

# 昭通特色水果中维生素 C 的提取工艺及含量测定

李启彭<sup>1</sup>, 申 昆<sup>1,2</sup>, 罗家刚<sup>1</sup>, 师 睿<sup>1</sup>, 沈燕琼<sup>3\*</sup>

(1. 昭通学院化学与生命科学学院, 昭通 657000; 2. 赫章县六曲河镇初级中学, 毕节 553299;  
3. 昭通市农产品质量安全中心, 昭通 657000)

**摘要:** **目的** 优化提取昭通特色水果中的维生素 C, 并测定其含量。 **方法** 设计单因素实验优化提取昭通特色水果中的维生素 C, 并采用 2,4-二硝基苯肼法和紫外分光光度法测定其含量。 **结果** 最佳提取条件为: 温度 37 °C, 恒温水浴 3 h 和活性炭用量 1.0 g。以抗坏血酸为标准溶液在 497 nm 处测定昭通产山楂、梨、苹果和葡萄中维生素 C 含量分别为 30.3、6.3、7.1 和 25.8 mg/100 g。 **结论** 该方法可为昭通特色水果中维生素 C 的提取及含量测定提供参考。

**关键词:** 2,4-二硝基苯肼法; 昭通特色水果; 维生素 C

## Extraction technology and determination of vitamin C in characteristic fruits from Zhaotong

LI Qi-Peng<sup>1</sup>, SHEN Kun<sup>1,2</sup>, LUO Jia-Gang<sup>1</sup>, SHI Rui<sup>1</sup>, SHEN Yan-Qiong<sup>3\*</sup>

(1. College of Chemistry and Life Science, Zhaotong University, Zhaotong 657000, China; 2. Junior Middle School of Liuquhe Town, Bijie 553299, China; 3. Agricultural Product Quality and Safety Center of Zhaotong, Zhaotong 657000, China)

**ABSTRACT: Objective** To optimize the extraction of vitamin C in characteristic fruits from Zhaotong and determine its content. **Methods** The single factor experiment was designed to optimize and extract vitamin C from Zhaotong characteristic fruits, and their content were determined by the 2,4-dinitrobenzene hydrazine method and ultraviolet spectroscopy. **Results** The best extraction conditions were as follows: the extraction temperature was 37 °C, the time of water bath was 3 h and the dosage of the activated carbon was 1.0 g. Using the ascorbic acid as the standard solution, the vitamin C content of hawthorn, pear, apple and grape from Zhaotong were 30.3, 6.3, 7.1 and 25.8 mg/100 g, respectively. **Conclusion** The method can provide a reference for extraction and determination of vitamin C content from Zhaotong characteristic fruits.

**KEY WORDS:** 2,4-dinitrobenzene hydrazine method; Zhaotong characteristic fruits; vitamin C

## 1 引言

维生素 C 又称抗坏血酸, 是一种对人类非常重要的物质, 每天需要摄入约 100 mg。维生素 C 能提高人体免

疫力, 严重缺乏维生素 C 会造成缺铁性贫血和坏血病<sup>[1-4]</sup>。此外, 维生素 C 也是一种辅酶, 能参与生命的各种代谢活动<sup>[5]</sup>。大多数的生物体内通过自身新陈代谢合成维生素 C, 然而人类不能自身合成, 只能通过从果蔬中

基金项目: 昭通学院校级课题(2016xj35)

**Fund:** Supported by the School Project of Zhaotong University (2016xj35)

\*通讯作者: 沈燕琼, 硕士, 助理农艺师, 主要研究方向为特色农产品营养成分及农残研究。E-mail: 184696105@qq.com

\*Corresponding author: SHEN Yan-Qiong, Assistant Agronomist, Agricultural Product Quality and Safety Center of Zhaotong, No.47, Fengxia Road, Zhaoyang District, Zhaotong 657000, China. E-mail: 184696105@qq.com

摄取<sup>[6,7]</sup>。目前,果蔬中维生素C的提取及含量的测定方法主要有荧光光度法、滴定分析法、2,6-二氯酚酞滴定法、高效液相色谱法、薄层色谱法、2,4-二硝基苯肼比色法和紫外分光光度法等,其中很多方法操作过程繁琐、成本较贵、过程耗时较长且实验条件限制等缺点。因此建立提取简单、易重复和结果准确且适用于基层实验室的新方法仍然需要<sup>[8-10]</sup>。

昭通市属于高原季风干燥型气候,日照充足,有利于苹果、葡萄、梨和山楂的生长,有利于得到品质优越的果实,特别是昭通苹果和葡萄闻名于世,深受人们的喜爱。此外,在我们日常的膳食中,人体的维生素C吸收主要来源于各类新鲜蔬果。因此,深入研究昭通各种特色水果中维生素C的提取及含量测定方法,为昭通特色水果的开发利用以及合理选择膳食提供理论依据,具有重要的研究意义。

## 2 材料与方 法

### 2.1 材料、试剂与仪器

苹果、梨、葡萄和山楂(均购买自云南省昭通市昭阳区水果批发市场)。

抗坏血酸标准品(购自中国药品生物制品检定所);硫脲、草酸、2,4-二硝基苯肼、活性炭、盐酸和硫酸(均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司);蒸馏水(自制)。

Unico UV/VIS 2802PCS 紫外分光光度计(尤尼科上海仪器有限公司); DZKW-S-4 水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司); Ohaus CP214 电子天平(奥豪斯仪器上海有限公司)。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 标准溶液的配制

称取抗坏血酸标准品 0.0500 g,用 1%草酸溶液溶解,定容至 50 mL。称取 1.0 g 活性炭于 25 mL 抗坏血酸标准液中,振荡摇匀 2 min 后静置,过滤。取其滤液 5 mL 用 1%的硫脲定容到 250 mL,得浓度为 20 ug/mL 的抗坏血酸溶液。准确移取 20 ug/mL 的抗坏血酸溶液 1.25、2.5、5.0、6.25、10.0、12.5、15 mL 于 25 mL 容量瓶中,用 1%硫脲定容。

#### 2.2.2 水果鲜样处理

分别将新鲜的山楂、苹果、梨和葡萄洗净去皮,切碎,混匀,准确称取 4 种水果各 15.0 g 于研钵中,加入 1%的草酸溶液 10 mL,研磨成匀浆。取匀浆 10 mL 于 100 mL 容量瓶中,加 1%的草酸定容,静置 10 min 后过滤。取上述 4 种水果的提取液 20 mL 于小烧杯中,加入 1.0 g 活性炭,搅拌,静置 1 min 后过滤,然后按照 1:1 的体积比,取 2%的硫脲与其混合均匀。取 8 只试管分为两组(一组为空白组,另一组为待测液组),分别取各种水果的提取液 4 mL 于两

只试管,分别向每只待测试管中加入 2%的 2,4-二硝基苯肼 1 mL,摇匀。然后把所有试管放入恒温水浴箱,恒温反应 3 h 后,把所有试管取出,在室温下冷却 20 min,然后把待测组放入冰水浴中,在待测组试管中加入 5 mL 85%的硫酸,边加边摇,最后让其冷却至室温。空白组加入 1 mL 2%的 2,4-二硝基苯肼溶液,再加入 5 mL 85%硫酸,静置 20 min,冷却至室温。以空白组做对比,在 497 nm 处测定待测液的吸光度。依上述方法重复 3 次,并计算相对标准偏差。

### 2.3 选择最大吸收波长及标准溶液测试

分别从上述标准溶液中移取 4 mL 于两组试管中,一组为空白组,另一组加入 1 mL 2%的 2,4-二硝基苯肼摇匀。把全部试管放入 37 °C 恒温箱水浴 3 h 后,空白组加入 1 mL 2%的 2,4-二硝基苯肼,两组都冷却至室温,放入冰水中谨慎加入 5 mL 85%的硫酸,搅拌,然后在室温下冷却 20 min。以空白组作为对照,使用分光光度计在 400~600 nm 之间进行测试。取各组最大吸收波长处的吸光度  $A$  为纵坐标,标准溶液的浓度  $C$  (ug/mL)为横坐标,绘制标准工作曲线。

### 2.4 单因素提取实验

#### 2.4.1 反应温度的影响

取溶液 10 份,活性炭加入量为 1.0 g,水浴时间 3 h,分别置于 25、27、29、31、33、35、37、39、41、43 和 45 °C 下,在 497 nm 处测定其吸光度,选择最佳反应温度。

#### 2.4.2 水浴时间的影响

取溶液 7 份置于 37 °C 下,活性炭加入量为 1.0 g,水浴时间为 1.5、2.0、2.5、2.5、3.0、3.5 和 4.0 h,在 497 nm 处测定其吸光度,选取最佳水浴时间。

#### 2.4.3 活性炭用量影响

取溶液 7 份,置于 37 °C 下水浴 3 h,分别加入 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 和 1.6 g 活性炭,在 497 nm 处测定其吸光度,选择活性炭最佳加入量。

## 3 结果与讨论

### 3.1 测定波长的选定及标准曲线绘制

随着扫描波长的增加,吸光度逐渐增加,在 497 nm 波长处具有最大吸收峰;随后再增加扫描波长,吸光度开始下降,故确定 497 nm 为抗坏血酸的最大吸收波长(图 1)。

在 497 nm 处测定一系列抗坏血酸标准溶液的吸光度,根据标准溶液的浓度和吸光度值  $A$ ,绘制标准曲线图,并将数据进行线性回归处理,得到标准溶液的浓度与吸光度标准曲线的回归方程为:  $A = -0.0292 + 0.0254 C$ ,  $r^2 = 0.99911$ ,表明抗坏血酸浓度在 1~12 ug/mL 间与吸光度  $A$  呈线性关系(图 2)。

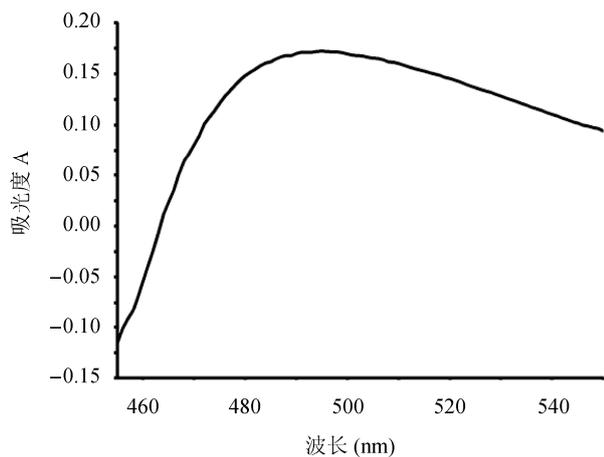


图 1 抗坏血酸的紫外光谱图

Fig. 1 The UV spectrum of vitamin C solutions

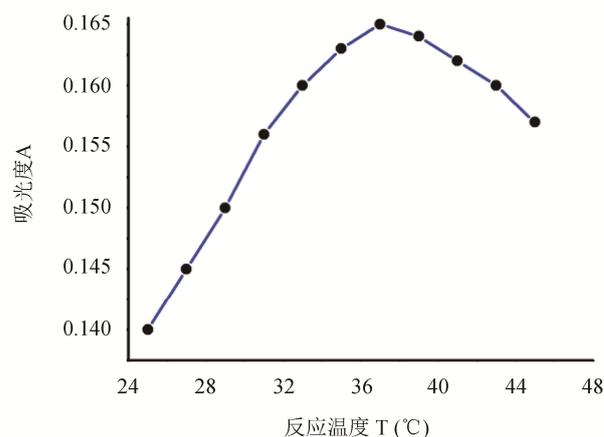


图 3 不同温度下的吸光度 (n=3)

Fig.3 The absorbance under different temperatures (n=3)

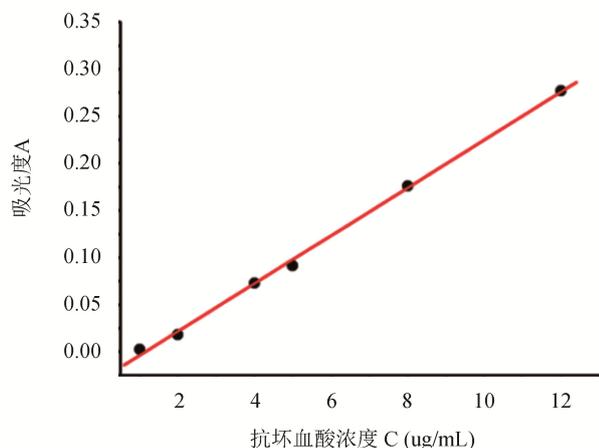


图 2 抗坏血酸标准曲线

Fig. 2 The standard curve of vitamin C solutions

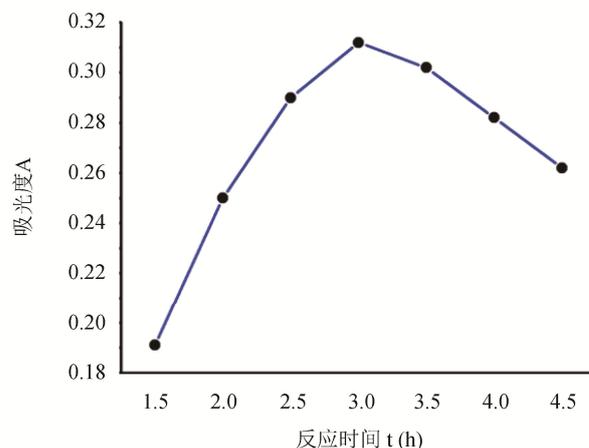


图 4 不同反应时间的吸光度 (n=3)

Fig.4 The absorbance of different reaction time (n=3)

### 3.2 单因素实验结果

#### 3.2.1 反应温度

控制活性炭的加入量和反应时间不变, 改变反应温度为 25~45 °C, 在相同条件下测定吸光度, 记录数据。实验结果表明, 当反应的水浴温度到达 37 °C 后, 吸光度不再发生明显变化; 但温度低于 37 °C 时, 温度对其吸光度的影响较大, 因此选择最适水浴温度为 37 °C (图 3)。

#### 3.2.2 反应时间

控制活性炭的加入量和水浴温度不变, 改变反应的时间, 在 1.5~4.0 h 的时间范围测定其吸光度, 记录数据。结果表明, 当反应的水浴时间到达 3.0 h 以后其溶液吸光度不再发生明显变化, 而低于 3.0 h 时, 变化明显, 因此最适水浴时间选定为 3.0 h (图 4)。

#### 3.2.3 活性炭加入量

控制水浴时间为 3.0 h, 水浴温度为 37 °C, 改变活性炭的加入量, 测定其吸光度, 记录数据。实验结果表明, 当活性炭加入量大于等于 1.0 g 时, 其溶液吸光度不再发生明显变化, 由此可选定最佳活性炭加入量为 1.0 g (图 5)。

### 3.3 样品的测定及加标回收率

根据最佳提取条件提取昭通特色山楂, 梨, 苹果和葡萄中维生素 C, 并在最大吸收波长 497 nm 处, 测定昭通特色水果提取液的吸光度, 由回归方程求出几种特色水果中维生素 C 的含量值。山楂中含量最高为 30.3 mg/100g, 其次为葡萄 25.8 mg/100g, 苹果为 7.1 mg/100g, 梨为 6.3 mg/100g (表 1)。此外, 在梨的最佳提取条件中, 加入 5 mg

抗坏血酸标样,用同样的方法测得其含量为 0.1118 mg/g,其加标回收率为 97%。实验结果表明,山楂中的维生素 C 含量相对较高,其次是葡萄,梨和苹果的含量比较低,符合相关文献结果<sup>[11-14]</sup>。该方法提取操作简单、重复性好,测定结果准确度高,进一步证实了该提取及检测方法的可行性<sup>[15]</sup>。

#### 4 结论

本研究建立了昭通特色水果中维生素 C 的提取及含量测定的新方法,该方法操作简便,具有较好的精密性,重复性好且适用于基层实验室的日常检测。深入研究昭通各种特色水果中维生素 C 的提取及含量测定方法,可为昭通特色水果的开发利用以及合理选择膳食提供理论依据。

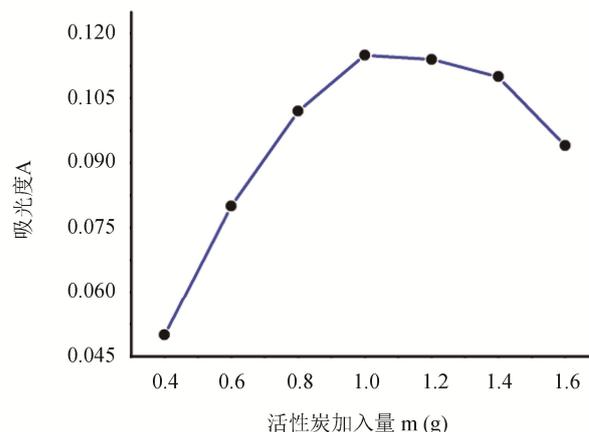


图5 吸光度和活性炭加入量的关系( $n=3$ )

Fig.5 The relationship between the absorbance and the amount of activated carbon ( $n=3$ )

表1 苹果、山楂、梨和葡萄中维生素 C 含量测定值( $n=3$ )  
Table 1 Determination of vitamin C in apple, hawthorn, pear and grape ( $n=3$ )

种类	实验组序号	样品质量 (g)	吸光度 A	含量 (mg/g)	平均值(mg/g)	RSD (%)
苹果	1	15	0.021	0.0724	0.0710	1.97
	2	15	0.019	0.0696		
	3	15	0.020	0.0710		
山楂	1	15	0.184	0.3078	0.3030	1.46
	2	15	0.178	0.2991		
	3	15	0.180	0.3020		
梨	1	15	0.016	0.0653	0.0633	2.64
	2	15	0.014	0.0624		
	3	15	0.014	0.0624		
葡萄	1	15	0.149	0.2572	0.2580	0.65
	2	15	0.149	0.2572		
	3	15	0.151	0.2601		

#### 参考文献

- [1] Edefonti V, Hashibe M, Parpinel M, *et al.* Natural vitamin C intake and the risk of head and neck cancer: a pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology consortium [J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(2): 448-462.
- [2] 叶群丽. 分光光度法测定水果中维生素 C 的含量[J]. *广东化工*, 2016, 6(43): 184-185.  
Ye QL. Determination of vitamin C content in fruits by spectrophotometry [J]. *Guangdong Chem*, 2016, 6(43): 184-185.
- [3] Gao Y, Han Z, Li Q *et al.* Vitamin C induces a pluripotent state in mouse embryonic stem cells by modulating micro-RNA expression [J]. *FEBS J*, 2015, 282(4): 685-699.
- [4] 赵连俊. 水果中维生素 C 含量测定的研究[J]. *当代化工*, 2008, 37(6): 672-673.  
Zhao LJ. Determination of Vc content of fruits by UV colorimetry [J]. *Contemp Chem Ind*, 2008, 37(6): 672-673.
- [5] Popovic LM, Mitic NR, Miric D, *et al.* Influence of vitamin C supplementation on oxidative stress and neutrophil inflammatory response in acute and regular exercise [J]. *Oxidat Med Cell Longevity*, 2015:1-7.
- [6] 陈少东, 陈福北, 杨永铭, 等. 7 种南方水果中维生素 C 的含量检测[J]. *化工技术与开发*, 2010, 39(4): 29-30  
Chen SD, Chen FB, Yang YM. *et al.* Determination of Vitamin C in seven southern fruit [J]. *Technol Dev Chem Ind*, 2010, 39(4): 29-30
- [7] Park S, Ham J O, Lee B-K. Effects of total vitamin A, vitamin C, and fruit intake on risk for metabolic syndrome in Korean women and men [J].

- Nutrition, 2015, 31(1): 111-118.
- [8] GB/T 6195-86 水果、蔬菜维生素 C 含量的测定法(2, 6-二氯酚酚滴定法) [S].  
GB/T 6195-86 Determination of vitamin C In vegetables and fruits (2, 6-dichloro-indophenol titration method) [S].
- [9] 孙鹏, 王宁, 孙先锋. 两种方法对苹果中维生素 C 含量测定的比较 [J]. 湖北农业科学, 2011, 50(11): 3386-3388.  
Sun P, Wang N, Sun XF. Comparison of two methods for detecting vitamin C in apple [J]. Hubei Agric Sci, 2011, 50(11): 3386-3388.
- [10] 徐美玲. 2,4-二硝基苯肼法对三种蔬菜维生素 C 含量的测定 [J]. 菏泽学院学报, 2015, 37(2): 52-55.  
Xu ML. A research on measuring content of vitamin C in three vegetables by 2, 4-Dinitrophenylhydrazine method [J]. J Heze Univ, 2015, 37(2): 52-55.
- [11] 张冬梅, 汪振立, 罗六保, 等. 对新鲜果蔬中维生素 C 的测定结果影响因素研究[J]. 江西化工, 2010, 1(3): 73-76.  
Zhang DM, Wang ZL, Luo LB *et al.* Study on the influencing factors of the determination results of vitamin C in fresh fruits and vegetables [J]. Jiangxi Chem Ind, 2010, 1(3): 73-76.
- [12] 黄锁义, 方晓燕, 农世永, 等. 分光光度法测定山楂中维生素 C [J]. 理化检验-化学分册, 2007, 43(4): 317-319.  
Huang SY, Fang XY, Nong SY *et al.* Spectrophotometric determination of vitamin C in hawthorn fruit [J]. Phys Chem Inspect (Part B: Chem Anal), 2007, 43(4): 317-319.
- [13] 黄连玉, 陈崇莉, 罗宝, 等. 桂西地区 7 种常见水果维生素 C 含量的测定[J]. 右江民族医学院学报, 2012, 34(1): 14-15.  
Huang LY, Cheng CL, Luo B, *et al.* Determination of vitamin C content of 7 common fruits in the west of Guangxi [J]. J Youjiang Med Univ Nation, 2012, 34(1): 14-15.
- [14] 羊金梅, 覃超凤, 余瑞, 等. 分光光度法测定梨和苹果中维生素 C 的含量[J]. 安徽医药, 2015, 9(3): 205-206.  
Yang JM, Qing CF, Yu R, *et al.*, The spectrophotometric determination for vitamin C in pears and apples [J]. Anhui Med Pharm J, 2015, 9(3): 205-206.
- [15] 沈燕琼, 李启彭. 会泽葛根中黄酮提取的优化工艺及含量测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 741-745.  
Shen YQ, Li QP. Optimization of extraction technology and determination of flavonoid in Huize radix puerariae [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 741-745.

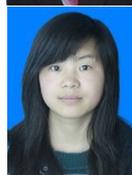
(责任编辑: 姚菲)

### 作者简介



李启彭, 博士, 讲师, 主要从事无机及分析化学研究。

E-mail: 83064313@qq.com



沈燕琼, 硕士, 助理农艺师, 主要从事特色农产品营养成分及农残研究。

E-mail: 184696105@qq.com