

还原型抗坏血酸的快速灵敏测定法

胡开锋 王小娟 俞 洁 黑龙江省食品卫生监督检验所 (150036)
李洪海 王秋实

抗坏血酸的检验方法国内外已有很多介绍。^{〔1、3〕}本文叙述一种简易、快速及应用性广泛的抗坏血酸的分光光度测定法。其原理为抗坏血酸与 Fe^{3+} —1,10—邻菲络啉混合液反应, Fe^{3+} 被抗坏血酸还原成 Fe^{2+} , 生成 Fe^{2+} —110—邻菲络啉的有色络合物, 经测其吸光度值求算抗坏血酸的含量。^{〔2〕}经反复多次的实验确定, 本方法操作简便省时, 不需要特殊试剂、仪器, 其最小检出限为 $0.31 \mu\text{g/g}$, 样品添加回收率为 95.82%, 回收率范围 93.0—101.2%, 抗坏血酸的含量在 2—120 $\mu\text{g/g}$ 内均呈良好的线性关系, 相关系数大于 0.9999, 对抗坏血酸的测定变异系数小于 2%, 本方法的应用范围较广泛, 我们使用本法对果酒、强化食品、饮料类及 Vc 复合制剂中的抗坏血酸进行了测定, 并且对照 2,6—二氯酚靛酸法, 结果令人满意。

1 材料与方法

1.1 仪器

722 型分光光度计, 附 1cm 比色杯。

1.2 试剂

本实验所用水均为 Millipore 超纯水装置生产的无离子水。

显色剂的配制 将 0.2g 1,10—邻菲络啉与 2ml 1 mol/l HCl 和 0.16g 硫酸铁铵及少量水混合, 溶解后, 定容至 100ml, 置冰箱保存。

抗坏血酸标准溶液 精确称取抗坏血酸 20.0mg, 以 10ml 0.1 mol/l 的盐酸溶解, 以

无离子水稀释至 1000ml, 此标准溶液为 20 $\mu\text{g/ml}$, 置冰箱中保存。

白陶土 选择脱色力强、不吸收抗坏血酸的白陶土。每批新购的白陶土都测其回收率。

1.3 操作方法

1.3.1 液体样品

取样 2—5ml, 若样液有色, 可用白陶土脱色 (Vc 含量过高的可稀释), 移入 25ml 比色管, 加入显色液 1ml, 混匀, 静止 1min, 以无离子水稀释至刻度, 于 510nm 处比色测定其吸光度值, 于标准曲线上查得抗坏血酸的值, 计算样品的抗坏血酸含量。

1.3.2 固体样品

取适量切碎的样品于捣碎机中, 加入等量的无离子水, 打匀成浆。

准确称取 20.0g 捣碎的样品于小烧杯中, 以无离子水洗入 100ml 具塞量筒中, 稀释至刻度, 摇匀。

取上清液过滤 (不易过滤的样品可离心) 若样液有色, 可用白陶土脱色, 取滤液 2—10ml, 移入 25ml 比色管, 加显色液 1ml, 混匀, 静止 1min, 稀释至刻度, 于 510nm 处测其吸光度值, 在标准曲线上查得抗坏血酸的值, 求算抗坏血酸的含量。

1.3.3 标准曲线的制备 取抗坏血酸标准溶液 0.0, 5.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0ml 于 25ml 比色管中, 各加入显色液 1ml, 摇匀, 静止 1min, 以无离子水稀释至刻度, 以 1cm 比色杯, 于 510nm 处测定吸光度值, 以吸光度值

为纵坐标,以抗坏血酸的值为横坐标,绘制标准曲线。线性回归方程 $A=0.00484m+0.00051$,相关系数为 0.9999。A 为抗坏血酸标准溶液的吸光度值。m 是抗坏血酸标准的值。

1.3.4 计算

样品中抗坏血酸的含量 (mg/Kg)=

$$\frac{M \times 1000}{W \times 1000}$$

式中: M—样品管相当于标准的微克数。

W—用于测定的样液内所含样品的克数。

2 结果与讨论

2.1 显色的最佳 pH 值范围

通过实验,确定显色的最佳 pH 值范围为 2~6 之间,由于显色剂的酸度在此范围之内。所以本法在测定过程中无需调节 pH 值。 Fe^{2+} —邻菲络啶络合物至少在 12 小时内稳定。显色剂可在 1 个月内保持稳定,结果见表 1。

表 1 显色的 pH 值范围

pH 值	Vc 的实含量 (mg/Kg)	测得量 (mg/Kg)	结果讨论
<1	40.0	31.2	pH 值过低,可能是由于 Vc 氧化不完全
2.0	40.0	38.9	在此 pH 值下,测得量与实际量相符
4.0	40.0	39.1	在此 pH 值下,测得量与实际量相符
6.0	40.0	38.2	在此 pH 值下,测得量与实际量相符
>7	40.0	28.4	pH 值较高,可能是由于 Vc 被空气氧化

2.2 方法的准确度 取黑加仑果汁、胡萝卜素酱等五份样品分别加入不同量的抗坏血酸标准溶液,依本方法测,结果见表 2。

2.3 方法精密度

取市售的赛加力、黑加仑白兰地、Vc

银翘片等各一份,依本法测定,测定次数均为 5 次,抗坏血酸的测定变异系数为 1.60~2.59%,结果见表 3。

表 2 回收率实验结果

样品名称	原含量 (mg/Kg)	加入量 (mg/Kg)	测得量 (mg/Kg)	回收率 (%)
黑加仑白兰地	16.99	4.5	20.37	94.8
胡萝卜素酱	37.44	9.0	43.44	93.5
五加白	35.07	18.0	51.29	96.6
赛加力	48.90	36.0	85.94	101.2
黑加仑果汁	97.13	72.0	157.25	93.0
平均回收率:	95.82%	回收率范围:	93.0—101.2%	

表 3 精密度实验结果

样品名称	测定次数	平均值 (mg/Kg)	标准偏差	变异系数 (%)
赛加力	5	48.996	0.7834	1.60
胡萝卜素酱	5	37.615	0.9742	2.59
黑加仑果汁	5	96.892	1.6297	1.68
黑加仑白兰地	5	16.806	0.3349	1.99
Vc 银翘片	5	29.95g/Kg	0.7697	2.57

2.4 共存物质的干扰实验

表 4 共存物干扰实验结果

添加物名称	加入量	Vc 原含量 (mg/Kg)	Vc 测得量 (mg/Kg)
V_A 、 V_{B1} V_{B2} 、 V_{B6} 烟酸、烟酰胺	40mg/Kg	40.0	38.94
淀粉、葡萄糖、果糖 蔗糖、麦芽糖、糖精钠	0.2g/Kg	40.0	41.22
柠檬酸、酒石酸、 苯甲酸、蛋氨酸、 赖氨酸、谷氨酸	0.1g/Kg	40.0	39.74
Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+}	10mg/Kg	40.0	42.06

食品中可能与抗坏血酸共存的有 V_A 、 V_{B1} 、 V_{B2} 、烟酸、淀粉、各种糖类及甜味剂、防腐剂。还可能共存柠檬酸、酒石酸、各种氨基酸和多种金属离子(部分具有还原性)。在部分 Vc 的复合制剂中可能共存的

有烟酸、烟酰胺、 V_{B1} 、 V_{B2} 、 V_A 、 V_{B6} 等,我们在抗坏血酸的标准溶液中加入一定量的表中所列添加物,依本方法测定。大部分的添加物对本方法无干扰,部分添加物对本方法有微小影响,但产生的吸光度值信号小于允许误差。测定结果见表4。

2.5 本方法与2,6-二氯酚靛酚法的对照实验

为了验证本方法,我们以胡萝卜素酱、黑加仑白兰地、五加白等几种样品,分别按本方法和2,6-二氯酚靛酚法进行了测定,结果见表5。

表5 本法与2,6-二氯酚靛酚法对照

样品名称	测定结果 (mg/Kg)	
	本方法	2,6-二氯酚靛酚法
黑加仑白兰地	16.58	16.07
赛加力	48.75	49.23
黑加仑果汁	97.47	97.51
五加白	34.88	33.94
胡萝卜素酱	37.69	37.55

参 考 文 献

- 1 赵传孝,等·食品检验技术手册·第一版·北京:中国食品出版社,1990
- 2 Talanta,等·分析化学译文·第一版·重庆:科学技术文献出版社重庆分社,1990
- 3 D.R. 沃斯博尔内,等·食品中营养素的分析·第一版·北京:轻工业出版社,1987
- 4 王厚德·动物衰老指标的测定 第一届全国抗衰老药物实验方法学习班讲义·天津:天津医学院,1986:72—95
- 5 钱信忠,等·中国老年学·第一版·郑州:河南科技出版社,1989:250
- 6 王赞舜,等·红细胞内超氧化物歧化酶含量与衰老关系的初步探讨·中华老年医学杂志 1985;4(4):193
- 7 田清涑,等·谷胱甘肽过氧化物酶和动物衰老关系研究·老年学杂志 1992;12(1):50
- 8 白家祥,等·老年与抗衰老医学·第一版·北京:学苑出版社,1989:5—57
- 9 田清涑,等·羟脯氨酸和动物衰老相关性研究·老年学杂志 1991;11(3):169
- 10 陈清,等·微量元素与健康·第一版·北京:北京大学出版社,1989:60—62
- 11 Petit TL. Aluminum in Human Dementia. Am J Kidney 1987; 6(5): 313
- 12 丁克祥·抗衰老药物对超氧化物歧化酶的作用·老年学杂志 1990;10(2):112
- 13 马永兴,等·红细胞内超氧化物歧化酶含量与长寿及衰老关系的进一步探讨·老年学杂志 1990;10(1):22
- 14 徐格晨,等·铝的毒性研究(I) 铝对兔的亚慢性毒作用·中国食品卫生杂志 1993;5(3):1

(上接第4页)