

徐  
华

## 新鲜果蔬维生素C测定方法

水果和蔬菜是重要的维生素C (Vc) 源, 因此, Vc定量在水果蔬菜营养分析中占据重要位置。Vc是由L-抗坏血酸(还原型, 简称AsA)、D-抗坏血酸(脱氢型, 简称DAsA)及二酮古乐糖酸(DKG)组成。后者无生物活性。AsA + DAsA占新鲜植物体内Vc总量的90%以上。测定Vc含量的方法很多, 一般最常用2,6-二氯酚法(2,6-D法)测定AsA, 用2,4-二硝基苯肼法(肼法)测Vc总量。可把Vc分析方法简单分类如下:

**单纯测定AsA** 1. 容量法: (1) 2,6-D法 (2) 汞测法 (3) 碘量法(用碘酸钾滴定或用硫酸铜滴定)。2. 仪器法: (1) 二甲苯萃取比色法; (2) 光电比浊法; (3) 电位法; (4) 紫外分光光度法。

**测定Vc总量** 1. 仪器法: (1) 肼法; (2) 微量荧光法; (3) 联吡啶法。作为选择Vc定量方法的依据, 对常用的一些方法加以评价, 作为参考。①2,6-D法。此为国家标准。原理: 2,6-D为氧化还原指示剂和酸碱指示剂。还原型为无色, 氧化型在碱性和中性条件下为深蓝色, 在酸性条件下呈浅红色。在抑制酶活性的酸性介质中提取AsA, 并用碱性2,6-D滴定, 到达滴定终点时, 多余的2,6-D呈现浅红色。由2,6-D耗量计算AsA含量。本法适于分析无色和浅色样液中的AsA。不用仪器, 操作简便、快速、准确和精密度均够用。但样品中含 $\text{Fe}^{++}$ 、 $\text{Sn}^{++}$ 、 $\text{Ca}^{++}$ 、 $\text{SO}_2$ 、 $\text{SO}_3^{--}$ 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{--}$ 等还原性杂质则有干扰。②汞测法。虽然需离心机和配制10种试剂, 分析时间较长, 但可以测定含花青素多的深色样品。③碘量法是基于AsA还原碘, 自身氧化成DAsA, 而碘可由碘酸钾还原或硫酸铜还原碘化钾来取得, 当多余碘存在时, 淀粉呈蓝色, 指示终点。该法简便, 测定深色样品准确度欠佳。④二甲苯萃取比色法。该法为国家标准的附录件。原理: 向一定量的AsA提取液中加入过量2,6-D, 与AsA作用后, 剩余的2,6-D被二甲苯萃取、比色。样液中AsA含量与二甲苯萃取液中浅红色呈线性负相关。因花青素不溶于二甲苯, 故可测定深色样品。⑤光电比浊法。原理: 酸性提取液中的AsA被亚硒酸氧化成DAsA, 后者还原成元素硒, 在一定条件下, 其溶液中形成稳定的悬浊液。当AsA含量在

0.4~4mg/25~50ml时, 浊度与AsA含量成正比。样品中含有单宁、山梨酸、还原酮类不干扰测定。 $\text{Fe}^{++}$ 、 $\text{SO}_2$ 在常温下干扰不明显, 仅亚锡离子有干扰。⑥肼法: 此为测Vc总量最常用的方法。原理: 用活性炭把AsA氧化成DAsA, 在PH5以上时, 后者分子重排, 其内脂环裂开生成2,3-二酮古乐糖酸(DKG), 并与2,4-二硝基苯肼偶联, 生成红色的脎, 其呈色强度与DKG浓度成正比, 以此测定Vc总量。如果再测定出DKG、DKG + DAsA的含量, 则可计算出AsA、DAsA的含量。该法虽然测试过程长、须严格掌握测试条件, 但确为国际通用方法, 准确度和精密度均很高。⑦荧光法。原理: AsA被氧化成DAsA, 并与邻苯二胺反应, 生成荧光物质喹噁啉衍生物, 用荧光计测定荧光强度。该法与肼法不同: 与DKG几乎不起反应。如有丙酮酸干扰, 可加入硼酸消除。优点是, 生成荧光物质所需时间短, 操作简单, 能在短时间内测定Vc总量和分开测定AsA、DAsA的含量。定量灵敏度与肼法基本相同。AsA氧化剂可选用活性碳、碘、N-溴丁二酰亚胺及2,6-D。

目前一般实验室, 多数情况下是采用国标法(2,6-D法及二甲苯法)测定还原型Vc。