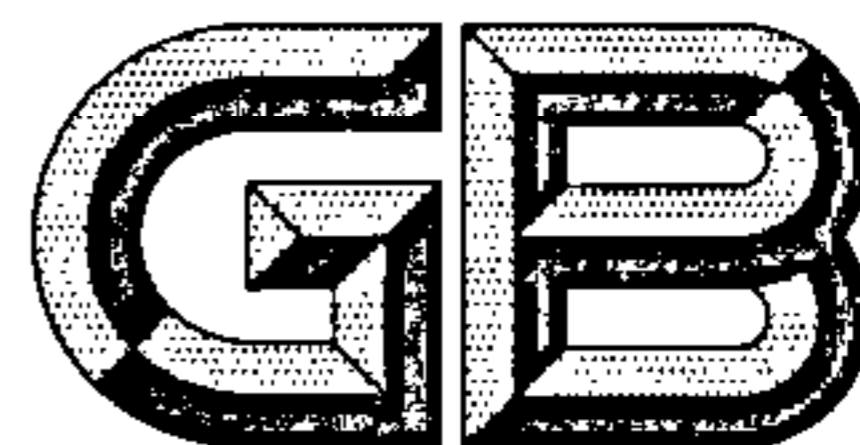


ICS 67.040  
C 53



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.159—2003

## 食品中还原型抗坏血酸的测定

Determination of reductive-form ascorbic acid in foods

MACY 美析仪器  
MACY INSTRUMENT  
专业光度计系列生产厂家  
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布  
中国国家标准化管理委员会

## 前 言

本标准附录 A 是资料性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准负责起草单位：河北省唐山市卫生防疫站，参加起草单位：河北省卫生防疫站、天津市食品卫生监督检验所、吉林省卫生防疫站。

本标准主要起草人：张文德、李信荣、韩会新、王荫国、李青。

  
美析仪器  
MACY INSTRUMENT  
专业光度计系列生产厂家  
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

## 引 言

现行国家标准 GB/T 12392—1990《蔬菜、水果及其制品中总抗坏血酸的测定方法(荧光法和 2,4-二硝基苯肼法)》测定的是氧化脱氢型抗坏血酸,不能测定其主要成分还原型抗坏血酸,而且局限于果蔬类试样,操作非常繁琐;对营养强化食品、蛋白食品等试样的测定更不适应。为此研制了测定食品中抗坏血酸的标准检验方法。该法具有灵敏度高、准确度好、操作简便、快速、应用范围广等特点。适用于各类食品中抗坏血酸的测定。

 美析仪器  
MACY INSTRUMENT  
专业光度计系列生产厂家  
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

## 食品中还原型抗坏血酸的测定

### 1 范围

本标准规定了食品中抗坏血酸的分光光度法。

本标准适用于各类食品中还原型抗坏血酸的测定。

本标准不适用于脱氢型抗坏血酸的测定。

### 2 原理

在乙酸溶液中,抗坏血酸与固蓝盐 B 反应生成黄色的草酰肼-2-羟基丁酰内酯衍生物。在最大吸收波长 420 nm 处测定吸光度,与标准系列比较定量。

### 3 试剂

3.1 乙酸溶液(2 mol/L):吸取 11.6 mL 冰乙酸,加水稀释至 100 mL。

3.2 乙酸溶液(0.5 mol/L):吸取 2.9 mL 冰乙酸,加水稀释至 100 mL。

3.3 乙二胺四乙酸二钠溶液(0.25 mol/L):称取 9.3 g 乙二胺四乙酸二钠 $[\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 于水中,加热使之溶解后,放冷,并稀释至 100 mL。

#### 3.4 蛋白沉淀剂

3.4.1 乙酸锌溶液(220 g/L):称取 22.0 g 乙酸锌 $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ ,加 3 mL 冰乙酸溶于水,并稀释至 100 mL。

3.4.2 亚铁氰化钾溶液(106 g/L):称取 10.6 g 亚铁氰化钾 $[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ ,加水溶解至 100 mL。

3.5 显色剂:固蓝盐 B(Fast Blue Salt B)溶液(2 g/L):准确称取 0.2 g 固蓝盐 B,加水溶解于 100 mL 棕色容量瓶中,并稀释至刻度(该溶液在室温下贮存可稳定 3 d 以上)。

3.6 抗坏血酸标准储备溶液(2.0 g/L):精密称取 0.200 0 g 抗坏血酸,加 20 mL 乙酸溶液(2 mol/L)溶解后移入 100 mL 棕色容量瓶中,用水稀释至刻度,混匀。此溶液每毫升相当于 2.0 mg 抗坏血酸(10℃下冰箱内贮存在 2 d 内稳定)。

3.7 抗坏血酸标准使用溶液(0.1 g/L):用移液管精密吸取 5.0 mL 抗坏血酸标准储备溶液(2.0 g/L)于 100 mL 棕色容量瓶内,加 5 mL 乙酸溶液(2 mol/L),用水稀释至刻度,混匀。此溶液每毫升相当于 100 μg 抗坏血酸(临用时配制)。

### 4 仪器

4.1 分光光度计。

4.2 捣碎机。

4.3 离心沉淀机。

4.4 10 mL 具塞玻璃比色管。

### 5 分析步骤

#### 5.1 试样溶液的制备

##### 5.1.1 非蛋白性食品

5.1.1.1 液体试样:抗坏血酸含量在 0.2 g/L 以下的试样,混匀后可直接取样测定;抗坏血酸含量在

0.2 g/L 以上的试样,用水适量稀释后测定。

5.1.1.2 水溶性固体试样:准确称取 1.0 g~5.0 g,精确至 0.001 g(含 0.2 g/kg 以下抗坏血酸)放入乳钵中,加 5 mL 乙酸溶液(2 mol/L)研磨溶解后,移入 100 mL 棕色容量瓶内,加水稀释至刻度。

5.1.1.3 蔬菜、水果:称取鲜样可食部分 20.0 g~50.0 g 于捣碎机内,加同倍量的乙酸溶液(2 mol/L)捣成匀浆。称取 10.0 g~20.0 g 匀浆(含 0.2 g/kg 以下抗坏血酸)于 100 mL 棕色容量瓶内,加 5 mL 乙酸溶液(2 mol/L),用水稀释至刻度,混匀。滤纸过滤,滤液备用。不易过滤的试样可用离心机离心后,上清液供测定。

5.1.2 蛋白性食品(奶粉、豆粉、乳饮料、强化食品等):固体试样混匀后精密称取 5.0 g~10.0 g,精确至 0.001 g;液体试样用移液管精密吸取 5.0 mL~10.0 mL 于 100 mL 棕色容量瓶内。加 10 mL 乙酸溶液(2 mol/L)、乙酸锌溶液(220 g/L)和亚铁氰化钾溶液(106 g/L)各 7.5 mL,加水至刻度,混匀。将全部溶液移入离心管内,以 3 000 r/min 离心 10 min,上清液供测定。同时取与处理试样相同量的乙酸溶液、乙酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液,按同一方法做试剂空白试验。

## 5.2 标准曲线的绘制

精密吸取 0,0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.5,2.0 mL 抗坏血酸标准使用溶液(相当于抗坏血酸 0,10.0,20.0,40.0,60.0,80.0,100.0,150.0,200.0  $\mu\text{g}$ ),分别置于 10 mL 比色管中。各加 0.3 mL 乙二胺四乙酸二钠溶液(0.25 mol/L)、0.5 mL 乙酸溶液(0.5 mol/L)、1.25 mL 固蓝盐 B 溶液(2 g/L),加水稀释至刻度,混匀。室温(20℃~25℃)下放置 20 min 后,移入 1 cm 比色皿内,以零管为参比,于波长 420 nm 处测量吸光度,以标准各点吸光度绘制标准曲线。

## 5.3 试样测定

5.3.1 非蛋白性试样的测定:精密吸取按 5.1.1 制备的试样溶液 0.5 mL~5.0 mL(约相当于抗坏血酸 200  $\mu\text{g}$  以下)于 10 mL 比色管内。以下按 5.2 自“加 0.3 mL 乙二胺四乙酸二钠溶液(0.25 mol/L)……”起依法操作。试样吸光度从标准曲线上查出抗坏血酸含量。

5.3.2 蛋白性试样的测定:精密吸取按 5.1.2 制备的试样溶液(约相当于抗坏血酸 200  $\mu\text{g}$  以下)和等量试剂空白溶液(0.5 mL~5.0 mL),各于 10 mL 比色管内。各加 1.5 mL 乙二胺四乙酸二钠溶液(0.25 mol/L)、1.0 mL 乙酸溶液(0.5 mol/L)、1.25 mL 固蓝盐 B 溶液(2 g/L),加水稀释至刻度,混匀。室温(20℃~25℃)下放置 3 min 后,移入 1 cm 比色皿内,以试剂空白管为参比,于波长 420 nm 处测量吸光度。试样吸光度从标准曲线上查出抗坏血酸含量。

## 6 结果计算

按下式计算。

$$X = \frac{c}{m \times \frac{V_1}{V_2} \times 1000} \times 100$$

式中:

X——试样中抗坏血酸的含量,单位为毫克每百克(毫克每百毫升)[mg/100 g(mg/100 mL)];

c——试样测定液中抗坏血酸的含量,单位为微克( $\mu\text{g}$ );

m——试样质量(体积),单位为克(毫升)[g(mL)];

$V_2$ ——试样处理液总体积,单位为毫升(mL);

$V_1$ ——测定时所取溶液体积,单位为毫升(mL)。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。