

新鲜果蔬维生素C测定方法研究^①

林桂荣 郭泳 付亚文 杨铨珍

(沈阳农业大学园艺系)

维生素C(Vc)广泛存在于新鲜水果和蔬菜中。它具有保持肌肤滑润、防止衰老、抗坏血病等作用,是人体必需的维生素之一。Vc含量在果蔬品种间差异较大,在贮藏加工过程中极易损失,因此常作为鉴定果蔬产品品质和耐贮性的一个重要指标。在果蔬种质资源研究、品质育种和贮藏加工过程中经常需要测定Vc含量。Vc测定目前已提出了高效液相色谱法、荧光法、2,4-二硝基苯肼比色法、钼蓝比色法、紫外分光光度法、碘滴定法、2,6-二氯靛酚法等多种。其中高效液相色谱法、荧光法要求样品的纯度较高,需要有昂贵的仪器,目前尚无法普遍采用;2,4-二硝基苯肼比色法操作麻烦,耗时较长。根据现有实验条件,我们采用钼蓝比色法、紫外分光光度法、碘滴定法、2,6-二氯靛酚法四种常规分析方法测定了不同果蔬样品的Vc含量,探讨了不同测定方法的稳定性和可靠性,分析了每种方法的特点及适用范围,研究了样品色素含量、含酸量和Vc含量高低对分析结果的影响,提出了不同果蔬样品在Vc测定时应采用的适宜方法。

测试方法

- (一)钼蓝比色法;
- (二)紫外分光光度法;
- (三)碘滴定法;
- (四)2,6-二氯靛酚法。

结果与讨论

(一)新鲜果蔬Vc测定特点

天然Vc有还原型和脱氢型两种,新鲜水果蔬菜中以还原型为主。还原型Vc分子结构中具有烯醇结构,含有两个能解离出氢离子的烯醇式羟基($\text{COH}=\text{COH}$),化学性质不稳定,在水中可氧化形成脱氢Vc。Vc氧化的速度与PH值、氧浓度及温度条件有关,且易受铜铁等金属离子催化。为防止Vc氧化,取样后应尽快测定,也可先将样品研磨后浸提在定量的2%草酸或2%盐酸中低温保存待测。要尽量缩短测定液暴露在空气中的时间,防止氧化,并避免与铜铁等金属器皿接触。无论采用哪种方法,标准Vc溶液都应现用现配。

(二)不同测定方法的特点

钼蓝比色法是在有硫酸盐和磷酸根存在的条件下,钼酸铵与Vc反应生成蓝色络合物,并在一定浓度范围内服从比尔定律。反应产物在波长760nm处有吸收峰,样品比色后可通过标准曲线计算出Vc含量。钼蓝比色法操作简便,不易受样品提取液颜色的影响,无论是花青素含量高的山楂、草莓、黑加仑,还是叶绿素含量高的蔬菜都可以采用。在有偏磷酸存在下,样品中的还原性物质对测定结果也无明显影响,专一性较强,反应迅速,在30℃恒温水浴中放置15分钟即可显色完全,反应产物较稳定。偏磷酸溶液应现用现配,否则显色反应缓慢。

紫外分光光度法是根据Vc具有紫外吸收和对碱不

① 注:贮藏加工专业89届毕业生程若红参加部分工作。

表1 4种测定方法精密度试验

测定方法	样 品	6次平行测定结果						平均值	标准差	变异系数
		(mg/100g)								
钼蓝比色法	山楂	58.87	59.11	58.90	59.02	58.94	58.90	58.96	0.091	0.155
	青椒	101.85	101.56	102.04	102.12	101.85	101.63	101.84	0.220	0.216
紫外分光光度法	树莓	33.24	55.08	92.69	81.77	73.28	121.80	76.31	30.602	40.102
	芹菜	26.38	49.84	18.46	10.59	14.36	12.12	21.96	14.785	67.33
碘滴定法	草莓	48.23	50.15	47.86	50.94	49.77	50.46	49.57	1.250	2.520
	苹果	5.63	5.51	5.39	5.27	5.63	4.96	5.40	0.256	4.748
2,6-D法	韭菜	38.16	38.35	37.94	38.33	38.27	38.08	38.19	0.159	0.417
	香菜	41.26	40.68	41.05	41.29	40.87	40.99	41.02	0.233	0.567
	尖把梨	2.20	2.22	2.22	2.18	2.25	2.17	2.21	0.029	1.334
	李子	3.52	3.61	3.54	3.50	3.57	3.54	3.55	0.038	1.094
	葡萄	4.70	4.72	4.72	4.75	4.69	4.68	4.71	0.025	0.537

稳定的特性,在波长 243nm 处测定酸处理液和碱处理液的消光值,根据二者消光值之差,通过标准曲线计算样品 Vc 含量。紫外测定法操作简便,不受样品提取液颜色的影响,标准 Vc 溶液浓度和消光值相关系数高达 0.999 以上。但采用紫外分光光度法测定果蔬样品时,每次测定的重复间偏差较大,同一样品相同时间的测定结果有时相差几倍,甚至十几倍。特别是测定山楂等含酸量较高的样品经常出现碱处理液的消光值大于酸处理液消光值的反常

表2 不同测定方法的回收率

测定方法	样品名称	Vc 含量 (mg/100g)	Vc 加入量 (mg/100g)	检出量 (mg/100g)	回 收 率	
					X(%)	CV(%)
钼蓝比色法	山 楂	58.94	75.00	132.94	98.67	2.375
紫外分光光度法	树 莓	76.31	75.00	143.55	89.65	85.270
碘滴定法	苹 果	5.40	33.33	38.60	99.60	5.865
2,6-D法	青 椒	101.63	100.00	200.38	98.75	6.272

注:回收率为六次测定的平均值

表3 四种方法测定结果比较

测定方法	钼蓝比色法		紫外分光光度法		碘滴定法		2,6-D法	
样品名称	X	CV(%)	X	CV(%)	X	CV(%)	X	CV(%)
山 楂	58.96	0.155	—	—	57.11	0.294	—	—
苹 果	18.46	2.960	11.88	39.791	5.40	4.751	5.85	3.287
青 椒	101.84	0.216	113.32	42.621	100.67	1.262	101.63	4.678

注:“—”表示采用此法测不出结果,X 为六次测定的平均值。

现象,使测定结果呈负值。这种不稳定可能是受果蔬样品中某些物质干扰的结果,这些物质受酸碱的影响稳定性差,使测定结果出现较大偏差;也可能是碱处理时样品中的酸与碱的中和产物在 243nm 处有吸收值,使碱处理液的消光值提高,导致含酸量高的果蔬样品测定结果出现负值。为此我们曾根据 Vc 的热不稳定性,将加碱处理改为加热处理,分别用加热 10 分钟、20 分钟和 30 分钟的样品作为破坏 Vc 处理,测定结果也不理想。

碘滴定法是以碘酸钾作氧化剂,在一定量的果蔬 Vc 提取液中加入碘化钾淀粉指示剂,用已知浓度的碘酸钾滴定,碘酸钾滴入后释放出的游离碘可氧化 Vc,当 Vc 完全被氧化时,多余的碘可使溶液中的淀粉呈蓝色即为终点。2,6-二氯酚法是以 2,6-二氯酚($C_{12}H_7O_2NCl_2$)作氧化剂,氧化样品液中的 Vc 生成脱

氢 Vc,本身还原成无色的衍生物。2,6-二氯酚在碱性或中性溶液中呈蓝色,酸性溶液中呈桃红色。当溶液中 Vc 完全被氧化后,多余的 2,6-二氯酚由蓝色变成桃红色即为终点。采用碘滴定法和 2,6-二氯酚法测定果蔬样品中的 Vc,操作简便,速度快。但是,大多数果蔬样品都含有花青素、叶绿素或胡萝卜素等色素物质,其 Vc 提取液通常都有颜色,滴定终点不易辨别。即使采用中性白陶土脱色,花青素含量高的山楂、草莓、树莓等样品颜色也不能消除,因此,不适于花青素含量高的果蔬样品 Vc 测定。

(三)四种测定方法的精密度和回收率

表 1 列出了四种不同测定方法对果蔬样品六次重复测定的结果。从中看出,紫外分光光度法在同一样品六次重复间测定结果偏差较大,相差 3.7 倍,变异系数

达 40%以上。其它三种方法测定结果较稳定,重复间差异较小,变异系数都低于 5%。其中钼蓝比色法重复间稳定性最强,变异系数仅为 0.22%。

表 2 列出了四种测定方法回收试验结果。从中看出,钼蓝比色法、碘滴定法、2,6—二氯酚法测定的回收率都较高,达 98%以上,而且六次重复稳定性强,变异系数都在 10%以下。紫外分光光度法回收率较低,测定结果不稳定,以树莓为试材平均回收率只有 89.5%,且重复间回收率差异较大,变异系数高达 85.2%。

(四)四种测定方法的比较

以山楂、苹果和青椒三种有代表性的果蔬样品为试材,进行了四种方法六次重复的比较测定。结果表明(表 3),紫外分光光度法测定山楂时,因样品含酸量高重复间多次出现负值而得不到测定结果。紫外分光光度法测定苹果、青椒样品时,结果较其它方法偏高,且重复间稳定性较差,变异系数达 40%左右,远高于其它方法(5%以下)。所以紫外分光光度法在果蔬样品 Vc 含量分析中不宜采用。2,6—二氯酚法测定山楂和草莓、树莓等花青素含量较高的样品时,因样品提取液颜色的影响,滴定终点不易辨别而无法测出结果。用 2,6—二氯酚法测定苹果、青椒以及梨、葡萄、韭菜、香菜(表 1)等花青素含量较低的样品,测定结果较可靠,且重复间较稳定,变异系数在 5%以下。对叶绿素含量较高的样品(如韭菜、香菜等)只要细心观察,能准确的鉴别滴定终点,得到较好的分析结果(表 1)。钼蓝比色法测定 Vc 含量受样品花青素、叶绿素含量影响较小。测定山楂、草莓、青椒、韭菜等 Vc 含量较高的样品时结果较可靠,重复间稳定性好;但测定苹果、梨、葡萄等 Vc 含量较低的样品时,结果明显高于其它方法(表 3),此结果与李澄平等(1987)报导的钼蓝比色法测定 Vc 含量低于 10mg/ml 样品结果偏高的结论相符。因此,对于 Vc 含量高的果蔬样品采用钼蓝比色法测定为宜。碘滴定法虽然同 2,6—二氯酚法一样易受样品中花青素和叶绿素含量的影响不易鉴别滴定终点,但只要熟练掌握实验技术,细致观察提取液在滴定过程中的颜色变化特点,仍可得到较准确的结果。本试验采用碘滴定法测定山楂、草莓、青椒等有色样品结果可靠,稳定性较好(表 1,表 3);测定苹果、梨等色素含量较低的果蔬样品结果也较稳定可靠,所以碘滴定法是果蔬样品 Vc 含量测定中适用范围较广的方法。(参考文献略,沈阳东陵路 120 号,邮编:110161)

小 资 料

中国十大富裕村

1. 天津市静海县蔡公庄乡大邱庄村;2. 上海市马桥乡中村;3. 浙江省萧山市瓜沥

大棚黄瓜病虫害无公害防治技术

大棚黄瓜农药化防,成本高,污染重。为此,我们连续几年进行无污染防病研究,现已初见成效。主要措施:

一、农业措施。(1)选用抗病品种。目前生产上较抗病的品种有长春密刺、87—1A 和鲁黄瓜 4 号等。(2)培育无病壮苗。精选无病种子,并用温水浸种或干热灭菌法处理。采用营养钵、营养袋或电热线等培育壮苗。(3)采用嫁接技术。用黑籽南瓜嫁接控制病害。(4)加强农业栽培管理措施,提高植株抗逆性。

二、生态防病。早晨 8—9 时通风半小时关闭棚室,使棚温升至 28—32℃,中午再通风,使温度降到 20—25℃,空气湿度降至 70%以下。日落前再通风 2—3 小时,使上半夜湿度控制在 60—70%,温度 15—20℃。下半夜湿度在 85%以上时要将温度控制在 12—13℃。采用高温闷棚,以防治霜霉病及细菌性角斑病。高温灭菌前一天灌一次水,第二天闭棚前先把黄瓜梢头放下,将温度计挂在与黄瓜生长点一样的高度。中午闭棚使棚温升至 45℃保持一个半小时(低于 42℃效果不好,高于 48℃黄瓜会受害)。闭棚期间每 15 分钟观测一次温度,发现黄瓜顶尖小叶受热萎缩,要及时通风。

三、生物防治。试验证明,应用农抗 120 防治黄瓜白粉病效果好。亩用 150 克 BT 乳剂,对水 50 公斤喷雾,可有效地防治菜青虫、小菜蛾、黄守瓜等害虫。

四、物理防治。发病早期用京 2B 或高脂膜一号,稀释 30—60 倍均匀喷黄瓜叶面,5—7 天喷一次,连喷 2—3 次,效果甚好。

五、营养防治。用尿素 50 克,磷酸二氢钾 150 克,白糖或红糖 250 克,加水 50 公斤,配成营养液,每 5 天喷 1 次,连喷 4 次,防效较好。

六、选用高效、低毒、低残留农药。严禁使用有机氯、甲胺磷、1059 等剧毒高残留农药,选用 25%杀虫双、73%克螨特、20%速灭杀丁、50%多菌灵、70%甲基托布津等,并严格控制浓度、次数和用量,遵守安全间隔期。

七、其他辅助措施。采用膜下软管滴灌技术,选用长寿无滴膜,棚内悬挂聚酯镀铝反光幕。(刘卫东)

镇航民村;4. 辽宁省大连市甘井子区辛寨子镇华鑫村;5. 江苏省江阴市华士镇华西村;6. 山东省牟平县宁海镇新年里村;7. 江苏省无锡市郊区杨各乡金星村;8. 广东省小榄镇永宁村;9. 江苏省无锡县前洲镇西塘村;10. 山东省牟平县宁海镇西关村。

北方园艺 (总 101) 9