

苄基三乙基氯化铵增敏阻抑动力学光度法 测定食品中的柠檬酸

倪秀珍¹, 王晓菊²

(1. 长春师范学院生命科学学院, 吉林长春 130032) (2. 长春师范学院化学学院, 吉林长春 130032)

摘要: 在 HAc 溶液中, 柠檬酸对 NO₂ 催化 KBrO₃ 氧化苯胺蓝的褪色反应具有抑制作用, 阳离子表面活性剂苄基三乙基氯化铵对此体系有强烈增敏作用, 据此建立了阻抑动力学光度法测定痕量柠檬酸的新方法。研究了吸收光谱、试剂用量、干扰离子等因素的影响, 测定了动力学参数。在最佳实验条件下, 阻抑反应与非阻抑反应体系在 600nm 处的吸光度差值与柠檬酸的质量浓度在 4~128 μg/L 范围内呈良好线性关系, 检测限为 3.09×10⁻⁶ g/L。催化反应为动力学零级反应, 表观活化能为 138.2 kJ/mol, 反应速率常数为 2.16×10⁻³ mol/Lmin。在表面活性剂存在下, 灵敏度提高 2.6 倍。此法用于汽水中柠檬酸的测定, 结果满意。

关键词: 苄基三乙基氯化铵; 阻抑; 动力学光度法; 柠檬酸; 苯胺蓝; 溴酸钾

文章编号: 1673-9078(2012)12-1822-1825

Inhibitory Kinetic Spectrophotometric Determination of Citric Acid with Benzyltriethylammonium Chloride as Sensitizer

NI Xiu-zhen¹, WANG Xiao-ju²

(1. College of Life Science, Changchun Teachers' College, Changchun 130032, China)

(2. College of Chemistry, Changchun Teachers' College, Changchun 130032, China)

Abstract: A new inhibitory catalytic kinetic spectrophotometric method for the determination of trace amount of citric acid was developed based on that citric acid can inhibit the discoloration of the catalytic oxidation reaction of Spirit Blue with KBrO₃ by NO₂ in the presence of HAc solution using cationic surfactant of Benzyltriethylammonium chloride as a sensitizer. The effects of the factors such as absorption spectra, acidity, concentrations of reagent and coexisting ions, on the reaction are discussed and the kinetic conditions were studied. Under the optimum conditions, good linear relationship was obtained between absorbance difference (ΔA) of the inhibited system and non-inhibited system at 520 nm and the concentration of citric acid in the range of 4~128 μg/L with the detection limit of 3.09×10⁻⁶ g/L. The catalytic reaction was the zero-order reaction and apparent activation energy of the catalytic reaction 138.2 kJ/mol, and the reaction rate constant was corresponding to 2.16×10⁻³ mol/Lmin. The sensitivity was increased by 2.6 times than in the absence of the surfactant. The method can be used for the determination of citric acid in water with satisfactory result.

Key words: benzyltriethylammonium chloride; inhibition; kinetic spectrophotometry; citric acid; spirit blue; potassium bromate

橙汁中富含有机酸、维生素、还原糖, 是一种深受人们喜欢的饮料。随着果汁饮料业的不断发展, 消费者要求对橙汁不仅有丰富的营养, 而且还有良好的口感和色泽, 因此对橙汁的内部品质检测显得尤为重要。不同的果汁中有机酸的种类及含量差别较大, 橙汁中柠檬酸的含量较高, 对其品质有着直接的影响。因此, 柠檬酸的分析不但对水果及其加工品的品质评定有一定意义, 而且测定橙汁中的柠檬酸含量可以用

收稿日期: 2012-07-10

作者简介: 倪秀珍 (1967-) 女, 硕士, 副教授, 从事生物化学与食品卫生保健学的教学与研究

通讯作者: 王晓菊 (1962-), 女, 教授, 催化动力学痕量分析

于果汁鉴别饮料的掺假, 因此研究食品中柠檬酸的测定是有意义的。目前测定柠檬酸的常用方法有很多^[1-6], 这些方法中有的方法样品处理复杂, 不易操作, 催化动力学光度法灵敏度高, 设备简单, 操作方便, 在生产、科研中应用广泛, 是目前测定痕量物质的主要方法之一, 日益受到分析工作者的重视, 在痕量柠檬酸的测定中已有应用^[7-8]。水溶性苯胺蓝 (C₃₂H₂₅N₃O₉S₃Na₂, ABW S) 是一种三苯甲烷染料衍生物, 水溶液呈蓝色, 常用作催化动力学分析指示剂^[9-10], 但以 KBrO₃-苯胺蓝-HAc 体系测定痕量柠檬酸

尚未见报道。

实验研究发现,在 HAc 溶液中,柠檬酸对 NO₂⁻ 催化 KBrO₃ 氧化苯胺蓝的褪色反应具有抑制性作用,加入阳离子表面活性剂苄基三乙基氯化铵后,使测定方法线性范围变宽,方法灵敏度提高 2.6 倍。据此建立了一种较好选择性和较高灵敏度的表面活性剂增敏阻抑动力学光度法测定痕量柠檬酸新方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

723可见分光光度计(上海元析仪器有限公司);SYC-15超级恒温水浴(南京桑力电子设备厂);1810-B 石英自动双重纯水蒸馏器(由金坛市金分仪器有限责任公司提供厂);ATL-124电子分析天平(上海精密仪器仪表有限公司)。

柠檬酸溶液:用柠檬酸配成 1.0 g/L 的储备液,使用时逐级稀释成 1.0 μg/mL 标准溶液(现配现用);HAc 溶液: 0.4 mol/L; 苯胺蓝溶液(Spirit Blue, SB): 1.0×10⁻³ mol/L; KBrO₃ 溶液: 0.06 mol/L; 苄基三乙基氯化铵(BTEAC)溶液: 1.0×10⁻³ mol/L; NO₂⁻ 溶液(新配制): 400 μg/mL。其它试剂为分析纯,水为亚沸蒸馏水。

1.2 实验方法

在两支 25 mL 的比色管中分别依次加入 0.3 mL 苯胺蓝, 2.0 mL HAc 溶液, 1.0 mL BTEAC, 0.5 mL NO₂⁻ 溶液, 其中一支加入一定量的柠檬酸标准工作溶液(阻抑反应体系), 另一支不加(非阻抑反应体系), 然后再加入 2.0 mL KBrO₃, 用水稀释至刻度, 摇匀, 同时放入 85 °C 水浴中加热 20 min, 迅速取出, 冰水浴中冷却 20 min 终止反应。在 600 nm 处, 用 1.0 cm 比色皿, 分别测量阻抑体系的吸光度 A 和非阻抑反应的吸光度 A₀ 计算 ΔA=A-A₀。

2 结果与讨论

2.1 反应条件的选择

2.1.1 吸收光谱

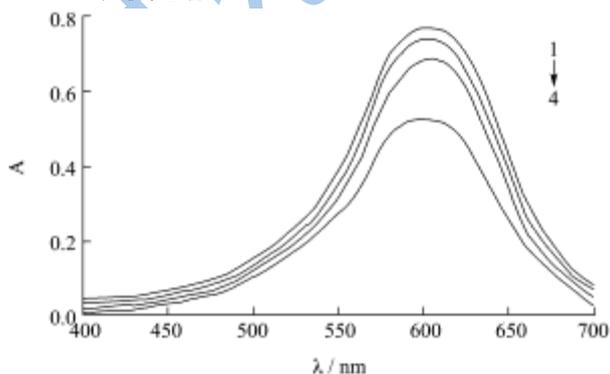


图 1 吸收光谱

Fig.1 Absorption spectra

注: 1-SB+ KBrO₃+ NO₂⁻+ HAc+ citric acid (40 μg/L); 2-SB + KBrO₃+ NO₂⁻+ H₂SO₄+ BTEAC+ citric acid (40 μg/L); 3-SB + HAc+ NO₂⁻+ KBrO₃; 4-SB+ HAc+ NO₂⁻+ KBrO₃+ BTEAC。

配制不同组分的溶液, 按实验方法反应后, 在 400~700 nm 波长范围内绘制吸收曲线(如图 1 所示), 图中四条线形状一致, 最大吸收峰均在 600 nm 处, 故选 600 nm 作为测定波长。从图 1 中曲线 1 与曲线 3 相比较可知, 在 HAc 溶液介质中, 柠檬酸对 NO₂⁻ 催化 KBrO₃ 氧化苯胺蓝的褪色反应具有抑制作用, 使吸收光谱波峰上升, 曲线 2 与曲线 4 的吸光度差值和曲线 1 与曲线 3 差值相比较, 可知加入表面活性剂 BTEAC 后, ΔA 增大, 表明 BTEAC 具有增敏作用。

2.1.2 表面活性剂及用量

研究了溴代十六烷基吡啶、氯代十六烷基吡啶、十二烷基磺酸钠、苄基三乙基氯化铵、琥珀酸二异辛酯碳酸、十六烷基三甲基溴化铵等各类表面活性剂对本指示反应的影响, 表面活性剂浓度均为 1×10⁻³ mol/L, 用量 1.0 mL, 测其 ΔA。实验结果表明苄基三乙基氯化铵(BTEAC)对该指示反应增敏效果最好。故本法选用 BTEAC 铵为增敏剂。其用量有为 0.8~1.4mL 时 ΔA 值最大, 所以选择 BTEAC 用量为 1.0 mL (见图 2)。

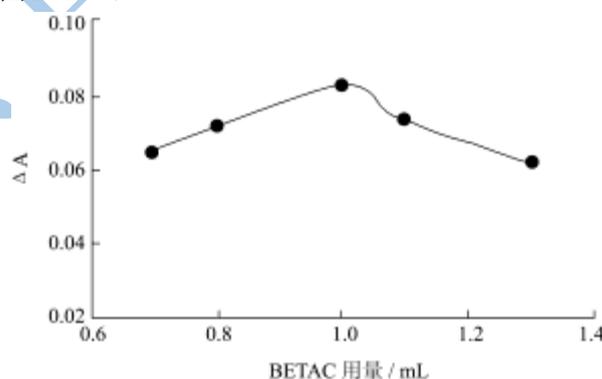


图2 BTEAC用量的影响

Fig.2 Effect of -BTEAC content on absorbance difference

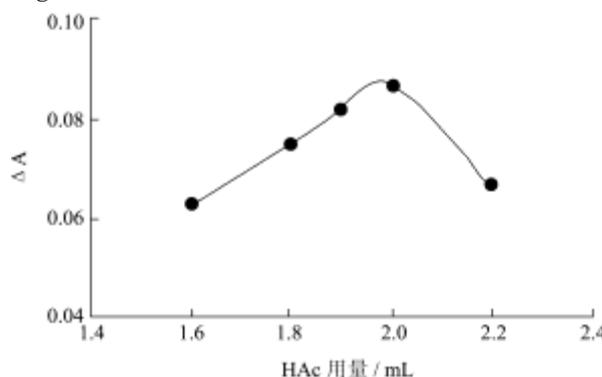


图3 HAc用量的影响

Fig.3 Effect of HAc content on absorbance difference

2.1.3 溶液反应介质的影响

试验了 HAc、HCl、HAc-NaAc、NH₄Cl-NH₃·H₂O、硼酸—硼砂、H₂SO₄ 等多种介质,实验发现在 0.4 mol/L HAc 溶液介质中,用量在 1.8~2.2 mL 时,ΔA 最大,且稳定重复性好,所以本法选择 0.4 mol/L HAc 溶液用量 2.0 mL (见图 3)。

2.1.4 试剂用量的影响

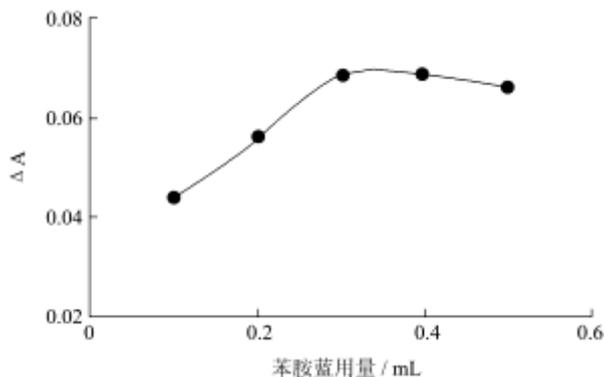


图4 苯胺蓝用量的影响

Fig.4 Effect of Spirit Blue content on absorbance difference

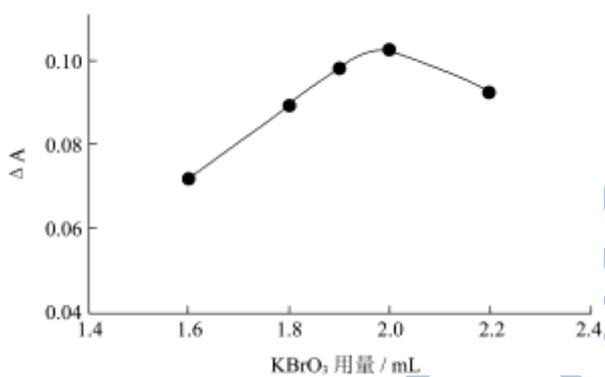


图5 KBrO₃用量的影响

Fig.5 Effect of KBrO₃ content on absorbance difference

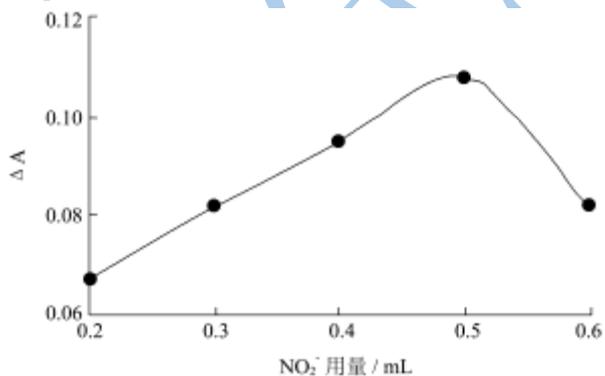


图6 NO₂⁻用量的影响

Fig.6 Effect of NO₂⁻ content on absorbance difference

在相同实验条件下固定 HAc、BTEAC、NO₂⁻ 的用量,按实验方法试验苯胺蓝用量,结果表明苯胺蓝用量在 0.1~0.5 mL 时,ΔA 达到最佳,所以选择苯胺蓝指示剂实际用量为 0.3 mL (见图 4)。仅改变 KBrO₃ 用量,当 KBrO₃ 用量为 1.8~2.2 mL 时,ΔA 最大。所

以本法选择 KBrO₃ 用量为 2.0 mL (见图 5)。仅改变 NO₂⁻ 的用量,当 400 μg/mL NO₂⁻ 溶液其用量为 0.2~0.7 mL 时,ΔA 达最大,所选择 NO₂⁻ 用量 0.5 mL (见图 6)。

2.1.5 加热时间和反应速率常数测定

按试验方法,仅改变反应加热时间。实验表明,在 1~20 min 内,ΔA 与时间呈线性关系,说明阻抑反应为动力学零级反应。曲线回归方程为: $\Delta A = -2.16 \times 10^{-3} t + 0.013$ 速率常数 k 为 2.16×10^{-3} mol/Lmin。实验选择加热时间为 20 min,并在冰水中冷却 20 min 可有效终止反应。吸光度稳定 6 h 不变。

2.1.6 反应温度和表观活化能的测定

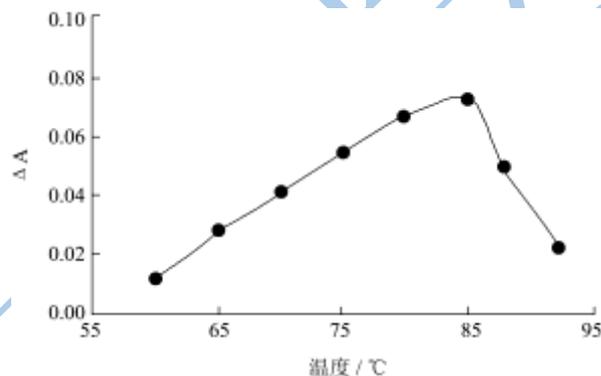


图7 温度的影响

Fig.7 Effect of Temperature on absorbance difference

改变反应温度,其他反应条件不变,测定 ΔA 值。实验表明,该反应在 50 °C 以下 A₀、A 值无显著差异,超过 70 °C 时反应迅速加快,阻抑反应速率明显加大,85 °C 时 ΔA 值达到最大,所以实验选用 85 °C 水浴加热 (见图 7)。

根据阻抑反应体系在 75 °C~85 °C 条件下溶液吸光度随时间变化关系曲线,求出反应速率常数 k,用 -lnk 对 1/T (开尔文温度 K) 作图得直线方程,求得阻抑反应表观活化能 $E_a = 138.2$ kJ/mol。

2.2 工作曲线和分析灵敏度

按实验方法,在最佳条件下,加入一系列不同量的柠檬酸标准溶液按实验方法进行测定,绘制工作曲线。柠檬酸的质量浓度 C 与 ΔA 在 4~128 μg/L 范围内呈线性关系,其回归方程为 $\Delta A = 3.11 \times 10^{-3} C (\mu\text{g/L}) + 0.022$,相关系数 $R = 0.9979$,对空白进行 11 次测定,计算标准偏差 $S_{bc} = 3.2 \times 10^{-3}$ (n=11) 及工作曲线的斜率计算本法的检出限为 $C_L = 3S_{bc}/K = 3.09 \times 10^{-6}$ g/L。

同时当体系中不加入表面活性剂时,ΔA 与柠檬酸质量浓度 C 在 4~100 μg/L 范围内有线性关系,其曲线回归方程为: $\Delta A = 1.14 \times 10^{-4} C (\mu\text{g/L}) + 0.0132$,相关系数 $r = 0.9916$ 。由此可见,加入增敏剂以后,曲线的斜率增大 2.6 倍。所以加入增敏剂后,灵敏度提高了近 2.6 倍。

2.3 共存离子的影响

按实验方法,考察了常见无机及有机物质对体系的影响。对25 mL溶液中含当1.0 μg柠檬酸进行实验测定,在相对误差不大于±5%时,共存物的允许倍数为:1000倍以上的K⁺、Na⁺、SO₄²⁻、PO₄³⁻、NH₄⁺、Ba²⁺; 500倍的Ca²⁺、Mg²⁺、Pb²⁺; 200倍的Al³⁺、F⁻; 100倍的I⁻、Br⁻、V(V)、水杨酸、Cl⁻; 50倍的苹果酸、乳酸、苯甲酸、酒石酸; 30倍的草酸、抗坏血酸等不干扰柠檬酸的测定。

2.4 样品分析

将不同厂家生产的汽水适当稀释,取一定量按实验方法进行分析测定,并做加标回收实验,结果列于表1。

表1 样品测定结果

Table 1 Determination results of citric acid in samples(n=6)

试样	测得值/(μg/L)		相对标准偏差 RSD/%	柠檬酸 加入量/ (mg/mL)	测得 总量 (mg/mL)	回收 率/%
	本法/ (mg/mL)	平均值 (mg/mL)				
	2.25,2.39					
汽水	2.28,2.38	2.32	3.15	2.0	4.29	98.5
	2.23,2.38					

3 结论

3.1 基于 HAc 溶液和苄基三乙基氯化铵存在下,柠檬酸对 NO₂ 催化 KBrO₃ 氧化苯胺蓝的褪色反应具有抑制作用,据此建立了较好选择性和较高灵敏度的抑制动力学光度法测定痕量柠檬酸的新方法。

3.2 该方法测定范围为 4~128 μg/L, 检出限为

3.09×10⁻⁶ g/L, 并具有操作方便、简单、灵敏度及重现性好等优点。在表面活性剂存在下,灵敏度提高 2.6 倍,将其应用于汽水中柠檬酸的分析并进行了加标回收实验,结果满意。

参考文献

- [1] 谢国海,陈志强,叶章群,等.离子交换色谱同时测定尿液草酸及柠檬酸的研究[J].色谱,2006,21(5):365-366
- [2] 李振林.葡萄酒中糖精钠、甜蜜素和柠檬酸的测定[J].酿酒,2007,34(4):104
- [3] 王迪,张强,韩东.用毛细管电泳测定发酵液中柠檬酸的含量[J].分析与测试,2000,29(6):34-36
- [4] Moreno-Cid A, Yebra M C, Santos X. Flow injection determinations of citric acid: a review [J]. Talanta, 2004, 63(3): 509-514
- [5] 张慧,丁健桦,邱昌福,等.三相液相微萃取-高效液相色谱法测定饮品中有机酸[J].现代食品科技,2009,25(3):327-330, 336
- [6] 王俊华,杨洁,申彤.乳酸发酵胡萝卜汁中有机酸的HPLC测定[J].现代食品科技,2006,22(4):235-238
- [7] 丁素芳,晋红梅,朱守圃.活化催化动力学光度法测定柠檬酸[J].中国卫生检验杂志,2009,19(7):1520-1521
- [8] 倪秀珍,王晓菊.乳化剂增敏抑制动力学光度法测定痕量柠檬酸的研究[J].中国酿造,2010,10:154-155
- [9] 翟好英,郑开秀,黄成华.苯胺蓝增色光度法测定食盐中的碘[J].分析实验室,2007,26(7):45-47
- [10] 黄典文,卢业玉,程建洪.氧化苯胺蓝褪色光度法测定微量铬[J].分析实验室,2001,20(5):72-73