

光度法测定药品和食物中的微量 VC

刘宇奇¹, 杨睿¹, 杨泳²

(1. 昆明理工大学 理学院, 云南 昆明 650093; 2. 昆明医学院 药理教研室, 云南 昆明 650031)

摘要: 采用一种简单、快速的方法测定 VC, 该方法基于在室温下, 抗坏血酸能快速地将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , Fe^{2+} 与 2, 2'-联吡啶反应生成红色配合物, 配合物的最大吸收峰位于 520 nm 波长处, VC 的质量浓度在 0.088 ~ 7.0 mg/L 范围内符合比尔定律, 该方法用于食品和药片中 VC 含量的测定, 结果的相对标准偏差小于 1.5%, 回收率在 96.3% ~ 105.0% 之间。

关键词: 分光光度法; 联吡啶; 维生素 C; 含量测定

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007 - 855X(2008)02 - 0112 - 04

Determination of Vitamin C in Foods and Medical Tablet by Spectrophotometry

LIU Yu-qi¹, YANG Rui¹, YANG Yong²

(1. Faculty of Science, Kunming University of Science and Engineering, Kunming 650093, China;

2. Department of Pharmacology, Kunming University of Medical Science, Kunming 650031, China)

Abstract: A simple and fast method is used for the determination of VC in this paper. This method is based on the fact that under room temperature, ascorbic acid reduces $Fe(III)$ to $Fe(II)$ quickly and the latter reacts with bipyridine (2, 2'-bipy) to form a reddish colored complex with its absorption maximum at the wavelength of 520 nm. Beer's law is obeyed in the concentration range of 0.088 - 7.0 mg of VC per 1000mL of solution. The proposed method is then applied to the determination of foods and medical tablet. RSD's ($n=6$) is less than 1.5% with recoveries in the range of 96.3% - 105.0%.

Key words: spectrophotometry; vitamin C; bipyridine; content determination

0 前言

VC 具有抗坏血病的效应, 所以又称抗坏血酸 (Ascorbic acid). 它是人体不可缺少的一种重要营养物质, 常存在于新鲜的蔬菜和水果中. 由于抗坏血酸参与体内一系列代谢和反应, 能促进胶原蛋白和粘多糖的合成, 增加微血管的致密性, 降低其通透性及脆性, 增加机体抵抗力. 缺乏时, 引起造血机能障碍、贫血、微血管壁通透性增加, 脆性增强和血管容易破裂出血, 严重时肌肉、内脏出血死亡, 这些症状在临床上通常称为坏血病. 因此抗坏血酸不仅是人体所必须的由外界提供的营养物质, 同时也是维持正常生命过程所必需的一类有机物. 人正常每天最低需要量为 75mg, 长期缺乏抗坏血酸会导致某种营养不良症状及相应的疾病, 所以, VC 对维持人体健康十分重要. 对部分食品中的营养成分——抗坏血酸的含量做一些测定, 为指导人们合理膳食, 正确补充营养素有一定意义.

目前测定抗坏血酸的方法有 2, 6-二氯酚滴定法、2, 4-二硝基苯胍分光光度法^[1]、荧光分光光度法、近红外分光光度法^[2]、电位滴定法^[3-4]、钼蓝比色法^[5]、褪色光度法^[6]、高效液相色谱法^[7]等. 不同方法各有其长处, 但也有一定的局限性. 如 2, 6-二氯酚滴定法及 2, 4-二硝基苯胍光度法操作复杂, 测试条件较为严格. 2, 4-二硝基苯胍光度法完成一次样品分析需数小时, 不能快速测定^[8]. 利用 VC 分子中的烯

收稿日期: 2007 - 07 - 04. 基金项目: 昆明理工大学科研启动基金资助项目 (项目编号: 校青 2006 - 18).

第一作者简介: 刘宇奇 (1975 -), 女, 硕士, 讲师. 主要研究方向: 分析化学及配位化学. E-mail: liuyq7547@163.com

二醇基将 Fe^{3+} 定量还原成 Fe^{2+} 与 2,2'-联吡啶 (2,2'-bipyridine) 进行显色反应. 并利用 2,2'-bipy- Fe^{2+} -VC 显色体系在本文研究的最佳测定条件下用分光光度法间接测定 VC 的含量, 由于剩余 Fe^{3+} 的也能与 2,2'-联吡啶显色, 可用 NaF 将其掩蔽. 此法简便、快速, 结果令人满意, 为食品和药片中 VC 含量的测定提供了方法.

1 试验部分

1.1 主要仪器和试剂

722 型光栅分光光度计 (山东高密分析仪器厂); 电子分析天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); 六孔数显水浴锅 (金坛市环保仪器厂); 捣碎机.

0.000 125 0 mol/L 维生素 C 标准溶液: 准确称取维生素 C (分析纯) 0.011 01 g, 加入适量 pH 3 三氯乙酸溶液溶解, 定量转移到 500 mL 的棕色容量瓶中, 用 pH 3 三氯乙酸溶液稀释至刻度, 暗处放置.

Fe^{3+} 标准溶液: 0.001 mol/L, 称取硫酸铁铵 0.24 g, 用 1 mol/L 的硫酸溶解, 用水稀释到 500 mL.

2,2'-联吡啶: 0.004 mol/L, 称取固体物质用少量的无水乙醇溶解, 并用水稀释到 250 mL.

1 mol/L 的 NaF 标准溶液.

1.2 试验方法

用移液管移取 10 mL Fe^{3+} 标准溶液和一定量的 VC 标准溶液于 50 mL 比色管中. 加入 10 mL pH 3 三氯乙酸溶液, 然后加入一定量的 2,2'-联吡啶溶液和 1 mol/L NaF 溶液 1.00 mL, 用水稀释至 50 mL, 摇匀. 室温条件下静置 10 min 后置 1 cm 比色皿中, 在分光光度计上以试剂空白为参比, 于 520 nm 波长处测定其吸光度.

2 结果与讨论

2.1 测量波长的选择

按试验方法以试剂为空白, 将显色后的溶液在 400 ~ 600 nm 区内绘制吸收曲线, 如图 1 所示. 结果表明最大吸收波长为 520 nm, 实验选用 520 nm 为测定波长.

2.2 显色剂加入量

试验结果表明, 0.004 mol/L 2,2'-联吡啶用量在 8.0 ~ 10.0 mL 范围内, 吸光度达到最大且稳定. 本法用量为 9 mL.

2.3 反应时间与温度的影响

分别考察了反应时间与反应温度对体系吸光度的影响, 结果表明, 室温时定容 5 ~ 10 min 之内即可显色完全, 且显色在 100 min 内相当稳定. 本文选择在室温下反应 10 min.

2.4 离子对试剂的选择

当 CTMAB 加入 5 mL 时对 2,2'-bipy- Fe^{2+} -VC 形成络合物的吸光度和吸收波长无显著影响, 而加入三乙醇胺则可使显色体系的吸光度增大.

2.5 掩蔽剂及用量选择

在试验中发现, 被抗坏血酸还原后剩余的 Fe^{3+} 也可以与 2,2'-联吡啶生成有色配合物, 并在光还原作用下还原为 Fe^{2+} 与 2,2'-联吡啶的配合物, 因此需要用掩蔽剂来掩蔽剩余的 Fe^{3+} , 本实验选用 1 mol/L NaF 溶液作为掩蔽剂, 进一步研究表明, 0.25 mL 以上的 1 mol/L NaF 溶液即能达到掩蔽作用. 故本文选用 1 mL 的 1 mol/L NaF 溶液作为掩蔽剂.

2.6 标准曲线制备

按试验方法对标准系列进行显色测定, 结果表明: VC 质量浓度在 0.088 ~ 7.0 mg/L 范围内符合比尔

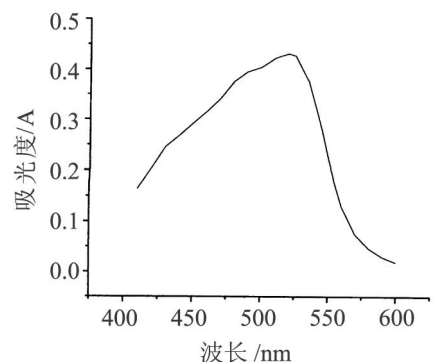


图1 吸收曲线

Fig.1 Absorption spectra

定律;回归方程为: $A = 0.00325 + 23149.45503C$ (mol/L), 相关系数为 0.99991; 表观摩尔吸光系数 = $2.40 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

2.7 干扰离子的影响

当相对误差控制在 $\pm 5\%$ 以内, 对 1.0 mg/L 的抗坏血酸进行测定时, 下列倍数的物质不干扰: Na^+ , Cl^- , K^+ , NO_3^- , Zn^{2+} (1000倍), Mg^{2+} , SO_4^{2-} , Al^{3+} (500倍), I (100倍), Vitamin B₁, Vitamin E (100倍), 常见离子中 Ca^{2+} (1000倍), Ba^{2+} 对抗坏血酸的测定产生干扰, 但在样品中 Ba^{2+} 与 Ca^{2+} 的含量一般比较低. 通常不需要分离处理, 可以直接测定. 1 mL 的 1 mol/L NaF 可掩蔽 Fe^{3+} , 体系选择性较好.

2.8 样品分析

样品制备和测定分析

1) VC 药片. 分别将市售 VC 白片和 VC 黄片各一瓶倒入玻璃研钵中研细, 充分混匀后, 准确称取 VC 白片 0.019841 g 和黄片 0.01386 g 置于 2 个 100 mL 的容量瓶中, 用 pH 3 三氯乙酸溶液浸取并定容. 充分摇动使其粉末分散约 1~2 min 后, 立即用干燥滤纸过滤, 弃去初滤液, 精密移取过滤液 1.50 mL 于 50 mL 比色管中定容, 按试验方法进行测定, 结果如表 1.

2) 食物样品. 称取去皮猕猴桃 30.8539 g 和黄瓜 25.4258 g 浸在一定量的 pH 3 三氯乙酸溶液中, 用捣碎机捣碎混匀并过滤. 取过滤后的猕猴桃果汁置于 500 mL 的容量瓶中, 黄瓜过滤液置于 100 mL 的容量瓶中, 并用 pH 3 三氯乙酸溶液稀释至刻度. 充分摇动 1~2 min, 立即用干燥滤纸滤去初滤液, 精密分别移取猕猴桃过滤液 1.00 mL 和黄瓜过滤液 5.00 mL 于 50 mL 比色管中定容, 按试验方法进行测定, 结果如表 2.

3) 饮料. 移取鲜橙多 10.00 mL 在一定的 pH 3 三氯乙酸溶液中, 置于

100 mL 的容量瓶中, 并用 pH 3 三氯乙酸溶液稀释至刻度. 充分摇动 1~2 min, 精密移取过滤液 2.50 mL 于 50 mL 比色管中定容, 按试验方法进行测定, 结果如表 2.

3 结语

1) 从表 2 中看出, 水果中猕猴桃的维生素 C 含量较为丰富, 在日常生活中应多食用这类水果, 补充身体所需营养素.

2) 从表 1 和表 2 中方法的精密度、回收率以及标准曲线的线性关系来看, 用分光光度法测定抗坏血酸是可行的. 但是由于抗坏血酸本身性质不稳定, 容易降解, 因此在进行样品处理时应注意尽快将样品捣碎浸取在缓冲溶液中.

3) 水果中含有的铁都是以有机物形式存在的, 不与 2,2'-联吡啶直接络合, 则不影响测定结果. 水果中的 VC 在空气中极易被氧化, 样品处理时必须用保护剂防止 VC 被氧化. 保护剂不能用草酸, 因草酸具有还原性, 本法用三氯乙酸缓冲溶液作保护剂.

参考文献:

- [1] 闫树刚, 韩涛. 果蔬及其制品中维生素 C 测定方法评价 [J]. 农学通报, 2002, 18(4): 110 - 112

表 1 药片中维生素 C 含量测定结果 (n=6)

Tab 1 The determination results of content of vitamin C in medical tablet (n=6)

样品	本法测定值 g/100 g	加入量 / μg	回收率 /%	RSD /%
VC 白片	68.02	90	102.8	0.701
VC 黄片	57.89	89	103.7	0.325

表 2 食物中维生素 C 含量测定结果 (n=6)

Tab 2 The determination results of content of vitamin C in foods (n=6)

样品	本法测定值	加入量 / μg	回收率 /%	RSD /%
猕猴桃	0.238 g/100g	0.200	98.2	0.541
黄瓜	10.03 mg/100g	0.200	104.9	1.41
鲜橙多	58.50 mg/100mL	0.200	96.3	1.08

- [2] 杨婷, 逯家辉, 张大海, 等. 菲林 B 近红外分光光度法测定维生素 C[J]. 分析化学, 2005, 33(11): 1593 - 1595.
- [3] 陈秋丽, 甘振威, 张娅捷, 等. 电位滴定法测定深色蔬菜和水果中的维生素 C[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2004, 30(5): 821 - 822.
- [4] 陈志慧. 荔枝保鲜过程中维生素 C 的快速电位滴定[J]. 理化检验(化学分册), 2006, 42(8): 664 - 665.
- [5] 李军. 钼蓝比色法测定还原型维生素 C[J]. 食品科学, 2000, 21(8): 42 - 45.
- [6] 孙德坤, 许月明, 吴定. 褪色光度法测定果蔬中 VC 的含量 C[J]. 食品工业科技: 2003, 24(5): 93 - 95.
- [7] 胡志群, 王惠聪, 胡桂兵. 高效液相色谱测定荔枝果肉中的糖、酸和维生素 C[J]. 果树学报, 2005, 22(5): 582.
- [8] 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.

(上接第 103 页)

该综合方程的 R^2 更接近 1; F 值临界值为 6.42, 而该方程的 F 值为 30.59; P 值减小, 表明该回归方程具有更好的统计意义. 方程说明 $E(H-L)$, $Q(C_5)$ 和 EL 对药物的活性有较大的影响. 活性参数 (pIC_{50}) 的值越大, 药物作用在受体上的活性越好. 从方程可以看出 $E(H-L)$ 越小, $Q(C_5)$ 更正 (即负电荷越少) 药物的活性更强. 因此可以看出 $E(H-L)$ 和 $Q(C_5)$ 可能是决定药物活性的主要因数. E_L^2 对药物活性也有一定影响, 但系数较小, 影响也较小.

3 结论

通过对灯盏花苷及其衍生物前线分子轨道的分析和构效关系的计算, 计算结果定量的表明, 当灯盏花苷及其衍生物作用于受体的时候, $E(H-L)$ 和 $Q(C_5)$ 是决定药物活性的主要因数. 文中所得到的表示 pIC_{50} 与量子化学参数间关系的相关方程式, 为类似衍生物的生物活性的预测提供了一个简单可行的方法.

参考文献:

- [1] Zhang WD, Chen WS, Kong DY, et al. Two new Glycoside from Erigeron Brevicapus[J]. J Chin Pharm Sci, 2000, 9(3): 122 - 124.
- [2] Zhou Y, Zhang WD, Gu ZB, et al. Study on Synthesis of erigeside[J]. Chin Medi Chem. 2002, 46(2): 68 - 72.
- [3] 周耘. 灯盏花苷及其衍生物的合成与初步生物活性研究[D]. 上海: 第二军医大学药物化学专业, 2002, 7 - 19.