

DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2024.23.023

# 分光光度法快速测定反式乌头酸

董维璇<sup>1</sup>, 陈佳磊<sup>1</sup>, 徐泽宇<sup>1</sup>, 薛鲜丽<sup>1</sup>, 王德培<sup>1,2\*</sup>

(1. 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457; 2. 工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津 300457)

**摘要:** 该文基于反式乌头酸还原高锰酸钾并使其褪色, 建立以高锰酸钾为底物, 分光光度计快速测定反式乌头酸含量的方法。该检测方法最佳检测波长 410 nm, 高锰酸钾最佳反应浓度为 2.0 g/L, 反应体积 2.0 mL, 反式乌头酸样品 1 mL, 在温度 35 °C、反应时间 8 min 时终止。反式乌头酸浓度在 0.35~0.53 g/L 范围内, 吸光度与其浓度呈现线性关系。该方法测定反式乌头酸含量, 相关系数  $R^2$  为 0.997 6, 回收率为 98%~102%, 是一种可快速检测发酵液中反式乌头酸含量的可靠、便捷的方法。

**关键词:** 反式乌头酸; 高锰酸钾; 分光光度法; 氧化还原反应; 快速测定

## Rapid Determination of *Trans*-Aconitic Acid by Spectrophotometry

DONG Weixuan<sup>1</sup>, CHEN Jialei<sup>1</sup>, XU Zeyu<sup>1</sup>, XUE Xianli<sup>1</sup>, WANG Depei<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Biological Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2. Engineering Research Center of Food Biotechnology of Ministry of Education, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** *Trans*-aconitic acid can reduce potassium permanganate and lead to color fading. On this basis, a method for the rapid determination of *trans*-aconitic acid concentration was established based on spectrophotometry. The optimal conditions of this method were detection wavelength of 410 nm, potassium permanganate of 2.0 g/L, reaction system of 2.0 mL, *trans*-aconitic acid sample of 1 mL, and reaction at 35 °C for 8 min. The absorbance showed a linear relationship with the concentration of *trans*-aconitic acid within the range of 0.35–0.53 g/L. The  $R^2$  was 0.997 6 and the recovery was between 98% and 102%. Indicating that the method can be used to determine the concentration of *trans*-aconitic acid in the fermentation broth.

**Key words:** *trans*-aconitic acid; potassium permanganate; spectrophotometry; redox reaction; rapid determination

引文格式:

董维璇, 陈佳磊, 徐泽宇, 等. 分光光度法快速测定反式乌头酸[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(23): 173-177.

DONG Weixuan, CHEN Jialei, XU Zeyu, et al. Rapid Determination of *Trans*-Aconitic Acid by Spectrophotometry[J]. Food Research and Development, 2024, 45(23): 173-177.

乌头酸(*aconitic acid*), 亦称丙烯-1, 2, 3-三羧酸, 源于乌头属植物(*Aconitum napellus*), 是甘蔗中富含的有机酸之一<sup>[1]</sup>。化学式  $C_6H_6O_6$ , 分子量 174.108 g/mol, 密度 1.66 g/cm<sup>3</sup>, 熔点 194~195 °C, 在自然界中存在顺式乌头酸(*cis*-*aconitic acid*, CAA)和反式乌头酸(*trans*-*aconitic acid*, TAA)两种异构体。二者分子结构的差异在于一位碳原子(C1)所在羧基基团(—COOH)朝向不同, 若 C1 与 C6 所在—COOH 位于不饱和双键(C2=C3)同侧, 则为顺式构象; 若二者位于不饱和双键的两侧, 则为反式构象。CAA 与 TAA 极性较强, 易溶于水和

乙醇<sup>[2]</sup>。反式乌头酸外观为白色叶状或片状结晶, 常温常压下性能稳定。反式乌头酸作为一种抗氧化剂、增塑剂和润滑剂, 主要用于工业有机合成中, 除了参与核心代谢和用作食品添加剂外, 反式乌头酸还具有杀线虫<sup>[3]</sup>和抗水肿作用<sup>[4]</sup>。

反式乌头酸的生产主要通过工业化学合成途径<sup>[5]</sup>, 主要包括丙烷-1, 1, 2, 3-四羧基化合物的皂化、脱氯化氢反应以及对产生的丙烯四羧酸产物的硫酸酸化处理等步骤, 整个流程会产生许多副产物, 如异柠檬酸内酯。因此, 反应后续的纯化环节为反式乌头酸的生

作者简介: 董维璇(2000—), 男(汉), 硕士研究生, 研究方向: 发酵工程

\*通信作者: 王德培(1972—), 女(汉), 教授, 研究方向: 微生物代谢工程。

产增加了复杂度和成本,反式乌头酸尚未实现工业化生产<sup>[6]</sup>。目前所选用的反式乌头酸发酵菌株,如玉米黑粉菌、大肠杆菌<sup>[7]</sup>、土曲霉、黑曲霉等,通过基因工程改造关键基因的表达之后进行发酵,产量也很难大幅度提高。由于生物科学和基因工程的进步,利用分子生物学的手段对菌株相关基因定向改造来提高乌头酸产量的研究已经广泛进行,而如何迅速且有效地鉴定高产反式乌头酸的菌种则是一个迫切需要解决的难题。

目前,反式乌头酸的测定方法有醋酐吡啶显色法<sup>[8]</sup>、高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法<sup>[9]</sup>等。然而醋酐吡啶显色法反应时间需要 30 min,反应发热很高,并且吡啶和醋酐均属于有毒、易燃、易爆物质;高效液相色谱法则需要提前准备样本,而且单个样品的检测周期相对较长,不能实现实时、快速检测<sup>[10]</sup>;基于已有的检测方法,倘若能构建出一种与反式乌头酸浓度相关联的显色反应,就可以实现对反式乌头酸的快速测定。由于反式乌头酸具有活泼的碳碳双键结构,可以快速被高锰酸钾所氧化,并且使高锰酸钾迅速变色,所以,可通过观察高锰酸钾颜色变化的同时<sup>[11]</sup>以分光光度法进行快速检测<sup>[12]</sup>,目前,高锰酸钾分光光度法已经用于苯胺<sup>[13]</sup>和维生素 B<sub>1</sub><sup>[14]</sup>等物质的检测。

反式乌头酸是一种重要的有机化合物,选择一种适当简便的方法来测定反式乌头酸含量具有重要意义。本研究根据反式乌头酸分子中的碳碳双键具有较强的还原性,利用其在高锰酸钾溶液中的氧化还原能力使高锰酸钾褪色的特点<sup>[15-19]</sup>,对其反应条件进行深入的研究。为消除反式乌头酸分子中—COOH 解离释放的 H<sup>+</sup>干扰,本研究中的显色反应确定在酸性条件下进行,选择低浓度硫酸作为反应介质控制酸度<sup>[20-22]</sup>。在此基础上,建立高锰酸钾分光光度法测定发酵液中反式乌头酸浓度<sup>[23]</sup>,以期快速测定反式乌头酸提供参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试剂与amp;仪器

高锰酸钾(分析纯):天津市化学试剂一厂;反式乌头酸(分析纯):上海麦克林生化科技股份有限公司;硫酸(分析纯):天津市化学试剂供销公司;试验用水为去离子水。

752 紫外-可见分光光度计:伟华科技(天津)有限公司;BS-1 型电子分析天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;1200 型高效液相色谱仪:美国安捷伦科技有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标准溶液的配制

高锰酸钾标准溶液(10 g/L):准确称取 1 g 高锰酸

钾粉末溶于去离子水中,转移至 100 mL 容量瓶中并用去离子水定容,于避光处保存,使用时需要将其稀释至标准工作溶液 2.0 g/L。

反式乌头酸标准溶液(5 g/L):准确称取 0.5 g 反式乌头酸粉末溶于去离子水中,转移至 100 mL 容量瓶中并采用去离子水定容。

发酵培养基:葡萄糖 130 g/L、玉米浆干粉 5.62 g/L、NaNO<sub>3</sub> 2.3 g/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g/L、MgSO<sub>4</sub> 1 g/L、MnSO<sub>4</sub> 0.065 g/L、FeSO<sub>4</sub> 0.01 g/L。

#### 1.2.2 褪色反应生成物的测定

于 25 mL 比色管中分别加入 2 mL 高锰酸钾标准工作溶液,1 mL 不同稀释度反式乌头酸标准溶液,50 μL 2 mol/L 稀硫酸,在 35 °C 下反应 8 min 后,用去离子水定容至刻度线并摇匀,取 1 mL 于比色皿中,置于紫外-可见分光光度计,以去离子水空白为参比测定 410 nm 处反应体系的吸光度,同时测定相应试剂空白的吸光度。

#### 1.2.3 吸收波长的选择

按照 1.2.1 方法配制溶液,于比色管中分别加入 2 mL 高锰酸钾标准工作溶液、1 mL 不同稀释度反式乌头酸标准溶液、50 μL 2 mol/L 稀硫酸,在 30 °C 下反应 2 min 后,用去离子水定容至 25 mL 并摇匀,取 1 mL 于比色皿中,置于紫外-可见分光光度计,进行全波长扫描,同时测定培养基本身的吸光度,绘制吸收光谱。

#### 1.2.4 反应时间的确定

于比色管中分别加入 2 mL 高锰酸钾标准工作溶液、1 mL 反式乌头酸标准溶液、50 μL 2 mol/L 稀硫酸,摇匀,在 30 °C 下进行反应。固定反式乌头酸的浓度,考察不同反应时间(2~10 min)对体系吸光度的影响。

#### 1.2.5 反应温度的确定

于比色管中分别加入 2 mL 高锰酸钾标准工作溶液、1 mL 反式乌头酸标准溶液、50 μL 2 mol/L 稀硫酸,摇匀,考察不同反应温度(25、30、35、40、45、50 °C)对体系吸光度的影响。

#### 1.2.6 高锰酸钾浓度的确定

高锰酸钾与反式乌头酸发生氧化还原反应,高锰酸钾的浓度是影响该体系吸光度变化的关键因素,因此,固定反式乌头酸的浓度为 0.6 g/L 时,考察高锰酸钾浓度(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g/L)对体系吸光度的影响。

#### 1.2.7 标准工作曲线的绘制

准确移取不同体积 5 g/L 的反式乌头酸标准溶液,加入到 25 mL 比色管中,按照 1.2.2 方法测定 410 nm 处的吸光度 A,同时测定相应试剂空白的吸光度 A<sub>0</sub>,求出差值 ΔA=A-A<sub>0</sub>,绘制工作曲线。

#### 1.2.8 模拟发酵液试验

微生物发酵法是生产反式乌头酸的主要方法之一,在用微生物发酵法生产反式乌头酸的过程中可能

会产生一些其他不需要的有机酸。反式乌头酸发酵的最适原料是葡萄糖,除碳源外,反式乌头酸发酵过程还离不开某些水溶性无机盐。因此固定反式乌头酸浓度,定量加入到发酵培养基中,考察模拟发酵液中共存物质对体系吸光度的影响。

配制含有 0.4、0.5 g/L 反式乌头酸的模拟发酵液,按照 1.2.2 方法测定 410 nm 处的吸光度( $A_{410\text{ nm}}$ )、525 nm 处稀释 10 倍的空白培养基吸光度( $A_{525\text{ nm}}$ ),得到  $\Delta A = A_{525\text{ nm}} - A_{410\text{ nm}}$ ,代入标准工作曲线。

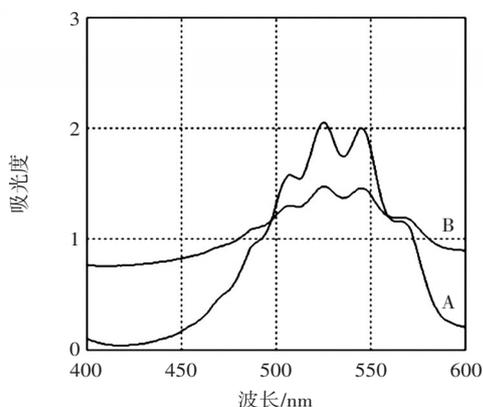
HPLC 检测条件:色谱柱 AminexHPX-87H,流动相为 0.49 g/L 的硫酸,流速 0.6 mL/min,柱温 60 °C,加样量 10  $\mu\text{L}$ ,紫外检测波长 210 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 吸收波长的确定

#### 2.1.1 高锰酸钾标准溶液吸收波长确定

标准高锰酸钾与空白培养基扫描吸收光谱见图 1。



A. 反应体系为 2 mL 高锰酸钾标准溶液(2 g/L)+1 mL 去离子水+50  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ (2 mol/L); B. 反应体系为 2 mL 高锰酸钾标准溶液(2 g/L)+1 mL 稀释 10 倍的空白培养基+50  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ (2 mol/L)。

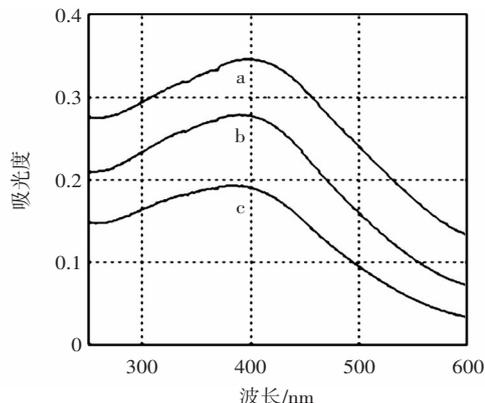
图 1 标准高锰酸钾与空白培养基扫描吸收光谱

Fig.1 Scanning absorption spectra of standard potassium permanganate and blank medium

由图 1 可知,用去离子水溶解高锰酸钾溶液呈紫红色,并以去离子水作空白对照,对其进行全波长扫描,发现其在 525 nm 处有最大吸收峰,吸光度为 2.05。为了排除培养基中组分对于反应体系的干扰,以液体培养基替代去离子水溶解高锰酸钾同样对其进行了全波长扫描,发现其在 525 nm 处存在最大吸收峰,吸光度为 1.47,其最大吸收波长没有变化,因此测定空白高锰酸钾溶液的吸收波长选择 525 nm。

#### 2.1.2 反式乌头酸与高锰酸钾反应产物吸收波长确定

不同浓度 TAA 与高锰酸钾反应全波长扫描吸收光谱图见图 2,为了试验结果更清晰,选取最大吸收波长区间(250~600 nm)进行绘图。



a、b、c 依次为 0.75、0.80、0.85 g/L 反式乌头酸溶液。

图 2 不同浓度 TAA 与高锰酸钾反应全波长扫描吸收光谱图  
Fig.2 Full-wavelength scanning absorption spectra of different concentrations of TAA reacting with potassium permanganate

由图 2 可知,不同浓度反式乌头酸与高锰酸钾反应均在 400 nm 左右出现最高吸收峰。以 0.85 g/L 的反式乌头酸溶液为例,在 400、410、420 nm 处分别测量反应后的吸光度,发现其在 410 nm 处呈现最大吸光度。因此,选择 410 nm 作为反应终止后的测定波长。

### 2.2 高锰酸钾与反式乌头酸检测体系的建立

#### 2.2.1 反应时间的确定

反应时间对吸光度的影响结果如图 3 所示。

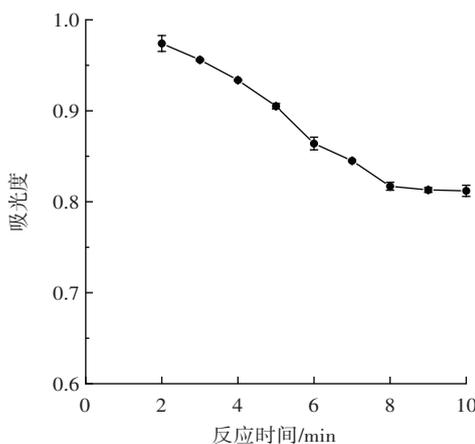


图 3 反应时间对吸光度的影响

Fig.3 Effect of reaction time on absorbance

图 3 结果表明,反应温度为 30 °C 时,反应时间为 2 min 时,吸光度较高,随着反应时间的延长,反式乌头酸与高锰酸钾进一步发生氧化还原反应,使反应体系颜色变浅,吸光度逐渐降低,在 8~10 min 吸光度趋于平稳,表明反应已进行完全,吸光度稳定,无明显变化,考虑到快速检测的目的,故选择反应时间为 8 min。

#### 2.2.2 反应温度的确定

反应温度对吸光度的影响结果如图 4 所示。

图 4 结果表明,当反应时间为 8 min 时,在反应温

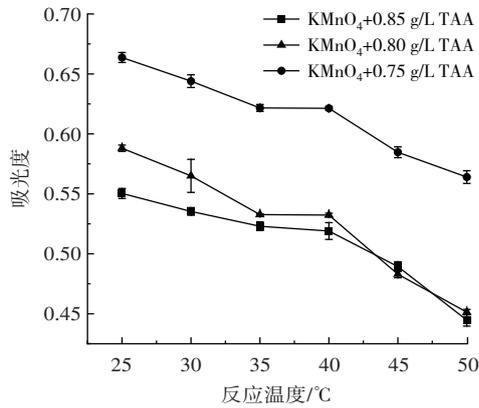


图4 反应温度对吸光度的影响

Fig.4 Effect of reaction temperature on absorbance

度 25 °C 下,吸光度较高,随着反应温度的升高,反应速度加快,吸光度逐渐降低,其中在 35~40 °C 吸光度出现拐点平台,吸光度基本平稳,无明显变化。而高于 40 °C 后,反式乌头酸与高锰酸钾进一步发生氧化还原反应使反应体系颜色变浅,吸光度逐渐降低,考虑到快速检测的目的,故选择反应温度为 35 °C。

### 2.2.3 检测体系中高锰酸钾浓度的确定

高锰酸钾是反式乌头酸的氧化剂,固定反式乌头酸的浓度为 0.6 g/L 时,考察高锰酸钾浓度对体系吸光度的影响,结果见图 5。



从左到右高锰酸钾浓度依次为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g/L。

图5 不同浓度高锰酸钾与 TAA 显色结果

Fig.5 Colors of the reactions systems of potassium permanganate with TAA at different concentrations

由图 5 可知,随着高锰酸钾浓度的增加,体系的颜色加深,体系的吸光度增加,当高锰酸钾的浓度为 2.5~3.0 g/L 时,溶液颜色过深,超过紫外-可见分光光度计可测量范围的最大值,故选择体系中高锰酸钾的浓度为 2.0 g/L。

### 2.3 标准工作曲线结果分析

标准工作曲线如图 6 所示。

由图 6 可知,反式乌头酸在 0.35~0.53 g/L 浓度范围内,其吸光度与其浓度呈线性关系,标准工作曲线的回

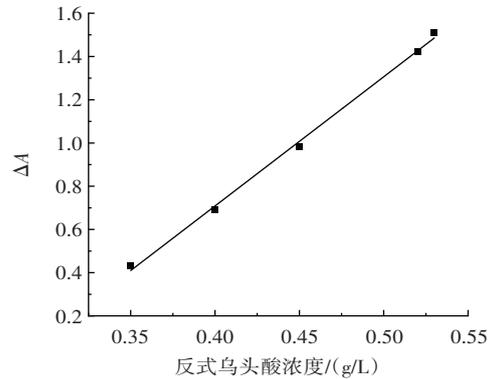


图6 标准工作曲线

Fig.6 Standard working curve

归方程为  $y=5.9773x-1.6823$ ,线性相关系数  $R^2$  为 0.9976。

### 2.4 干扰试验

干扰试验结果见表 1。

表1 反式乌头酸测定与回收试验

Table 1 Determination and recovery test of *trans*-aconitic acid

样品反式乌头酸含量/(g/L)	吸光度(410 nm)	空白培养基吸光度(525 nm)	$\Delta A$	测得反式乌头酸含量/(g/L)	回收率/%
0.4	1.014	1.471 7	0.457 7	0.36	90
0.5	0.309	1.471 7	1.162 7	0.48	96

由表 1 可知,在测定 0.4 g/L 和 0.5 g/L 反式乌头酸时,回收率为 90%~96%。

后续选用黑曲霉菌株发酵反式乌头酸,取发酵液上清液测定 410 nm 处的吸光度,同时采用高效液相色谱检测发酵液中的反式乌头酸含量,二者比对结果见表 2。

表2 HPLC 法与分光光度法测定发酵液中反式乌头酸含量

Table 2 Concentrations of *trans*-aconitic acid in the fermentation broth determined by HPLC and spectrophotometry

样品	$\Delta A$	反式乌头酸含量/(g/L)		回收率/%
		HPLC 法	分光光度法	
1	0.606 1	0.39	0.38	98
2	1.267 4	0.48	0.49	102

由表 2 可知,用高锰酸钾分光光度法进行试验,回收率可达 98%~102%。

### 3 结论

本文基于反式乌头酸与高锰酸钾发生的氧化还原反应,建立了分光光度法测定反式乌头酸含量的方法。检测体系为 2.0 g/L 的高锰酸钾加入 2.0 mL,含反式乌头酸样品加入 1 mL,50  $\mu$ L 2 mol/L 稀硫酸,摇匀,在 35 °C 下反应 8 min 后,用去离子水定容至 25 mL 并摇匀。取 1 mL 于比色皿中,置于紫外-可见分光光度计

中测定吸光度。以此检测方法进行试验,回收率可达98%~102%。综上,本方法可靠、灵敏度高、操作简单,适用于发酵液中反式乌头酸含量的快速检测。

### 参考文献:

- [1] MONTOYA G, LONDONO J, CORTES P, et al. Quantitation of *trans*-aconitic acid in different stages of the sugar-manufacturing process[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(33): 8314-8318.
- [2] 都萃颖. 小分子杀线虫毒素反式乌头酸生物合成途径及该毒素应用于植物根结线虫防治的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.  
DU Cuiying. Biosynthesis pathway of small molecule nematocidal toxin *trans*-aconitic acid and its application in plant root-knot nematode control[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [3] DU C Y, CAO S Y, SHI X Y, et al. Genetic and biochemical characterization of a gene operon for *trans*-aconitic acid, a novel nematocidal from *Bacillus thuringiensis*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2017, 292(8): 3517-3530.
- [4] GARCIA E D, DE OLIVEIRA M A, GODIN A M, et al. Antiedematogenic activity and phytochemical composition of preparations from *Echinodorus grandiflorus* leaves[J]. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 2010, 18(1): 80-86.
- [5] YUHARA K, YONEHARA H, HATTORI T, et al. Enzymatic characterization and gene identification of aconitate isomerase, an enzyme involved in assimilation of *trans*-aconitic acid, from *Pseudomonas* sp. WU-0701[J]. The FEBS Journal, 2015, 282(22): 4257-4267.
- [6] GENG C, JIN Z G, GU M, et al. Microbial production of *trans*-aconitic acid[J]. Metabolic Engineering, 2023, 78: 183-191.
- [7] LI Q Y, ZHAO P, YIN H, et al. CRISPR interference-guided modulation of glucose pathways to boost aconitic acid production in *Escherichia coli*[J]. Microbial Cell Factories, 2020, 19(1): 174.
- [8] 陈凡. 高粱蔗,甜高粱汁液中乌头酸的快速分析方法[J]. 甜菜糖业, 1982(2): 79-80.  
CHEN Fan. Rapid analysis method of aconite acid in sorghum cane and sweet sorghum juice[J]. Sugar Beet Industry, 1982(2): 79-80.
- [9] 袁玥, 林佳. 超高效液相色谱-飞行时间质谱法定性定量检测乌头类植物中14种乌头生物碱及其代谢产物的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(21): 5653-5658.  
YUAN Yue, LIN Ji. Qualitative and quantitative determination of 14 kinds of aconitine alkaloids and their metabolites in *Aconitum* L. by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometer[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(21): 5653-5658.
- [10] 杨静. 林业剩余物土曲霉发酵制备衣康酸的研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2018.  
YANG Jing. Study on preparation of itaconic acid by fermentation of *Aspergillus terrestris*, a forestry residue[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2018.
- [11] 王晓玲, 刘建波. 高锰酸钾褪色光度法测定盐酸氯丙嗪[J]. 广州化工, 2021, 49(20): 78-79, 93.  
WANG Xiaoling, LIU Jianbo. Spectrophotometric determination of chlorpromazine based on fading reaction of potassium permanganate[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2021, 49(20): 78-79, 93.
- [12] 曾少甫, 郭盼, 章凯倩, 等. 基于紫外-可见分光光度法测定食品接触橡胶中高锰酸钾消耗量[J]. 食品科学, 2022, 43(22): 334-340.  
ZENG Shaofu, GUO Pan, ZHANG Kaiqian, et al. Optimization and validation of ultraviolet-visible spectrophotometric method for determination of potassium permanganate consumption for migrants from food contact rubber[J]. Food Science, 2022, 43(22): 334-340.
- [13] 桑宏庆, 陈守江, 蔡华珍, 等. 采用褪色光度法测定水中苯胺[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(5): 124-126.  
SANG Hongqing, CHEN Shoujiang, CAI Huazhen, et al. Study on the determination of aniline in water by discoloration spectrophotometry of potassium permanganate[J]. Food and Fermentation Industries, 2006, 32(5): 124-126.
- [14] 蔡卓, 黄富嵘, 梁信源, 等. 高锰酸钾分光光度法测定药片中维生素B<sub>1</sub>的含量[J]. 广西大学学报(自然科学版), 2009, 34(2): 172-174.  
CAI Zhuo, HUANG Furong, LIANG Xinyuan, et al. Spectrophotometric determination of vitamin B<sub>1</sub> in tablets using potassium permanganate[J]. Journal of Guangxi University (Natural Science Edition), 2009, 34(2): 172-174.
- [15] 温欣荣, 涂常青. 高锰酸钾褪色光度法测定茶多酚[J]. 食品工业, 2019, 40(8): 278-281.  
WEN Xinrong, TU Changqing. Discoloring spectrophotometric determination of tea polyphenols by potassium permanganate[J]. The Food Industry, 2019, 40(8): 278-281.
- [16] KLASSON K T, QI Y C, BRUNI G O, et al. Recovery of aconitic acid from sweet *Sorghum* plant extract using a solvent mixture, and its potential use as a nematocidal[J]. Life, 2023, 13(3): 724.
- [17] 朱琪, 孙双姣, 李明娟. 高锰酸钾分光光度法测定头孢噻肟钠[J]. 广州化工, 2015, 43(5): 136-138.  
ZHU Qi, SUN Shuangjiao, LI Mingjuan. Determination of cefotaxime sodium by the spectrophotometry of potassium permanganate[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2015, 43(5): 136-138.
- [18] WU L, LI F, YU H D, et al. Facile and rapid determination of oxalic acid by fading spectrophotometry based on Fe(III)-sulfosalicylate as colorimetric chemosensor[J]. Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023, 284: 121784.
- [19] BULDUK İ. Comparison of HPLC and UV spectrophotometric methods for quantification of favipiravir in pharmaceutical formulations[J]. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2021, 20(3): 57-65.
- [20] ABDEL-KADER D A, HASHEM E Y. Spectrophotometric determination of metronidazole antibacterial drug via oxidation with alkaline potassium permanganate[J]. Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, 259: 119858.
- [21] ZEBBICHE Y, YAHIA A K, KERAGHEL N E Y, et al. Validation of a simple spectrophotometric method for the rapid determination of salicylates in plasma[J]. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2023, 124: 107475.
- [22] TOVAR-SÁNCHEZ A, SPARAVENTI E, GAUDRON A, et al. A new approach for the determination of sunscreen levels in seawater by ultraviolet absorption spectrophotometry[J]. PLoS One, 2020, 15(12): e0243591.
- [23] 毕杭杭, 李娜, 张雪梅, 等. 分光光度法快速测定衣康酸[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(6): 159-162, 183.  
BI Hanghang, LI Na, ZHANG Xuemei, et al. Rapid determination of Itaconic acid by spectrophotometry[J]. Food Research and Development, 2023, 44(6): 159-162, 183.