

· 研究简报 ·

## $^1\text{H}$ NMR 测定果汁中的糖份

范世彦 杨舜娟 李考锋

(测试中心, 化学系)

### 摘 要

本文在  $^1\text{H}$  NMR 中用 WATR 法直接测定和比较了不同果汁中葡萄糖和蔗糖的存在。WATR 法在观察频率 89.55 MHz 和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  为质子交换试剂时, 稀水溶液最佳的测定条件是  $\text{pH} \sim 6.2$  和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  浓度为 0.5—1.0 M。

**关键词**  $^1\text{H}$  NMR, WATR 法, 果汁成份

新鲜果汁成份的测定方法很多, 如高压液相色谱法、气相色谱法、薄层色谱法和分光光度法等, 这些方法都需经过一些分离。用  $^1\text{H}$  NMR 法直接测定新鲜果汁的成份, 具有方法简便, 分析速度快等优点。

但是, 由于水共振峰相当大, 遮盖了样品谱图中大部份的共振峰, 且观察不到强度弱的共振峰。本文采用 WATR 法<sup>[1]</sup>消除了果汁中的水峰, 从而观察到果汁的化学成份的共振峰。

WATR 法是在稀水溶液中加入质子交换试剂, 仅降低水共振峰的自旋-自旋弛豫时间 ( $T_2$ ), 但不影响或较少影响其它共振峰的  $T_2$ , 然后用 CPMG 脉冲系列, 选择适当的自旋-自旋弛豫过程, 使  $T_2$  已降低的水共振峰的强度降低至近似零, 而观察到  $T_2$  比水共振峰  $T_2$  长的果汁中的化学成份的共振峰, 从而得到果汁中的化学成份的  $^1\text{H}$  NMR 谱。

$T_2$  值本身和很多因素有关, 如质子交换试剂的浓度, 溶液的 pH 值和性质, 仪器的磁场强度等。本文首先研究了有稀水溶液中加入质子交换试剂, 观察水中氢质子的共振峰的  $T_2$  值和磁场强度, 溶液 pH 及质子交换试剂的浓度的关系, 以确定在观察频率 89.55 MHz 时用 WATR 法测定  $^1\text{H}$  NMR 谱的最佳溶液条件, 然后测定了橙汁等 8 种果汁的  $^1\text{H}$  NMR 谱。

### 1 实验部分

1.1 WATR 法条件的选择 不同浓度的  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 用  $\text{HCl}$  或  $\text{NaOH}$  调节溶液的 pH, 分别吸取 0.45 ml 溶液到样品管, 加入 0.05 ml  $\text{D}_2\text{O}$  (用作锁场), 在 JEOL 公司 FX-90Q NMR 仪上用 CPMG 脉冲系列测定  $T_2$  值。

本文1988年3月14日收到

1.2 果汁的  $^1\text{H}$  NMR 谱的测定 新鲜水果洗净、去皮、挤汁和离心分离,取滤液加入固体  $\text{NH}_4\text{Cl}$  配成浓度为 1M,用  $\text{HCl}$  或  $\text{NaOH}$  调节  $\text{pH} \sim 6.2$ ,量取以上果汁 0.45ml,加入 0.05ml  $\text{D}_2\text{O}$ , DSS 为内标,测  $^1\text{H}$  NMR 谱.测定参数:观察频率 89.55MHz,谱宽 1000Hz,观察偏置 54.56KHz,  $\text{PI} = 0.0003$  秒,脉冲延迟时间 5 秒,LOOP 由溶液性质决定.

葡萄糖和蔗糖的稀水溶液的  $^1\text{H}$  NMR 测定条件与果汁同.

## 2 结果和讨论

不同浓度的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  和不同  $\text{pH}$  的水溶液测得水质子的  $T_2$  值(图 1).从图 1 可见,随  $\text{NH}_4\text{Cl}$  浓度增加,水质子  $T_2$  最小值降低,它们间的关系见表 1.

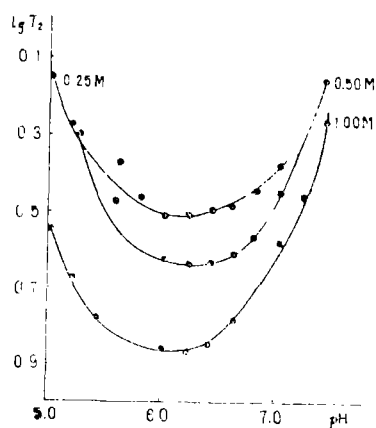


图 1 水质子的  $T_2$  值和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  浓度及  $\text{pH}$  值的关系

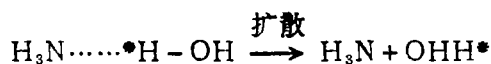
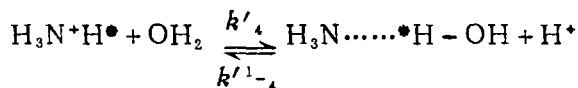
Fig.1 pH dependence of the  $T_2$  value of the water protons on solutions with different concentration of  $\text{NH}_4\text{Cl}$

表 1 水质子的  $T_2$  最小值、 $[\text{NH}_4\text{Cl}]$  和观察频率的关系

Tab. I The relation between minimum  $T_2$  value of water proton and concentration of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  at observe frequency

| $[\text{NH}_4\text{Cl}]$<br>(M) | 水质子 $T_2$ 最小值 (秒) |                           |
|---------------------------------|-------------------|---------------------------|
|                                 | 90MHz             | 360~400MHz <sup>(1)</sup> |
| 0.25                            | 0.33              | 0.046                     |
| 0.05                            | 0.24              | 0.028                     |
| 1.00                            | 0.14              | /                         |

当  $\text{NH}_4\text{Cl}$  浓度一定时,  $T_2$  值和溶液的  $\text{pH}$  值有关,但不同浓度的  $\text{NH}_4\text{Cl}$  的  $T_2$  最小值都在  $\text{pH} 6.2$  左右.这因为本实验是在稀水溶液中加入质子交换试剂— $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  中的  $\text{H}$  和水中的  $\text{H}$  发生了质子交换



质子交换速率和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  浓度及  $\text{pH}$  值有关<sup>(3)</sup>

$$\text{质子交换速率} = k'_{+4} [\text{NH}_4^+] \frac{k'_H}{k'_H + k'_{-4}} [\text{H}^+]$$

$T_2$  值又和质子交换速率有关,换句话说,  $T_2$  值和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  浓度及溶液的  $\text{pH}$  有关.  $T_2$  值和 NMR 谱仪的磁场强度的关系,从表 1 可知当  $\text{NH}_4\text{Cl}$  浓度为 0.50M 时,观察频率为

360MHz的 $T_2$ 最小值是观察频率为90MHz时的1/9左右,这说明了当 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 中的H和水中的H相互交换后,水质子的自旋—自旋弛豫的机理是以偶极—偶极相互作用的机理为主<sup>[4]</sup>,因而 $T_2$ 值和谱仪的磁场强度有关,当磁场强度增大, $T_2$ 值降低,因此用WATR法消除水峰测 $^1\text{H}$  NMR时,磁场强度越大越好。

在观察频率为89.55MHz的NMR谱仪上,以 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 为质子交换试剂,用WATR法测 $^1\text{H}$  NMR的水溶液最佳条件为 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 浓度0.5—1.0M,pH~6.2。用此条件测得的果汁的 $^1\text{H}$  NMR谱图见图2,其它果汁的 $^1\text{H}$  NMR的数据见表2。

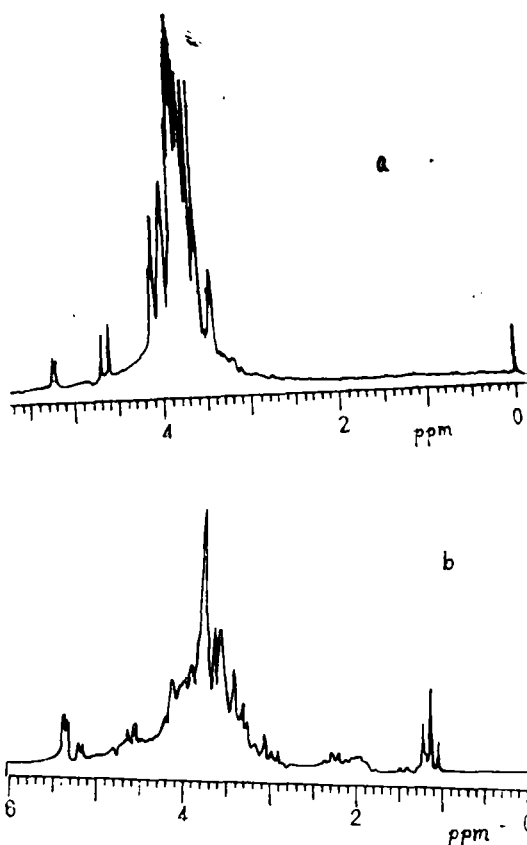


图2 新鲜果汁的 $^1\text{H}$  NMR谱

a 西瓜汁, b 广东梅县柚

Fig.2  $^1\text{H}$ -NMR Spectra of fresh watermelon juice and grape fruit juice

表2 新鲜果汁的 $^1\text{H}$  NMR  $\delta$   
Tab.2 The  $^1\text{H}$ -NMR  $\delta$  of fresh fruit juice

| 果 汁   | $\delta$ (ppm)                                                                     |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 橙 汁   | 1.12, 1.18, 1.25, 1.8—2.5 (宽峰), 3.0—4.2 (22个峰), 4.60, 4.69, 5.21, 5.23, 5.40, 5.42 |
| 菠 萝 汁 | 3.3—4.3 (11个峰, 其中 3.82 为一大单峰), 4.62, 4.69, 4.82, 5.21, 5.24, 5.40, 5.42            |
| 西 瓜 汁 | 3.2—4.2 (16个峰), 4.60, 4.69, 5.21, 5.23,                                            |
| 苹 果 汁 | 3.2—4.2 (15个峰), 4.60, 4.69, 5.21, 5.23, 5.39, 5.42                                 |

|               |                                                                                                                                            |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 柑 汁           | 1.12, 1.18, 1.25, 1.8—2.5 (宽峰), 2.9—4.3<br>(23个峰), 4.60, 4.69, 5.21, 5.23, 5.40, 5.42                                                      |
| 柚 汁<br>(广东梅县) | 1.12, 1.18, 1.25, 1.42, 1.50, 1.8—2.25 (宽峰), 2.12,<br>2.22, 2.32, 2.44, 2.6—4.2 (17个峰, 其中3.82为一大单峰)<br>4.60, 4.69, 5.21, 5.23, 5.40, 5.42, |
| 柚 汁<br>(广西容县) | 1.42, 1.50, 1.8—2.5 (宽峰), 2.8—4.3 (21个峰, 其中<br>3.28为一大单峰)                                                                                  |
| 梨 汁           | 3.1—4.1 (18个峰) 4.60, 4.69 5.21, 5.23,                                                                                                      |
| 葡 萄 糖         | 3.42, 3.53, 3.57, 3.62, 3.78, 4.60, 4.69, 5.20, 5.23,                                                                                      |
| 蔗 糖           | 3.56, 3.61, 3.66, 3.80, 4.05, 4.17, 5.35, 5.42                                                                                             |

根据以上这些数据, 可以得出以下结论: ①在稀水溶液中, 用WATR法测得葡萄糖的 $^1\text{H}$  NMR谱中, 有二对双峰,  $\delta$  (ppm) 为4.60, 4.69 5.20和5.23, 而蔗糖有一对双峰5.38和5.42。②橙汁、菠萝汁、苹果汁、柚汁和柑汁都有4.60、4.69、5.20、5.23、5.39和5.42共振峰, 根据这些果汁可能含有的成份<sup>[5]</sup>, 确定这些果汁含有葡萄糖和蔗糖。③梨汁和西瓜汁只有4.60、4.69、5.21和5.24共振峰, 即只含有葡萄糖, 不含有蔗糖。④广东梅县产的柚汁在1.2处显示一组三重峰, 而广西容县产的柚汁没有这组三重峰, 所以不同产地的水果的成份会有所不同。

### 参 考 文 献

- [1] D.L. Rabenstein and S. Fan, *Anal. Chem.*, 58(1986), 3178—3182.
- [2] 王金山, 核磁共振波谱仪与实验技术, 机械工业出版社, 北京, 1982, 486.
- [3] M.T. Emerson, E. Grunwald, M. L Kaplan & R.A. Kromhout, *J. Am. Chem. Soc.*, 82(1960), 6307.
- [4] D. Shaw, *Fourier Transform NMR Spectroscopy*, Elsevier Science Publishers, New York, 1984, 249—291.
- [5] G.J 迪克斯和P.V. 尼柯拉斯, 食品分析的气相色谱法, 轻工业出版社, 北京, 1987, 304—339.

## Determination of Carbohydrate Components of Fruit Juice by $^1\text{H}$ NMR

Fan Shiyan Yang Suenjuan Li Kaozheng

### Abstract

WATR method of  $^1\text{H}$  NMR has been applied to direct determination of fresh fruit juice at the observe frequency of 89.55 MHz, proton exchange reagent 0.5—1.0 M  $\text{NH}_4\text{Cl}$  solution and  $\text{pH}=6.2$ . Thus the carbohydrate components of various fruit juice were determined.

**Keywords**  $^1\text{H}$  NMR, WATR, fruit juice