

紫外分光光度法快速测定 果蔬及饮料中维生素 C 含量的研究

周德庆^① 韩雅珊^②
(食品科学系)

摘要 维生素 C 在紫外(UV)谱区 243,267 nm 处有吸收峰,且在碱性条件下不稳定,当 pH 达 12~13 时,10 min 其破坏率达 95%以上,利用碱处理前后吸光度的变化可以消除背景干扰测定 VC 含量。比色液 VC 含量在 0.3~25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 服从 Beer-Lambert 定律,准确度、精确度、回收率等实验表明,本法快速、准确、可靠,适用于大多数果蔬和除了含有高浓度咖啡因、糖精、焦糖和单宁以外饮料 VC 含量的测定。

关键词 碱处理; UV 法; VC 测定; 果蔬及饮料

中图分类号 Q564

Study of Direct Ultraviolet Spectrophotometry on the Determination of Ascorbic Acid in Fruits, Fruit Juices and Soft Drinks

Zhou Deqing

(Dept. of Food Science Lai Yang Agricultural College)

Han Yashan

(Dept. of Food Science)

Abstract Direct ultraviolet spectrophotometry through alkaline treatment as a fast and simple analytical method for the determination of ascorbic acid in fruits, fruit juices and soft drinks was developed. The optical maximum absorption of vitamin C was 243 nm at pH2. The detection limit was 0.3~50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. It was found that the alkaline treatment method can be used as a background correction in blank, because more than 95% vitamin C was destroyed in 10 min after alkaline treatment (pH12~13). The interferences in about forty components of the fruit juices, mainly the natural substances and additives were studied. No significant interferences were observed for most of the samples tested. This method was found to be applicable to most fruits, fruit juices and soft drinks except those that were unstable to alkaline treatment, and were deeply colored, or contained high concentration of caffeine, saccharin, caramel and tannic acid.

Key words alkaline treatment; ultraviolet spectrophotometry; ascorbic acid determination; fruit-vegetable and soft drink

维生素 C(VC)又称抗坏血酸,是一种重要的维生素,人体内不能合成,必须从果蔬及其

收稿日期: 1996-06-26

①周德庆,莱阳农学院食品科学系,山东,265200

②韩雅珊,北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区),100094

制品中摄取。VC的一个重要光谱特性是在紫外区的243,267 nm有强烈的吸收峰^[1]；因此，可以利用之用UV计测定VC的含量。但是，由于样品中存在着各种干扰物质易产生背景吸收，必须采用背景校正以消除干扰；碱处理法是基于VC对碱不稳定的特性，据处理前后吸光度之差测定VC含量。作者对该法的研究旨在选择最佳的测定条件，确定比色液VC的浓度范围及样品的适用范围、方法的准确度、精确度、回收率。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

本研究的试剂均用去离子水配制，材料选自北京市场的各种果蔬和饮料，其处理方法是先将果蔬洗净擦干，称取有代表性的样品10 g，加5~10 mL 1%盐酸匀浆，用50 mL容量瓶定容，然后过滤或离心后备用；饮料可直接取样。

1.2 主要仪器

190型UV计(岛津)，120-02型UV计(岛津)，HM-02型pH计(日本TOA)，记录仪及铂金复合电极等。

1.3 操作方法

1)取0.5 mg·mL⁻¹标准VC于50 mL容量瓶中，用1%盐酸和0.01 mol·L⁻¹ NaOH调不同的pH值。分别取0.5 mL 1mg·mL⁻¹，标准VC于50 mL容量瓶中，其一加2 mL 10%盐酸；其二加5 mL 0.01 mol·L⁻¹ NaOH，10 min后加5 mL 10%的盐酸。然后都用去离子水定容至刻度。分别用以上各液，以去离子水为参比，用1 cm的比色杯在UV计上立即扫描200~300 nm的吸收曲线，同时测定各液的pH值。

2)配制浓度为0.1~1.0 μg·mL⁻¹和10~100 μg·mL⁻¹的标准VC系列，用190型UV计测定243 nm的吸光度，作出标准曲线，找出测定浓度的上下限。

3)配制pH分别为1.18, 4.08, 9.80, 12.50的缓冲液^[2]，吸取一定量的标准VC，用缓冲溶液按正交试验法使50 mL容量瓶中VC的浓度分别为50, 25, 10 μg·mL⁻¹，立即用UV计测定各液随时间而变化的吸光度。

4)将可能产生干扰的物质配成合适的浓度，取一定量与2 mL 2%盐酸一起放入50 mL的容量瓶中，去离子水定容；在243 nm处测吸光度，比较这些物质在243 nm的吸收情况，以与1 μg VC产生相同吸光度的量为标准；对产生吸光度较大的物质，用碱处理看碱处理前后的吸光度变化。

5)分别取1.0 mL样品液或饮料，其一放入盛有2 mL 10%盐酸的容量瓶中；其二放入盛有10 mL去离子水和4 mL 1 mol·L⁻¹ NaOH的容量瓶中，10 min后加入4 mL 10%盐酸；两者都用去离子水定容。以2 mL 10%盐酸定容50 mL后的溶液为参比，在243 nm测定上述两液的吸光度，二者之差即为VC单独吸收所致。

6)准确度、精确度、回收率实验，采用与AOAC的2,6-二氯酚滴定法进行平行测定，同时做回收率实验，有色溶液用电位滴定法指示终点。

2 结果与分析

2.1 不同 pH 下对 VC 的吸收曲线的影响

图 1 为不同 pH 下 VC 的吸收曲线, VC 在 pH 2 左右时, 243 nm 处有吸收峰, 且吸光度较恒定。pH 值增大至中性时, 吸收峰移至 267 nm 且随 pH 增大吸光度变小。因此, 可以利用 pH 2 左右时 243 nm 的特征吸收来测定 VC 的含量。图 2 是样品在测定条件下的吸收光谱, 其中 a 由于 VC 的存在, 243 nm 处有吸收峰, 曲线 b 则由于碱处理破坏了 VC, 在 243 nm 不表现吸收峰, 它在 243 nm 右侧的平稳吸收是由各种干扰物质的背景吸收引起的。各种因素的综合影响导致 VC 在 243 nm 有一个最大吸收峰, 可表示于曲线 c。由此可见, 243 nm 适合用来测定 VC 的含量。

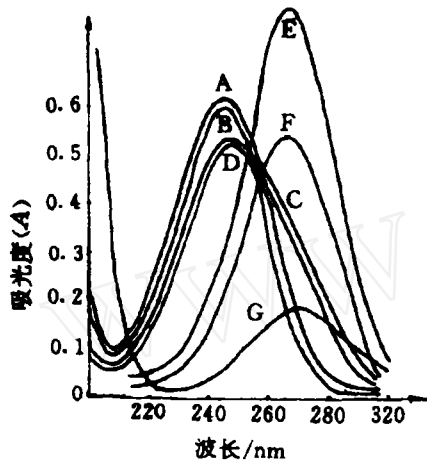


图 1 不同 pH 下 VC 的紫外吸收光谱

pH 值: A-1.49; B-2.05; C-3.65; D-3.94; E-7.19;

F-7.42; G-11.37; VC 浓度: $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

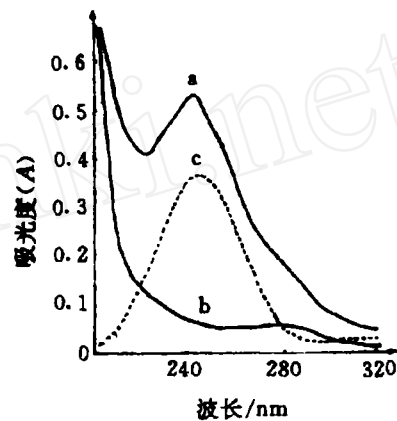


图 2 样品碱处理前后的吸收光谱

a. 处理前; b. 处理后; c. A-B

2.2 测定范围的下上限

以 VC 浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标作图(图 3, 4)。表明 VC 浓度在 $0.3 \sim 1.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $10 \sim 50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 服从 Berr-Lambert 定律, 因此测定的下限为 $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 上限为 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 即比色液的浓度范围为 $0.3 \sim 50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3 碱处理的优化条件及样品的最适范围

VC 在中性及碱性条件下可以解离为脱氢 VC 不稳定, 特别是强碱条件下易降解为蔗糖酸和草酸。通过研究其不同 pH 条件下动力学变化可以确实其测定的最佳条件, 图 5 是正交试验法得到的不同浓度的 VC 在不同 pH 值的变化。B₄、C₄ 所示, 当 pH 为 12.50 时, 10 min 后 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 VC 的破坏率高于 95%; A₄ 也说明, pH 12.50 时 10 min 后 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ VC 的吸光度变化很小。因此, 当 pH 12~13 时, 可以把 10 min 作为碱处理的时间, 而要在 10 min 内使 VC 的破坏率达 95% 以上, 其浓度必须低于 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。结合上述测定下限为 $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 故本法测定适合于比色液的 VC 浓度为 $0.3 \sim 25$

$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

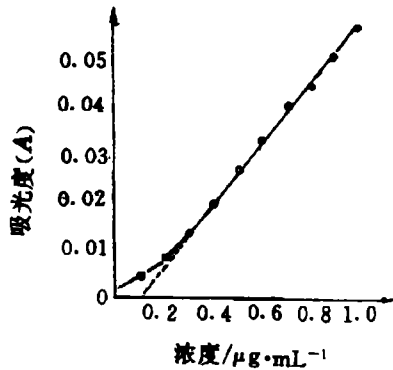


图3 VC的测定下限

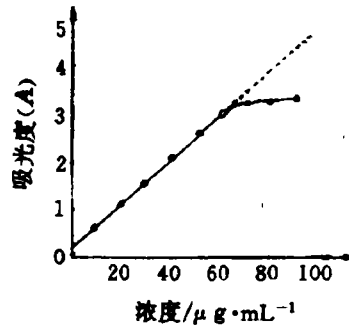


图4 VC的测定上限

2.4 干扰因素分析

在 243 nm 有吸收的物质都有可能影响测定,但是;如果这些物质的吸收较小或碱处理前后稳定,则对测定结果影响甚小或对无影响。实验对果蔬及制品中可能含有几十种天然物质和添加剂如甜味剂、酸味剂、色素、防腐剂、无机盐、氨基酸、维生素等在 243 nm 的吸收情况,用与 $1\ \mu\text{g}$ VC 产生相同吸光度的物质质量进行比较(表 1);相当量数值越大,吸收越小,干扰就小。由表 1 可见,多数物质的相当量在 $10^2 \sim 10^5$,这些物质对测定结果的影响可以忽略不计。糖精、单宁酸、防腐剂、多数色素及 B 族维生素中的 B_1, B_2, B_6 在 243 nm 有较强吸收且碱处理前后吸光度发生变化(表 2),要具体分析。上述 B 族维生素,由于果蔬及其制品中含量甚微,在每 100 g 含 $0.01 \sim 0.13\ \text{mg}$,因此除其强化饮料不会干扰测定;咖啡因、胭脂红、柠檬黄等碱处理前后吸光度变化小于 10%,影响相对较小;焦糖、糖精、单宁酸碱处理前后吸光度变化大于 20%,测定时应加以考虑。故本法适合于除了含有高浓度焦糖、糖精、单宁酸以外的果蔬及饮料 VC 含量测定。

2.5 方法的准确度、精确度和可靠性

UV 法与 AOA 的 2,6-二氯酚滴定法比较(表 3)结果接近,说明用本法测 VC 含量准确可靠,且有很好的重现性(表 4),回收率(表 5)。实验利用背景校正的达 95%~102%,而不

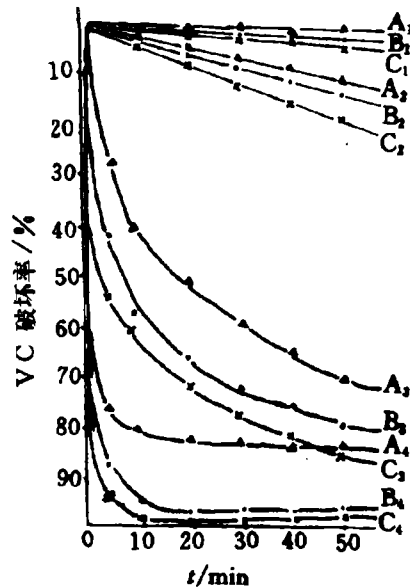


图5 不同 pH 下不同浓度 VC 的变化
A, B, C 分别表示浓度为 $50, 25, 10\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 VC;

1, 2, 3, 4 表示 pH 1.18, 4.08, 9.80, 12.50

用背景校正的结果能偏高数倍。由此可见,UV 法测定 VC 必须采用背景校正技术。

表 1 与 1 μg VC 产生相同吸光度的各物质质量(243 nm)

物质名称	1 μg VC 相当量/ μg	物质名称	1 μg VC 的 相当量/ μg	物质名称	1 μg VC 的 相当量/ μg	
甜味剂	蔗糖	3.5×10^4	氨基酸 DL-天冬氨酸	2.5×10^2	维生素 维生素 B ₁	1.44
	麦芽糖	8×10^3	DL-苏氨酸	2.5×10^3	维生素 B ₂	3.20
	果糖	4.5×10^3	谷氨酸	3.6×10^2	维生素 B ₆	3.50
	葡萄糖	2.3×10^4	丝氨酸	1.3×10^3	色素 胭脂红	1.44
	甘露糖	1.8×10^4	半胱氨酸	1×10^3	柠檬黄	1.84
	糖精	5.2	异亮氨酸	3.8×10^2	橙黄 G	1.28
	山梨醇	4.5×10^3	无机盐 磷酸二氢钾	5.5×10^3	防腐剂 山梨酸	3.56
	酸味剂	乌头酸	1.3	氯化钾	6.3×10^3	苯甲酸
单宁酸		1.6	氯化钠	1.4×10^4	其他 EDTA-Na	9.210
α -酮戊二酸		10	硫酸铜	1.3×10	咖啡因	3.76
柠檬酸		3.1×10^2	硫酸铁	5.4×10	乙醇	6×10^5
酒石酸		5×10^2	氯化钙	4.9×10^2	甘油	5.3×10^3

表 2 某些食品添加剂和 B 族维生素碱处理前后吸光度的变化(243 nm)

名 称	浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	吸 光 度		
		处理前	处理后	相差/%
苯甲酸	11.76	0.292	0.283	-3.0
山梨酸	3.40	0.542	0.562	3.7
胭脂红	12.40	0.542	0.582	6.8
柠檬黄	6.12	0.423	0.458	7.2
橙黄 G	6.2	0.621	0.634	2.1
焦糖	16.5	0.087	0.102	17.2
糖精	5.2	0.068	0.078	12.8
单宁酸	16.0	0.243	0.311	28.0
马来酸	32.0	0.200	0.209	4.5
咖啡因	4.80	0.051	0.055	7.8
维生素 B ₁	8.56	0.30	0.074	75.3
维生素 B ₂	12.24	0.607	0.132	76.6
维生素 B ₆	13.12	0.279	0.057	76.0

3 讨论

利用 UV 法测定 VC 含量,必须采用背景校正技术消除干扰,文献报道有热降解法^[3,5]、酶降解法^[6,7]、直接紫外线照射法^[3]、铜离子破坏法^[4]等。酶法条件要求严格,需在 30℃ 保温

30 min,热与紫外线破坏法速率太慢,Cu²⁺法需在 50℃消除柠檬酸的影响。相比之下,碱处理法显示了优越性适合多数果蔬及饮料 VC 含量的测定。

表 3 样品两种方法测定结果比较

样品名称	VC 含量 mg·100g ⁻¹			相对偏差 /%
	碱处理 UV 法	滴定法	绝对偏差	
柚子	39.25	41.50	2.25	5.4
青椒	120.00	118.00	2.00	1.70
冬瓜	9.60	10.10	0.50	4.90
菜花	77.50	76.00	1.50	1.90
猕猴桃汁	34.00	36.00	2.00	5.60
柑桔汁	7.20	7.50	0.30	4.00

表 4 样品 UV 测定的重现性

样品	吸光度测定值(A)	样品空白 A 值	标准差	变异系数/%
柑桔	0.098	0.069	6.1×10 ⁻³	6.2
香菜	0.230	0.152	0.010 4	4.5
猕猴桃	0.174	0.042	0.011 7	6.7
天然玫瑰石榴汁	0.806	0.503	0.012 0	1.4
白菜(叶)	0.236	0.149	6.1×10 ⁻³	2.5
西红柿	0.103	0.039	4.2×10 ⁻³	4.1

表 5 UV 测定的回收率实验

样品	VC 添加量 /μg	利用背景校正的测定结果				不用背景校正的测定结果	
		样品 A	空白 A	VC 测定量/μg	回收率/%	VC 测得值/μg	回收率/%
摩奇鲜桃汁	200	0.403	0.145	201.5	101	316	158
桔汁饮料(港)	150	0.466	0.267	152.5	102	365	243
维尔康	100	0.349	0.204	101.5	101	267	267
可口可乐	200	0.532 3	0.290	190	95	415	208
菜花	122.5	0.347	0.093	124.94	102	—	—
青椒	200	0.451	0.076	193.6	96.8	—	—

参 考 文 献

- 1 聂洪勇,黄伟坤,唐英章等. 维生素及其分析方法. 上海:上海科技文献出版社,1987,244~246
- 2 刘洪范. 化学实验基础. 济南:山东科学技术出版社,1981,636

- 3 Fung, Y S, Luk, S F. Determination of ascorbic acid in soft drinks and fruit juices, Part I. *J Analyst*, 1985;110~201
- 4 Fung, Y S, Luk, S F. Determination of ascorbic acid in soft drinks and fruit juices. Part II. *Analyst*, 1985;110~1439
- 5 Lau O W, Luk S F, Wong K S. Background correction method for the determination of ascorbic acid in soft drinks, fruit juices and cordials using direct ultraviolet spectrophotometry. *Analyst*, 1986, **111**:665~660
- 6 Tono T, Fujita S. Determination of ascorbic acid in food by the spectrophotometric method based on difference spectro. *Agri Biol Chem*, 1981,45(12):2 947~2 929
- 7 Tono T, Fujita S. Spectrophotometric determination based on difference spectra of L-ascorbic acid in plant and animal foods. *Agri Biol Chem*, 1982,46(12):2 953~2 959

www.cnki.net