方法。实验结果表明, 维生素 C 浓度在 1.00—12.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与紫外吸收值呈良好的线性关系, 利用此方法测定样品中维生素 C 含量最低检出限为 0.014 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 回收率在 97.9%—99.0% 之间, 相对标准偏差 $\text{RSD} < 5\%$, 表明该方法简单易行, 结果准确、灵敏度高, 检出限低, 可快速测定水果、蔬菜中维生素 C, 值得推广应用。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家标准汇编. 2, 6-二氯酚酚滴定法[S]. GB/T 6195/86. 北京: 中国标准出版社, 1986. 01-18.
- [2] 何照范, 张迪清. 保健食品化学及其检测技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999. 101-102.

Determination of the Vitamin C in Fruits and Vegetables ——Discussion on UV Spectrophotometry

ZHENG Jing-Ping

(The Academy of Testing Technology of Fujian, Fuzhou 350003, P. R. China)

Abstract According to the characteristics that vitamin C can absorb ultraviolet radiation and is volatile to alkali, this article establishes a new and fast method to determine the content of vitamin C in fruits and vegetables by ultraviolet spectrophotometry. When the concentration is between 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 12.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, vitamin C has favorable linear relationship with the value of absorption. The detection limit is 0.014 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the recovery ratios are between 97.9% and 99.0%. This method is easy to operate with high precision. The result is satisfactory when it was used to determine vitamin C.

Key words Vitamin C, UV-Spectrophotometry, Fruit, Vegetable.

本刊可上网查阅

由于本刊在 2001—2005 年被《中国核心期刊(遴选)数据库》收录, 全文上网, 因此, 读者、作者均可直接上网查阅。网址:

<http://www.periodicals.net.cn>

<http://www.wanfangdata.com.cn>

<http://gpsys.periodicals.net.cn>

<http://gps.chinajournal.net.cn>