

# 草莓果实维生素 C 提取的影响因素研究

高媛<sup>1,2</sup>, 张丙秀<sup>2</sup>, 高庆玉<sup>1,2\*</sup>, 代志国<sup>1,2</sup>, 张志昆<sup>1,2</sup>

(1. 东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030;

2. 农业部东北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:** 为了找出提取草莓维生素 C 更高效的方法, 以紫外分光光度法测定其含量, 探讨了提取液、蔗糖、反应时间对草莓维生素 C 提取量的影响。结果表明: 在三氯乙酸为提取液、 $\text{Cu}^{2+}$  溶液中含有 13.75 g/L 蔗糖的条件下, 当温度 30 °C、温热时间 30 min 时, 还原型维生素 C(AA) 的回收率最高(88%), 在还原温度 30 °C、还原时间 30 min 时, 氧化型维生素 C(DHAA) 的回收率最高(81%)。

**关键词:** 草莓; 维生素 C; 紫外分光光度法

**中图分类号:** Q564 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)04-0161-04

## Influencing Factors on Extraction of Vitamin C from Strawberry

GAO Yuan<sup>1,2</sup>, ZHANG Bing-xiu<sup>2</sup>, GAO Qing-yu<sup>1,2\*</sup>, DAI Zhi-guo<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhi-kun<sup>1,2</sup>

(1. College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2. Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticulture Crops (Northeast Region), Ministry of Agriculture, Harbin 150030, China)

**Abstract:** The vitamin C content of strawberry was determined by UV spectrophotometry, and the effects of extraction solutions, sucrose and response time on extraction of vitamin C from strawberry were studied. The results showed that when trichloroacetic acid was used as extraction solution,  $\text{Cu}^{2+}$  solution contained 13.75 g/L sucrose, the temperature was 30 °C, the heat time was 30 min, the recovery rate of reduced vitamin C (AA) was highest(88%); when the reduction temperature was 30 °C and reduction time was 30 min, the oxidized vitamin C (DHAA) recovery was highest(81%).

**Key words:** strawberry; vitamin C; UV spectrophotometry

人类自身不能合成维生素 C, 必须通过食物获取<sup>[1-3]</sup>。草莓(*Fragaria ananassa* Duchesne), 蔷薇科, 多年生草本植物, 果实香嫩多汁, 不仅富含糖、蛋白质及钙、铁、磷等矿物质, 而且还含有较多的维生素 C(0.35~0.75 mg/g)<sup>[4]</sup>。但由于草莓含水量过高(90%以上)<sup>[5]</sup>, 呼吸代谢旺盛, 而且果皮薄, 常因感染灰葡萄菌及根霉等真菌而变质, 其营养价值大大降低, 尤其是维生素 C 含量降低幅度较大<sup>[6]</sup>。因此, 维生素 C 含量常作为鉴定草莓品质和耐储性的

一个重要指标。目前, 国内外关于水果和蔬菜中维生素 C 含量的测定方法主要有碘滴定法<sup>[7]</sup>、2,6-二氯酚法<sup>[8]</sup>、高效液相色谱法<sup>[4]</sup>、荧光法<sup>[9]</sup>和紫外分光光度法<sup>[10]</sup>。其中, 碘滴定法和 2,6-二氯酚法虽然操作简单、速度快, 但是易受花青素、叶绿素、类胡萝卜素等色素类物质的干扰<sup>[11]</sup>; 高效液相色谱法所需仪器昂贵; 荧光法步骤繁琐, 不宜推广; 紫外分光光度法, 不受样品提取液颜色的影响, 操作简单, 容易推广。天然维生素 C 包括还原型维生素 C(AA)

收稿日期: 2012-11-22

基金项目: 农业部公益性行业(农业)科研专项(201103037); 东北农业大学博士启动基金

作者简介: 高媛(1987-), 女, 黑龙江黑河人, 在读硕士研究生, 研究方向: 果树栽培生理。E-mail: 529368287@qq.com

\* 通讯作者: 高庆玉(1960-), 男, 黑龙江哈尔滨人, 教授, 博士, 主要从事果树栽培生理及育种研究。E-mail: gaoqingyu@tom.com

和氧化型维生素 C(DHAA)2 种,新鲜水果蔬菜中以 AA 为主<sup>[6]</sup>。AA 化学性质不稳定,在水中可氧化形成 DHAA<sup>[7]</sup>。紫外分光光度法可测定 AA 和 DHAA 含量,在南瓜、辣椒、桃、梨、番茄等多种水果蔬菜中,已有相关报道,但在草莓中没有关于测定 DHAA 的报道<sup>[12-13]</sup>。本研究采用紫外分光光度法测定草莓维生素 C 含量,并探讨了提取液、蔗糖、反应时间对草莓维生素 C 提取量的影响,以期今后草莓维生素 C 含量的测定提供更高效的方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

草莓果实购自市场。

紫外可见分光光度计购自北京普柏通用仪器有限公司。

AA 标准溶液(100  $\mu\text{g/mL}$ ):新鲜配制。

DHAA 标准溶液(100  $\mu\text{g/mL}$ )使用前配制:25 mL 100  $\mu\text{g/mL}$  AA 标准溶液加入 2 g 活性炭,振荡 1 min,过滤。

$\text{Cu}^{2+}$  标准贮备液(1 g/L):称取 1.000 0 g 金属铜,溶于 15 mL 硝酸(优级纯)中,用超纯水定容至 1 L,摇匀,备用。

$\text{Cu}^{2+}$  溶液(I):吸取 6.25 mL  $\text{Cu}^{2+}$  标准贮备液(1 g/L),加入 200 mL 1 mol/L NaOAC、7 mL 1 mol/mL HOAC,用蒸馏水定容至 1 L。

$\text{Cu}^{2+}$  溶液(II):吸取 6.25 mL  $\text{Cu}^{2+}$  标准贮备液(1 g/L),加入 200 mL 1 mol/L NaOAC、7 mL 1 mol/mL HOAC、13.75 g 蔗糖,溶解,用蒸馏水定容至 1 L。

$\text{Cu}^{2+}$ -EDTA 溶液(pH 值 6.0): $\text{Cu}^{2+}$  溶液与  $5 \times 10^{-4}$  mol/L EDTA 溶液按体积比 4:1 混合。

HSA- $\text{K}_2\text{HPO}_4$  溶液:1 g HAS(人蛋白血清蛋白)溶于 100 mL 450 g/L  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  溶液,过滤。

### 1.2 试验方法

1.2.1 维生素 C 最大吸收峰的确定 准确吸取 2.00 mL 不同提取液(200 g/L 三氯乙酸、20 g/L 草酸、60 g/L 柠檬酸溶液)配制的维生素 C 标准溶液于 50 mL 容量瓶中,定容至刻度,从容量瓶中吸取 1.00 mL 溶液于试管中,加入 5.00 mL  $\text{Cu}^{2+}$ -EDTA 溶液,摇匀。以蒸馏水为对照,在 200~400 nm 波长范围内进行扫描。

1.2.2 AA 标准曲线的制作 向 7 只试管中分别加入 0、0.05、0.10、0.25、0.50、0.75、1.00 mL AA 标准溶液,加入量小于 1.00 mL 的用提取液补足至

1.00 mL,然后逐一加入 10.00 mL 的  $\text{Cu}^{2+}$ -EDTA 溶液,摇匀,立即在 267 nm 波长处测其吸光度,绘制标准曲线。

1.2.3 草莓维生素 C 的提取 选取成熟期草莓果实 10 个,称质量,加入(加入量按维生素 C 含量 0.40 mg/g 计算)匀浆器内匀浆,称取匀浆 5 g,加入 5.00 mL 预冷的提取液(200 g/L 三氯乙酸、20 g/L 草酸、60 g/L 柠檬酸溶液),冰浴下继续研磨。匀浆转移至带盖的聚乙烯塑料离心管中,于 4  $^{\circ}\text{C}$  放置 15 min,过滤,用提取液定容至 100 mL,即得样品溶液。

1.2.4 草莓 AA 的测定 取 1.00 mL 样品溶液置于试管中,加入 10.00 mL  $\text{Cu}^{2+}$ -EDTA 溶液,摇匀,立即在 267 nm 波长处测定其吸光度(A1)。另取 1.00 mL 样品溶液置于另一试管中,加入 8.00 mL  $\text{Cu}^{2+}$  溶液(I、II),摇匀,30  $^{\circ}\text{C}$  水浴温热一段时间(10、20、30、40、50 min),取出后加入 2.00 mL  $5 \times 10^{-4}$  mol/L 的 EDTA 溶液,摇匀,在 267 nm 波长处测定其吸光度(A2)。计算 AA 的含量,AA 含量 =  $11.00Y \times (A1 - A2) / S$ ,式中,S 是 AA 标准曲线的斜率,Y 为稀释倍数。

1.2.5 草莓 DHAA 的测定 取 4.00 mL 样品溶液,用 HSA- $\text{K}_2\text{HPO}_4$  溶液(约 1.2 mL)调节其 pH 值为 7.0~7.1,30  $^{\circ}\text{C}$  水浴温热一段时间(10、20、30、40、50 min),取出后用 200 g/L 三氯乙酸定容至 6.00 mL,即得 DHAA 测试液。取 0.20 mL DHAA 测试液,加入 0.80 mL 200 g/L 三氯乙酸溶液,摇匀,然后按 AA 测定步骤进行,此时可计算出样品中总维生素 C(AA+DHAA)的含量,减去 AA 含量,即得样品中 DHAA 含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 维生素 C 最大吸收峰的确定

由图 1 可以看出,在 200 g/L 三氯乙酸、20 g/L 草酸、60 g/L 柠檬酸 3 种提取液中,维生素 C 在 267 nm 波长处均有最大吸收峰。

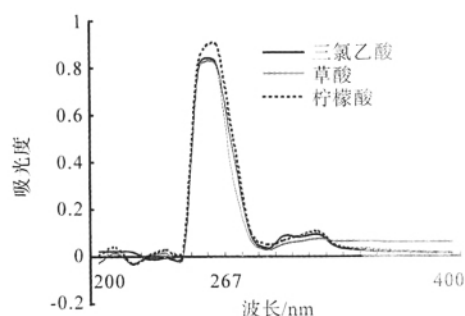


图 1 维生素 C 的吸收光谱

## 2.2 提取液、蔗糖及温热时间对 AA 回收率的影响

由图2可知,在3种提取液中,几乎在任何温热时间下(20 min 除外),均为 60 g/L 柠檬酸溶液对 AA 的回收率最低,这可能是由于柠檬酸有抑制  $\text{Cu}^{2+}$  催化氧化 AA 的作用;三氯乙酸提取液对 AA 回收率均明显高于草酸和柠檬酸。因此,三氯乙酸为 AA 的最佳提取液。

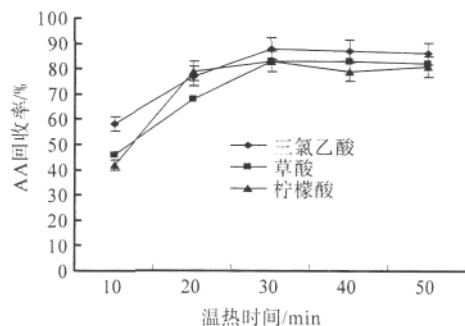


图2 提取液对 AA 回收率的影响

以三氯乙酸为提取液,研究蔗糖对 AA 回收率的影响。如图3所示,在相同的温热时间下, $\text{Cu}^{2+}$  溶液中加入蔗糖处理对 AA 的回收率明显高于不加蔗糖处理。 $\text{Cu}^{2+}$  溶液中加入蔗糖后, $\text{Cu}^{2+}$  催化氧化 AA 的能力明显增强,说明蔗糖对  $\text{Cu}^{2+}$  催化氧化 AA 具有明显的促进作用。

在以三氯乙酸为提取液、 $\text{Cu}^{2+}$  溶液中加入蔗糖的条件下,研究温热时间对 AA 回收率的影响。由图3可以看出,随着温热时间的增加,AA 回收率呈先增加后降低的趋势,在 30 min 时,AA 回收率最大,为 88%。其中,温热时间在 10~30 min 时,AA 回收率随着温热时间的增加而增加;在 30~50 min 时,AA 回收率随着温热时间的增加略有下降。因此,温热时间以 30 min 为佳。

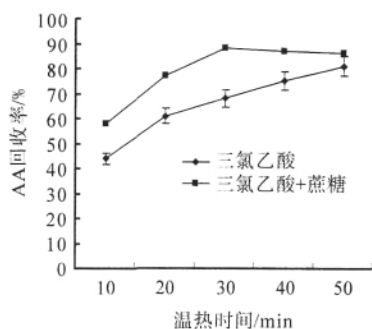


图3  $\text{Cu}^{2+}$  溶液中加入蔗糖对 AA 回收率的影响

## 2.3 HSA 还原时间对 DHAA 回收率的影响

由图4可以看出,还原时间为 10 min 时,DHAA 回收率显著低于其他还原时间( $P < 0.05$ );还原时间为 20、30、40、50 min 时,DHAA 回收率在

各处理间差异不显著( $P > 0.05$ ),保持在 81%左右。综合考虑回收率及还原时间,选择还原时间以 20~30 min 为佳。

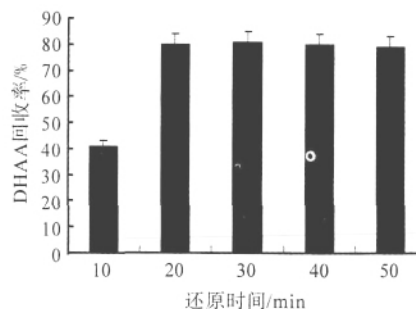


图4 还原时间对 DHAA 回收率的影响

## 3 结论与讨论

维生素 C 不稳定,在水溶液中易被氧气氧化。所以,在样品制备过程中,选取的提取液,既要易于提取样品中的维生素 C,又能在样品制备和测定过程中抑制氧化酶的活性。当前常用的维生素 C 提取液是偏磷酸,偏磷酸可降低样品中氧化酶的活性,沉淀样品溶液中的蛋白质,从而获得清亮的样品测试液,但偏磷酸贮备液的配制费事、耗时,且价格较贵。偏磷酸为块状固体,需在无潮气条件下破碎成粉末,并经长时间振荡才能完全溶解,其水溶液不稳定,浓贮备液在冰箱中只能存放 7 d。本研究结果表明,三氯乙酸提取液对 AA 的回收率明显高于草酸和柠檬酸。三氯乙酸水溶液极易配制,且在室温下至少可存放 2 个月,但 AA 在三氯乙酸溶液中抗氧气氧化的能力较差,故稀标准溶液和样品溶液存放时间不宜超过 4 h。

本研究结果表明,加蔗糖对  $\text{Cu}^{2+}$  催化氧化 AA 具有明显的促进作用。但是,本试验只研究了质量浓度为 13.75 g/L 的蔗糖对  $\text{Cu}^{2+}$  催化氧化 AA 的影响,至于最佳的蔗糖质量浓度还需做进一步的探讨。总之,在紫外分光光度法中,以三氯乙酸为提取液、 $\text{Cu}^{2+}$  溶液中加入蔗糖,温度 30 °C、温热时间 30 min 时,AA 的回收率最高,为 88%;在还原温度 30 °C,还原时间 20~30 min 时,DHAA 的回收率最高,为 81%。紫外分光光度法简便、快速、准确,其所需仪器和试剂普通易得,价格便宜,而且维生素 C 回收率高,是一种有效的适合推广的方法。

## 参考文献:

- [1] Smirnoff N, Loewus F A, Conklin P L. Biosynthesis of ascorbic acid in plants: A renaissance[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol[J]. 2001, 52: 437-467.

(下转第 167 页)

### 3 结论

1) 大曲原料配比为大豆粉 40%、麸皮 60%、水 100%时,毛霉 ZG-2 菌株产生的蛋白酶酶活较高,生产成本较低。

2) 毛霉 ZG-2 菌株适宜于高温制曲,在 40 °C 下制曲,酸性蛋白酶酶活可达 2 314 U/g、中性蛋白酶酶活可达 4 602 U/g、碱性蛋白酶酶活可达 1 352 U/g。

3) 稀醪发酵过程中添加 120 g/L 食盐溶液对各类蛋白酶活性抑制较轻,同时能抑制其他杂菌的生长,有利于生抽的发酵,原料蛋白质转化率可达 79.3%,产品质量较好,在生抽生产中是理想的食盐加量。

#### 参考文献:

- [1] 孙付保,陈晓旭,陈晓萍,等.混合菌株固体发酵玉米皮生产饲料蛋白[J].食品与生物技术学报,2011,29(6):916-920.
- [2] Liu B G, Zhu Y Y. Extraction of flavonoids from flavonoid-rich parts in tartary buckwheat and identifica-

tion of the main flavonoids[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(2): 584-587.

- [3] Shih I L, Chen L G, Yu T S, *et al.* Microbial reclamation of fish processing waste for the production of fish sauce[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2003, 33(2): 154-162.
- [4] 张博文,张肃,雷浪伟,等.太空搭载对短双歧杆菌 A04 体外抗氧化能力的影响[J].食品科学,2007,28(8):261-265.
- [5] 王艳芳,王世恒,祝水金.航天诱变育种研究进展[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(1):9-11.
- [6] 李玲,陈林,杨文革,等.一株他克莫司产生菌的筛选及鉴定[J].食品与生物技术学报,2010,29(3):416-420.
- [7] 李海燕,宁亚惟,杨娜,等.酱油曲霉产巯基氧化酶发酵培养基的优化[J].食品与发酵工业,2012,38(2):97-100.
- [8] 徐乐三.吉康醋的生产与功能[J].中国酿造,2005(2):41-42.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 23527-2009 蛋白酶活性的测定方法[S].北京:中国标准出版社,2009.

(上接第 163 页)

- [2] 宋玉萍,李英,高红亮,等.不结球白菜维生素 C 积累与相关酶活性的研究[J].西北植物学报,2007,27(11):2240-2244.
- [3] 刘永立,胡海涛,兰大伟.维生素 C 的生物合成及其基因调控研究进展[J].果树学报,2006,23(3):431-436.
- [4] 王艳颖,姜国斌,胡文忠,等.高效液相色谱法测定草莓中维生素 C 含量[J].大连大学学报,2006,27(2):21-22,26.
- [5] 叶秀东,周国燕,华泽钊,等.水分含量对草莓玻璃化转变温度的影响[J].食品科学,2006(11):71-73.
- [6] Smirnoff N. The function and metabolism of ascorbic acid in plants [J]. Ann Bot, 1996, 78: 661-669.
- [7] 陈曼云,周运听,阮仙菊,等.碘滴定法测定杨梅维生素 C[J].中国果树,1989(3):43-45.

- [8] 江苏省农科院综合实验室. GB 6195-86 水果、蔬菜维生素 C 含量测定法(2,6-二氯酚液)[S].北京:中国标准出版社,1986.
- [9] 田世龙,任根德,朱友春.荧光法测定果蔬维生素 C 的改进[J].甘肃农业科技,1991(4):24-25.
- [10] 李志英,赵二芳,张海容.紫外分光光度法测定沙棘中维生素 C 含量[J].山西大学学报:自然科学版,2003,26(4):339-340.
- [11] 孙义.水果和蔬菜中维生素 C 含量的测定方法综述[J].天津化工,2008,22(3):58-59.
- [12] 臧荣春,马志超.水果和蔬菜中维生素 C 的全量分析[J].浙江农业大学学报,1991,17(2):180-184.
- [13] 李军.紫外分光光度法测定果蔬中的维生素 C [J].河北职业技术学院学报,2000,14(1):41-44.