

# 磷钼蓝共振散射光谱分析法测定抗坏血酸<sup>①</sup>

刘梯楼 孙双姣<sup>②</sup> 袁利萍<sup>a</sup> 张运良

(邵阳医学高等专科学校 湖南省邵阳市宝庆西路 18 号 422000)

a(中南林业科技大学理学院 长沙市韶山路 498 号 410004)

**摘要** 在硫酸介质中, 抗坏血酸可以定量地将磷钼酸铵还原成磷钼蓝, 磷钼蓝在 390nm 波长处产生强烈的共振光散射峰, 在 0.15—5.00mg/L 范围内, 随着抗坏血酸浓度的增加, 共振散射强度线性增强, 回归方程为  $\Delta I_{RS} = 21.45\rho + 2.63$ , 相关系数为 0.9986, 检出限 0.12mg/L。由此建立了一种简单、灵敏检测抗坏血酸的方法, 该方法用于测定饮料中的抗坏血酸, 具有方便、快速的特点和较高的准确度和重现性。

**关键词** 抗坏血酸; 磷钼蓝; 共振散射光谱法

中图分类号: O657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2010)05-2060-04

## 1 引言

抗坏血酸是人体不可缺少的物质, 具有降低血液中的胆固醇, 减缓动脉粥样硬化, 降低血管脆性, 增强机体抵抗力的作用。人体如果长期缺乏抗坏血酸, 将导致坏血病, 肝脏、心脏等损伤的疾病。因此, 建立快速灵敏测定抗坏血酸的分析方法具有重要意义。目前, 测定的方法主要有滴定分析法<sup>[1]</sup>、光度法<sup>[2-4]</sup>、电化学法<sup>[5,6]</sup>、荧光法<sup>[7]</sup>、高效液相色谱法<sup>[8]</sup>等。共振散射光谱技术具有灵敏度高, 选择性好、简便易操作等优点, 已用于抗坏血酸含量的测定<sup>[9,10]</sup>, 但有关磷钼蓝共振散射光谱分析法测定抗坏血酸未见报道。本文用抗坏血酸将磷钼酸铵还原成磷钼蓝, 利用磷钼蓝的共振散射效应建立了一个简便、稳定、条件易控制的测定抗坏血酸的新方法。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

RF-540 型荧光分光光度计(日本岛津公司)。

10.00mg/mL 维生素 C 标准溶液, 用时配制; 3mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液; 6.65mg/mL 的 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液; 8.00mg/mL 的 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 溶液: 取 2.00g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 于 250mL 小烧杯中, 加入 150mL 二次蒸馏水, 加热溶解, 冷却后转移至 250mL 容量瓶中, 用二次蒸馏水稀释至刻度, 摇匀; Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O 溶液: 称取 2.00g Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O 于小烧杯中, 加 100mL 3mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液溶解, 转移至 250mL 容量瓶中, 用 3mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液稀释至刻度, 为 6.30mg/mL Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液; 所用试剂均为分析纯。实验用水为二次蒸馏水。

① 邵阳市科技局科技项目(55J08); 湖南省教育厅优秀青年项目(07B071)

② 联系人, 电话: (0739) 5308282; E-mail: sshj0051@sina.com

作者简介: 刘梯楼(1963—), 女, 湖南省邵阳市人, 副教授, 学士, 主要从事分析化学教学和光谱分析研究工作。

收稿日期: 2010-05-15; 接受日期: 2010-06-09

## 2.2 实验方法

取 10mL 比色管, 依次加入 1.4mL 3mol/L  $H_2SO_4$  溶液、0.8mL  $(NH_4)_2MoO_4$  溶液、0.6mL  $NaH_2PO_4$  溶液、0.15mL  $Bi(NO_3)_3$  溶液, 摇匀, 然后准确吸取一定量抗坏血酸标准溶液, 加入比色管中, 用二次蒸馏水稀释至 5mL, 摇匀, 80℃ 恒温水浴 15min 使反应完全, 冷却至室温, 取适量于石英池中, 置于荧光分光光度计上, 用低灵敏度档, 纵坐标为 6, 同步扫描激发波长  $\lambda_{ex}$  和发射波长  $\lambda_{em}$  ( $\lambda_{ex} = \lambda_{em}$ ), 得到体系的共振散射光谱, 测定 390nm 波长处的共振散射光强度  $I_{RS}$ ; 以不加抗坏血酸作空白, 测其共振散射光强度  $(I_{RS})_b$ , 计算  $\Delta I_{RS} = I_{RS} - (I_{RS})_b$ 。

## 3 结果与讨论

### 3.1 共振散射光谱

磷酸盐与钼酸铵在酸性溶液中反应生成黄色的磷钼酸铵, 在  $H_2SO_4$  介质中, 为黄色可溶性化合物, 共振散射强度极弱。如图 1 所示, 在磷钼酸铵中加入抗坏血酸, 磷钼酸铵被抗坏血酸还原为磷钼蓝, 磷钼蓝在 340—550nm 波长范围内产生共振散射效应, 在 390nm 与 470nm 波长处产生 2 个共振散射峰。本文选择 390nm 波长进行研究。

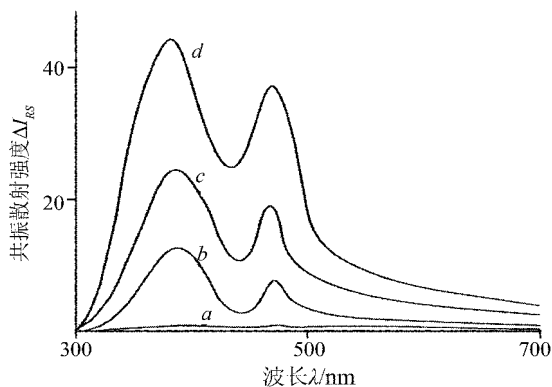


图 1 磷钼蓝共振散射光谱

- a—0.93mol/L  $H_2SO_4$ + 1.3mg/mL  $(NH_4)_2MoO_4$ +  
0.8mg/mL  $NaH_2PO_4$ + 0.2mg/mL  $Bi(NO_3)_3$ ;  
b—a+ 0.50mg/L Vc;  
c—a+ 1.00mg/L Vc;  
d—a+ 2.00mg/L Vc。

### 3.2 酸度的影响

在强酸性 ( $H_2SO_4$ ) 介质中, 磷钼酸铵的氧化能力很强, 乙醇、盐酸羟胺、氯化亚锡、 $SO_3^{2-}$ 、Vc 等还原剂不仅可以使磷钼酸铵还原成磷钼蓝, 而且可以使反应物钼酸铵还原成钼蓝使测定无法进行。在  $H_2SO_4$  (0.08—0.12mol/L) 介质中, 上述还原剂中只有抗坏血酸可以使磷钼酸铵还原成磷钼蓝<sup>[4]</sup>。实验了 0.08—0.12mol/L 的  $H_2SO_4$  对共振散射强度的影响, 结果表明, 共振散射强度变化不明显。酸度过高, 生成的磷钼酸铵易与试样中其他成分反应。本实验选取 3mol/L  $H_2SO_4$  溶液 1.4mL, 加上  $Bi(NO_3)_3$  溶液中的  $H_2SO_4$ , 相当于  $H_2SO_4$  的浓度为 0.93mol/L。

### 3.3 $(NH_4)_2MoO_4$ 的影响

在  $H_2SO_4$  介质中,  $(NH_4)_2MoO_4$  与  $NaH_2PO_4$  反应生成磷钼酸, 共振散射强度极弱, 实验表明 (图 2), 随着  $(NH_4)_2MoO_4$  浓度的增加, 共振散射强度增大, 当  $(NH_4)_2MoO_4$  的浓度为 1.3mg/mL 时, 共振散射强度达到最大值, 然后随着  $(NH_4)_2MoO_4$  浓度的增大, 磷钼蓝聚合体将会生长得太大而沉淀, 共振散射强度反而变小。在本实验中, 加入  $(NH_4)_2MoO_4$  0.8mL, 浓度为 1.3mg/mL。

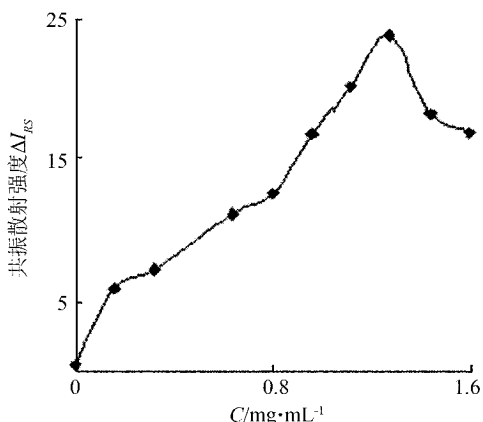


图 2 不同  $(NH_4)_2MoO_4$  浓度的影响

- $C_{H_2SO_4} = 0.93mol/L$ ;  $C_{NaH_2PO_4} = 0.8mg/mL$ ;  
 $C_{Bi(NO_3)_3} = 0.2mg/mL$ ;  $C_{Vc} = 1.00mg/L$ 。

### 3.4 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 的影响

实验了 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 浓度对于反应的影响, 如图 3 所示, 当 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 浓度为 0.8mg/mL 时, 共振散射强度达到最大值, 最后随着 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 浓度的增大, 共振散射强度变化不明显, 本实验选取 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液 0.6mL, 浓度为 0.8mg/mL。

### 3.5 Bi<sup>3+</sup> 的影响

不加 Bi<sup>3+</sup> 催化时, 反应速度很慢, 加入 Bi<sup>3+</sup> 离子后, 既能加快磷钼酸铵的生成反应, 也能促进抗坏血酸与磷钼酸铵的反应。实验考察了 Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 浓度对反应速度的影响, 结果表明, 当 Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 的浓度大于 0.2mg/mL 时, 能较大地加速反应的进行, 但浓度过高, 在本实验条件下易发生水解, 故本实验选取的是 6.3mg/mL Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液 0.15mL, 浓度为 0.2mg/mL。

### 3.6 温度的影响

考察了温度对于反应速度的影响, 加入 Bi<sup>3+</sup> 催化时, 室温下可加快反应速度, 但共振散射强度增加仍然缓慢。室温为 20℃ 时, 3h 后才能达到稳定状态。如在 80℃ 水浴恒温 15min。反应便可完全, 冷却后共振散射强度稳定, 至少 10h 不变。

### 3.7 干扰及其消除

当抗坏血酸浓度为 1.00mg · L<sup>-1</sup>, 按实验步骤测定, 在 8% 的误差范围内, 1000 倍以上的 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup>、酒石酸、柠檬酸, 500 倍以上的乙醇、蔗糖; 200 倍的盐酸羟胺、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>; 80 倍的葡萄糖、Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>; 25 倍谷氨酸、草酸不干扰测定。

### 3.8 校准曲线的制作

分别量取不同浓度抗坏血酸(mg/L)按实验方法进行测定, 并以体系的共振散射强度  $\Delta I_{RS}$  对浓度作图。在 0.15—5.00mg/L 范围内, 抗坏血酸浓度与  $\Delta I_{RS}$  之间存在良好的线性关系, 回归方程为  $\Delta I_{RS} = 21.45\rho + 2.63$ , 相关系数为 0.9986, 抗坏血酸检出限为 0.12mg/L。

### 3.9 样品的测定

取市售饮料直接过滤并弃去初滤液; 苹果醋直接取 1mL 进行测定, 其他饮料稀释 100 倍后取 1mL 按 2.2 实验方法进行测定, 结果见表 1。取一定质量的抗坏血酸加入到已知的待测样品中, 与未加标准样品同时经过分析与测定步骤, 得到回收率的测定结果, 结果如表 2, 求得回收率在 96.2%—104.9% 之间。

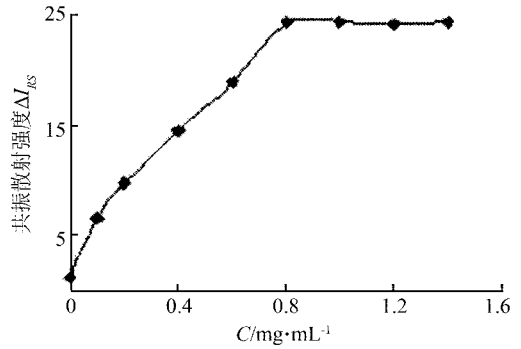


图 3 不同 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 浓度的影响

$C_{H_2SO_4} = 0.93\text{mol/L}$ ;  $C_{(NH_4)_2MnO_4} = 1.3\text{mg/mL}$ ;

$C_{Bi(NO_3)_3} = 0.2\text{mg/mL}$ ;  $C_{Vc} = 1.00\text{mg/L}$ 。

表 1 样品分析结果

样品	测定值					平均值 (mg/L)	RSD (%)
	(mg/L)						
苹果醋	3.5	3.5	3.6	3.5	3.6	3.5	1.57
美汁源果粒橙	254.0	254.7	247.9	248.3	247.1	250.4	1.45
真鲜橙	103.0	101.8	102.1	102.5	100.5	102.0	0.92
鲜橙多	255.1	253.4	258.7	245.7	248.7	252.3	2.05

表 2 回收率的测定结果

样品	样品原含量 (mg/L)	加标量 (mg/L)	加标测定值 (mg/L)	回收率 (%)
苹果醋	1.25	0.50	1.741	98.2
美汁源果粒橙	1.25	0.50	1.767	103.2
真鲜橙	1.02	0.50	1.544	104.9
鲜橙多	1.26	0.50	1.741	96.2

## 4 结论

本研究表明磷钼蓝也可以产生强烈的共振光散射,由此建立了一个简便、稳定、条件易控制的测定抗坏血酸的新方法,用于测定饮料中的抗坏血酸,结果满意。

## 参考文献

- [1] 王敏群,刘清,孙丽枫. 蔬菜中抗坏血酸含量分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(7): 845.
- [2] 孙登明,马伟. 痕量抗坏血酸的阻抑动力学光度法测定[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(5): 596—597.
- [3] 孙登明. 萃取催化光度法间接测定痕量抗坏血酸[J]. 分析实验室, 2005, 24(1): 1—4.
- [4] 奚长生. 磷钼蓝分光光度法测定维生素 C[J]. 光谱学与光谱分析, 2001, 21(5): 723—725.
- [5] 吴靖,刘国东,黄杉生等. 2-氨基吡啶修饰电极的电化学性质及对抗坏血酸的测定[J]. 分析化学, 2001, 29(10): 1140—1143.
- [6] 王征帆,杨艳丽. 恒电流库仑分析法测定蔬菜中抗坏血酸[J]. 食品科学, 2008, 29(1): 241—243.
- [7] 章丽,余世科,高峰等. 一种新型环糊精衍生物的制备及荧光法测定抗坏血酸[J]. 分析化学, 2005, 33(11): 1583—1586.
- [8] 杨红兵,张成孝,洪成林. 高效液相色谱电化学发光法检测抗坏血酸[J]. 理化检验(化学分册), 2006, 42(7): 526—528.
- [9] 袁明华. 抗坏血酸的共振光散射法测定[J]. 食品科学, 2008, 29(1): 239—240.
- [10] 温桂清,梁爱惠,吴宝玲等. 磷钼蓝-纳米金共振散射光谱法测定抗坏血酸[J]. 广西师范大学学报, 2008, 26(4): 95—97.

# Determination of Ascorbic Acid by Resonance Scattering Spectrometry with Phosphomolybdate Blue

LIU Ti-Lou SUN Shuang-Jiao YUAN Li-Ping<sup>a</sup> ZHANG Yun-Liang

(Shaoyang Medical College, Shaoyang, Hunan 422000, P. R. China)

<sup>a</sup>(College of Science, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, P. R. China)

**Abstract** In the medium of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ascorbic acid can reduce phosphomolybdate ammonium quantitatively to phosphomolybdate blue, which exhibits strong resonance scattering peak at 390nm. The intensity of resonance scattering is proportional to the concentration of ascorbic acid in the range of 0.15—5.00mg/L, with regression equation of  $\Delta I_{RS} = 21.45\rho + 2.63$ , relative coefficient of 0.9986, detection limit of 0.12mg/L. The method was applied successfully for the analysis of ascorbic acid in drink, easily and conveniently. The accuracy and the repeatability are satisfactory.

**Key words** Ascorbic Acid; Phosphomolybdate Blue; Resonance Scattering Spectrometry