

水果中维生素 C 的测定



- 定义：

- 显示抗坏血酸生物活性的化合物的通称，是一种水溶性维生素，水果和蔬菜中含量丰富。在氧化还原代谢反应中起调节作用，缺乏它可引起坏血病。

- 其他名称：

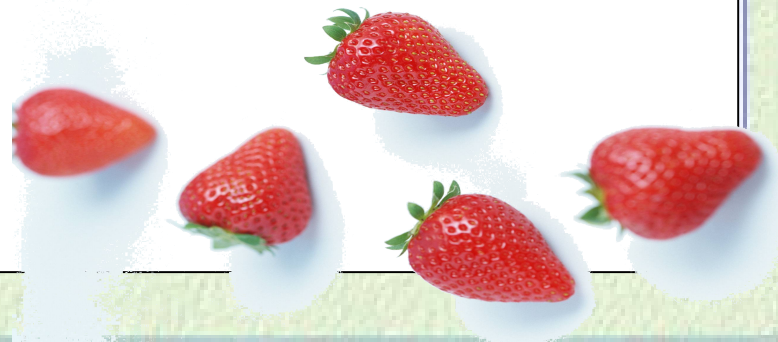
- 抗坏血酸 (ascorbic acid)

实验目的

- 理解 2,4-二硝基苯肼比色法测定抗坏血酸总量的基本原理。
- 学习其操作方法和了解影响测定准确性的因素。
- 掌握分光光度计的使用

(1) 实验原理

- 食物中的 VC 总含量包括还原型 VC 、 脱氢型 VC 和二酮古乐糖酸，样品中还原型 VC 经活性炭氧化为脱氢 VC。
- 脱氢 VC、二酮古乐糖酸均能与 2,4-二硝基苯肼作用生成红色脎，其呈色强度与总抗坏血酸含量呈正比，可进行比色定量。



食品中维生素的测定

操作步骤

① 样品的制备：

鲜样的制备：称 100g 鲜样和 100g 2%草酸溶液，倒入捣碎机中打成匀浆，取 30g 匀浆（含 1 ~ 2mg 抗坏血酸）倒入 100ml 容量瓶中，用 1%草酸溶液稀释至刻度，混匀。

将上述滤液过滤，滤液备用。

② 氧化处理：取 25ml 上述滤液，加入 2g 活性炭，振摇 1min，过滤，弃去最初数毫升滤液。取 10ml 此氧化提取液，加入 10ml 2%硫脲溶液，混匀。

食品中维生素的测定

③ **呈色反应**：于三个试管中各加入 4ml 经氧化的试样稀释液。一个试管作为空白，在其余试管中加入 1.0ml 2% 2, 4 - 二硝基苯肼溶液，将所有试管放入 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 恒温箱或水浴中，保温 1h。

1h 后取出，除空白管外，将所有试管放入冰水中。空白管取出后使其冷到室温，然后空白管加入 1.0ml 2% 2, 4 - 二硝基苯肼溶液，在室温中放置 10min 后放入冰水内。其余步骤同样品。

④ **85% 硫酸处理 (9+1)**：当试管放入冰水后，向每一试管中加入 5ml 85% 硫酸，滴加时间至少需要 1min，需边加边摇动试管。将试管自冰水中取出，在室温放置 30min 后比色。

⑤ **比色**：用 1cm 比色皿，以空白液调零点，于 500nm 波长 测 A。

食品中维生素的测定

⑥ 标准曲线绘制：

- a、加 2g 活性炭于 50ml 标准溶液中，摇动 1 min，过滤。
- b、取 10ml 滤液放入 500ml 容量瓶中，加 5.0g 硫脲，用 1% 草酸溶液稀释至刻度，抗坏血酸浓度 $20\mu\text{g/ml}$ 。
- c、取 5ml，10ml，20ml，25ml，40ml，50ml，60ml 稀释液，分别放入 7 个 100ml 容量瓶中，用 1% 硫脲溶液稀释至刻度，使最后稀释液中抗坏血酸的浓度分别为 1，2，4，5，8，10， $12\mu\text{g/ml}$ 。
- d、按样品测定步骤（步骤③ 划线部分开始）形成脲并比色。
- e、以吸光值为纵坐标，以抗坏血酸浓度（ $\mu\text{g/ml}$ ）为横坐标绘制标准曲线。

食品中维生素的测定

结果计算

$$X = \frac{cV}{m} \times F \times \frac{100}{1000}$$

式中：X——样品中总抗坏血酸含量，mg/100g；

c——由标准曲线查得或由回归议程算得“样品氧化液”中总抗坏血酸的浓度，μg/mL；

V——试样用1%草酸溶液定容的体积，mL；

F——样品氧化处理过程中的稀释倍数；

m——试样质量，g。m≈30/2g

结果的允许差：同一实验室平行或重复测定 相对偏差绝对值≤10%。

食品中维生素的测定

- 注释:

注1.硫脲可防止 Vc 被氧化, 且可帮助脘的形成, 最终溶液中硫脲的浓度应一致, 否则影响色度。

注2.加入 **85% 硫酸** 溶液后试管从冰水中取出, 溶液颜色会继续变深, 所以加入 **85% 硫酸** 后 30min 内比色。

注意事项:

- 1 大多数植物组织内含有一种能破坏抗坏血酸的氧化酶，因此，抗坏血酸的测定应采用新鲜样品并尽快用 2% 草酸溶液制成匀浆以保存维生素 C。
- 2 若溶液中含有糖，硫酸加得太快，溶解热会使溶液变黑。