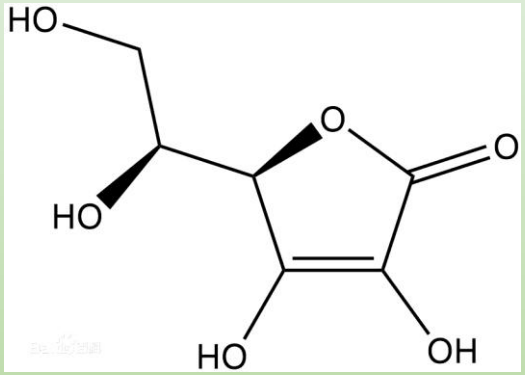
《园艺产品品质分析》实验三

# 园艺产品维生素C含量的测定
# （分光光度计法）

# 一、实验目的

## 1、了解维生素C的性质及生物功能。

维生素C（抗坏血酸）是高等灵长类动物与其他少数生物的必需营养素，缺乏维生素C会造成坏血病。在生物体内，维生素C是一种抗氧化剂，保护身体免于自由基的威胁，维生素C同时也是一种辅酶。其广泛的食物来源为各类新鲜蔬果。




何种蔬果含有较高的维生素C?

## 2、学习分光光度计法测定维生素C含量的原理和方法。

# 二、实验原理

维生素C（抗坏血酸）具有较强的还原力，可以把铁离子（$Fe^{3+}$）还原成亚铁离子（$Fe^{2+}$），亚铁离子与红菲啰啉（4,7-二苯基-1,10-菲啰啉，BP）反应形成红色螯合物。此化合物在波长534nm处具有强的吸收峰，且吸光度与反应液中抗坏血酸含量呈正相关。因此，可用比色法来测定抗坏血酸含量。

# 三、实验材料、仪器及试剂

1、实验材料

苹果、梨、番茄、辣椒等果蔬。

2、实验仪器与用具

分光光度计、研钵、电子天平、容量瓶（50ml和100ml）、漏斗、滤纸、离 心管、试管。

3、实验试剂

50g/L三氯乙酸（TCA）溶液：称取5g三氯乙酸，用蒸馏水溶解，稀释至100ml。

0.4%磷酸-乙醇溶液：量取0.47ml 85%磷酸溶液加入到无水乙醇中，并用无水乙醇稀释至100ml。

5g/L BP-乙醇溶液：称取0.25g BP（纯度>97%）加入到无水乙醇中溶解，并用无水乙醇稀释至50ml。

0.3g/L $FeCl_3$-乙醇溶液：称取0.03g $FeCl_3$加入到100ml无水乙醇中，摇匀。

100μg/ml 标准抗坏血酸溶液：称取10mg 抗坏血酸（应为洁白色，如变为黄色则不能用），用50g/L TCA 溶液溶解，定容至100ml，即1ml溶液含100μg抗坏血酸。现用现配，保存于棕色瓶中，低温冷藏。

# 四、实验步骤

1、制作标准曲线

取7支试管，编号，按表1加入各种溶液，将混合液置于30℃反应60min，然后以0号试管混合液为参照，于波长534nm处测定吸光度值。以抗坏血酸质量为横坐标，吸光度为纵坐标绘制标准曲线，求回归方程。

**表 1　制作抗坏血酸标准曲线试剂含量**

| 项目 | 试管号 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 抗坏血酸标准液/ml | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 |
| 50g/L TCA/ml | 2.0 | 1.9 | 1.8 | 1.7 | 1.6 | 1.5 | 1.4 |
| 无水乙醇/ml | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| 混匀、摇匀 | | | | | | | |
| 0.4%磷酸-乙醇溶液/ml | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 5g/L BP-乙醇溶液/ml | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| 0.3g/L $FeCl_3$-乙醇溶液/ml | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 相当于抗坏血酸量/μg | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 |

2、提取

洗净新鲜果实，吸干，剪碎后混匀，分别称取5g 样品置于研钵中，加入20ml 50g/L TCA溶液，在冰浴条件下研磨成浆状，转入到100ml容量瓶中，并用50g/L TCA 溶液定容至刻度，混合、提取10min后，过滤收集滤液备用。

3、测定

取1ml样品提取液于试管中，加入1ml 50g/L TCA溶液，再按制作标准曲线相同的方法，加入其他成分，进行反应、测定。记录反应体系在波长534nm处吸光度，重复3次。

# 五、结果与讨论

## 结果计算

根据吸光度值，在标准曲线上查出相应的混合液中抗坏血酸质量，按下式计算植物组织中抗坏血酸含量。植物组织中抗坏血酸含量以100g样品（鲜重）中含有的抗坏血酸的质量表示，即mg/100g

$$\text{抗坏血酸含量} = \frac{V \times m}{Vs \times M \times 1000} \times 100 \ (\text{mg}/100\text{g})$$

式中，m为由标准曲线求得的抗坏血酸的质量（μg）
Vs为滴定时所用样品中提取液体积（ml）
V为样品提取液总体积（ml）
M为样品质量（g）。

# 讨论

1、维生素C受热容易分解，如何提高实验准确度？

2、测定方法扩展应用

利用此法还可以测定植物组织中脱氢抗坏血酸和总抗坏血酸的含量。

测定原理：利用二流苏糖醇（DTT）将脱氢抗坏血酸还原成还原型的抗坏血酸，这样可以通过测定抗坏血酸的含量对脱氢抗坏血酸进行定量分析。

测定方法：取 1 ml样品中提取液，加入0.5ml 60mmol/L DTT-乙酸溶液，再用$Na_2HPO_4$-NaOH溶液调pH至7~8，置于室温下10min，使脱氢抗坏血酸还原。然后加入0.5ml 0.2g/ml 三氯乙酸溶液，调节pH至1~2，按测定抗坏血酸相同的方法进行测定，计算出总抗坏血酸含量，从中减去样品中原有的还原型抗坏血酸含量，即得脱氢抗坏血酸含量。