

HPLC 法测定 5 种果汁中抗坏血酸的含量

刘文海, 范洁, 刘丽莉 (湖南科技大学生命科学院, 湖南湘潭 411201)

摘要 [目的] 采用高效液相色谱法(HPLC)对 5 种水果中抗坏血酸含量进行测定和分析, 进一步优化色谱条件。[方法] 以脐橙(广西)、番茄(湖南)、沙田柚(广西)、苹果(河北)和猕猴桃(湖南)为试材, 榨汁和离心后采用 HPLC 法测定了 5 种水果中抗坏血酸含量。色谱条件为 ODS-C₁₈ 色谱柱, 磷酸钾溶液(pH 值为 6.0)为流动相, 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 260 nm, 柱温为 8 ℃。[结果] 各水果果汁中抗坏血酸含量大小分别为: 脐橙 > 猕猴桃 > 沙田柚 > 番茄 > 苹果。抗坏血酸在浓度 0.005 ~ 0.750 g/L 内有良好的线性关系, 线性回归方程为 $y = 158\,558.187 + 18\,923\,522.816x$ ($r = 0.999\,6$), 线性范围为 0.05 ~ 7.50 μg, 标准偏差(s)为 3 906.931, 相对标准偏差(RSD)为 0.040 96%。[结论] 用所建立的 HPLC 法测定的结果准确度高、重现性好, 适用于新鲜的果类等食品中抗坏血酸的快速定量分析。

关键词 高效液相色谱; 果汁; 抗坏血酸

中图分类号 O657.7 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)04-01412-02

Determination of Ascorbic Acid Content in Five Fruit Juices by HPLC

LIU Wen-hai et al (School of Life Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan, Hunan 411201)

Abstract [Objective] The research aimed to determine and analyze the ascorbic acid content in 5 fruits by using HPLC, and further optimize the chromatographic conditions. [Method] With navel orange (Guangxi), tomato (Hunan), Shatian pomelo (Guangxi), apple (Hebei) and kiwifruit (Hunan) as tested materials, the ascorbic acid content in 5 fruits was determined by HPLC after juicing and centrifugation. The chromatographic conditions were: ODS-C₁₈ column, potassium phosphate solution (pH = 6.0) was used as mobile phase, flow velocity was 1.0 ml/min, and the detection wave length was 260 nm with the column temperature of 8 ℃. [Result] The content magnitude of ascorbic acid in each fruit juice in sequence was as below: navel orange > kiwifruit > Shatian pomelo > tomato > apple. The ascorbic acid had a good linear relation between the concentrations from 0.005 to 0.750 g/L and the linear regression equation was $y = 158\,558.187 + 18\,923\,522.816x$ ($r = 0.999\,6$), with the linear scope of 0.05 ~ 7.5 μg, standard deviation $s = 3\,906.931$ and the relative standard deviation (RSD) = 0.040 96%. [Conclusion] The determined results by HPLC that was established in the test were in high accuracy and good reproducibility, and the method was suitable for rapid quantitative analysis of ascorbic acid in the fresh fruit and other foods.

Key words HPLC; Fruit juices; Ascorbic acid

抗坏血酸(Ascorbic acid)普遍存在于新鲜水果和蔬菜中, 是维持机体正常生命活动所需要的一类小分子有机化合物。有研究表明, 抗坏血酸作用于胶原原的形成、神经递质转移、酶系统组成和免疫反应, 适当摄入抗坏血酸能抑制某些肿瘤生长^[1], 因而对抗坏血酸测定的研究也得到了广泛重视。常规测定法有 2,6-二氯酚靛酚滴定法和 2,4-二硝基苯肼法^[2]、荧光分光光度法^[3]、比色法以及紫外分光光度法等^[4], 这些方法在使用时操作步骤复杂, 试验结果稳定性较差。近年来, 高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)以样品处理简单、分析效率高和测定结果重复性好等优点应用于分析测试研究。因此, 笔者采用 HPLC 对 5 种水果果汁中抗坏血酸含量进行测定和分析, 以期为进一步优化色谱条件提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 脐橙(广西龙州); 番茄(湖南湘潭); 沙田柚(广西容县); 苹果(河北枣强); 猕猴桃(湖南凤凰)。抗坏血酸标准品为上海山浦化工有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件。 岛津 LC-2010A 液相色谱仪, 紫外检测器, 色谱柱为 ODS-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为磷酸钾缓冲液(pH 值为 6.0), 流速 1.0 ml/min, 柱温 8 ℃, 进样量 10 μl, 保留时间 8 min, 检测波长 260 nm。

1.2.2 标准溶液的配制和标准曲线制作。 精密称量抗坏血酸标准品 0.1 g 溶于 100 ml 超纯水中, 终浓度 1.0 g/L, 然后

根据试验对标准溶液浓度稀释为 0.750、0.50、0.25、0.20、0.15、0.10、0.05、0.025 和 0.005 g/L, 按试验方法进行分

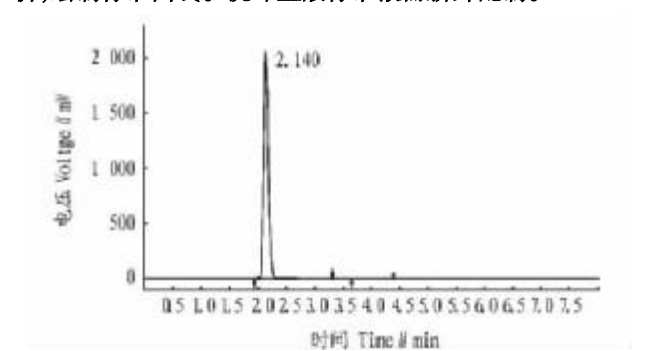


图1 抗坏血酸标准品色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of ascorbic acid standard

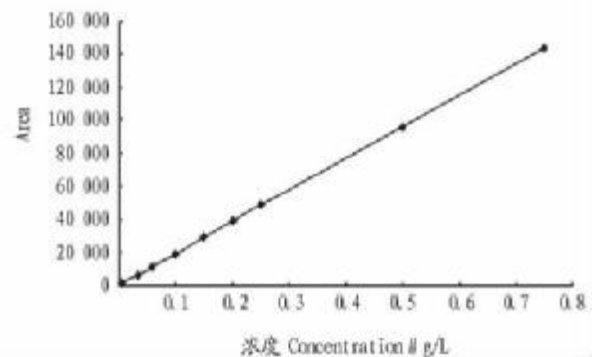


图2 抗坏血酸标准曲线

Fig.2 Standard curve of ascorbic acid

1.2.3 抗坏血酸精密度试验。 取 0.5 g/L 抗坏血酸标准溶

作者简介 刘文海(1967-), 男, 湖南醴陵人, 实验师, 从事生物学实验技术的研究。

收稿日期 2008-11-20

液,重复进样,测定 5 次,测定峰面积,计算相对标准偏差(RSD)。

1.2.4 样品的前处理。选取新鲜果肉 50 g,立即放置榨汁机内,使榨得的液汁用 3 层纱布过滤至烧杯中,将滤液转移至离心管中 10 000 g/min,离心 5 min,取上清液过 0.45 μm 滤膜后至样品瓶中,待进样分析。

2 结果与分析

2.1 抗坏血酸标准品线性回归方程和精密度试验 通过测得抗坏血酸标准液的峰面积 Y_i ,以抗坏血酸标准液的浓

度 X_i 作为自变量,相对应的峰面积 Y_i 作为因变量,用最小二乘法计算 $y = bx + a$ 的抗坏血酸标准品线性回归方程。抗坏血酸浓度与色谱图峰面积之间的回归方程为 $y = 158\,558.187 + 18\,923\,522.816x$, $r = 0.999\,6$,线性范围为 0.05 ~ 7.50 μg 。抗坏血酸标准品色谱行为和标准曲线制作见图 1、2。取 0.5 g/L 抗坏血酸标准品经过 5 次重复测定其峰面积,计算 5 个数据的相对标准偏差(RSD)为 0.040 96%,结果表明该法精密度较高。

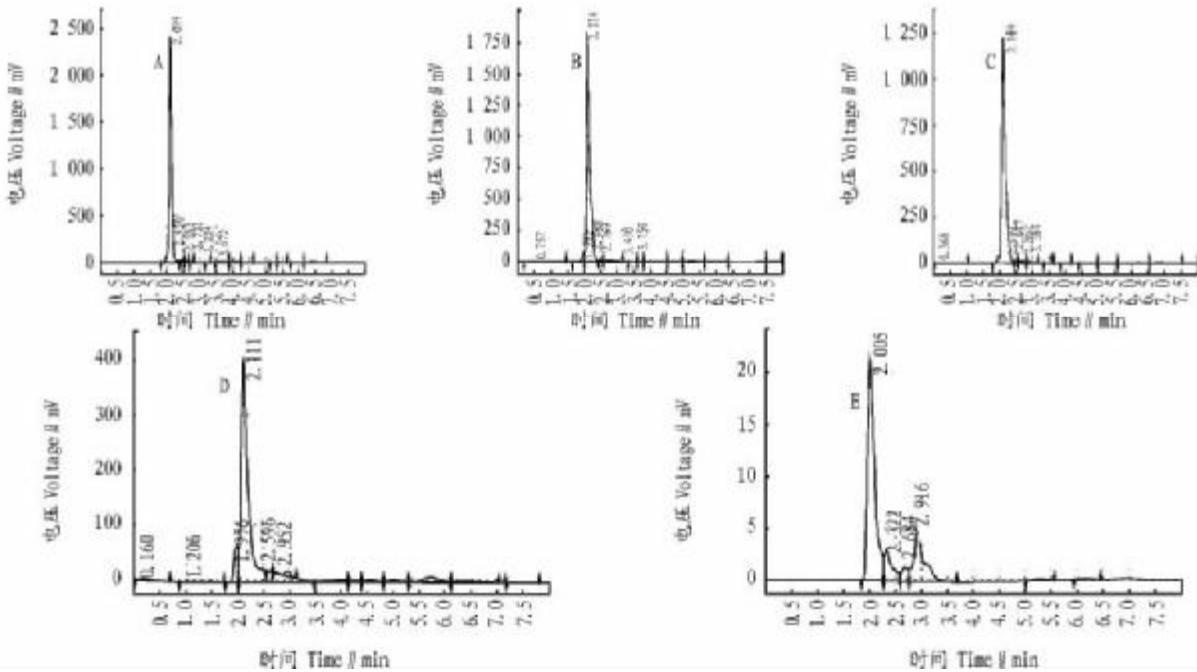


图3 脐橙(A)、猕猴桃(B)、沙田柚(C)、番茄(D)、苹果(E)果汁中抗坏血酸色谱图

Fig.3 HPLC chromatogram of ascorbic acid in juices of navel orange(A), kiwi fruit(B), Shatian pomelo (C), tomato(D) and apple(E)

2.2 水果果汁中抗坏血酸含量的测定 采用外标法测定了 5 种水果中抗坏血酸含量以及色谱行为(图 3)。该试验各水果果汁中抗坏血酸含量大小分别为:脐橙(0.693 g/L) > 猕猴桃(0.649 g/L) > 沙田柚(0.498 g/L) > 番茄(0.225 g/L) > 苹果(0.002 84 g/L),其中苹果中抗坏血酸含量仅为 0.002 84 g/L,相当于脐橙的 0.41%、猕猴桃的 0.44%、沙田柚的 0.57%、番茄的 1.26%。刘胜辉等研究发现苹果中抗坏血酸含量仅为番茄的 1.09%^[5],且与该试验结果相似。通常将剖开的苹果在外放置几分钟后便会发现果肉变成深褐色,在试验过程中可能苹果果汁的抗氧化能力差,其酚类化合物不断增多,使得部分抗坏血酸已被多酚氧化酶所氧化,严重影响了苹果中抗坏血酸含量的测定。

3 结论

所建立的高效液相色谱法可以用于水果和蔬菜中抗坏血酸含量的测定,其测定方法简单、快速,结果准确度高、重现性好,适用于新鲜的果类等食品中抗坏血酸的快速定量分析。

参考文献

(上接第 1406 页)

- [14] KARAHADIAN C B, LINDSAY Y C. Evaluation of compounds contributing characterizing fishy flavors in fish oils [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1989, 66: 953-960.
- [15] SHAHIDI F. 肉制品与水产品的风味[M]. 2版. 北京:中国轻工业出版社, 2001: 144-147.
- [16] TANCHOTIKUL U, HSIEH T C Y. Analysis of volatile flavor compounds in steamed rangia clam by dynamic headspace sampling and simultaneous distillation and extraction [J]. *Journal of Food Sci-*

- [1] RODRIGUEZ-BERNALDO DE QUIR6S A, LOPEZ-HERNANDEZ J, SIMAL-LOZANO J. Determination of vitamin C in sea urchin: Comparison of two HPLC methods [J]. *Chromatographia*, 2001, 53(1): 246-249.
- [2] 李建武, 陈丽荣, 余瑞元, 等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 1994: 302-305.
- [3] 孙振艳. 荧光分析法测定维生素 C [J]. *化学分析计量*, 2006, 15(4): 18-20.
- [4] 刘源, 翟丽屏, 相有章, 等. 维生素分析方法的研究现状及进展 [J]. *中国地方病防治杂志*, 2006, 21(1): 29-31.
- [5] 刘胜辉, 臧小平. 高效液相色谱法测定水果中的抗坏血酸 [J]. *生命科学仪器*, 2005, 3(4): 38-40.
- [17] KUBOTA K, KOBAYASHI A, YAMANISHI T. Basic and neutral compounds in the cooked odor from *Antarctic krill* [J]. *Agric Biol Chem*, 1982, 46(11): 2835-2839.
- [18] HABU T, FLATH R A, MON T R, et al. Volatile components of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1985, 33: 249.
- [19] 须山三千三. 水产食品学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1992.