



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.86—2003  
代替 GB/T 12392—1990

---

## 蔬菜、水果及其制品中总抗坏血酸的 测定(荧光法和 2,4-二硝基苯肼法)

Determination of total ascorbic acid in fruits,  
vegetables and derived products—Fluorometric  
method and colorimetric method

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

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
蔬 菜、水 果 及 其 制 品 中 总 抗 坏 血 酸 的  
测 定 ( 荧 光 法 和 2,4-二 硝 基 苯 肼 法 )  
GB/T 5009.86—2003

\*  
中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行  
北 京 西 城 区 复 兴 门 外 三 里 河 北 街 16 号  
邮 政 编 码 : 100045

<http://www.bzcb.com>  
电 话 : 63787337、63787447  
2004 年 8 月 第 一 版 2004 年 11 月 电 子 版 制 作

\*  
书 号 : 155066 · 1-21490

版 权 专 有 侵 权 必 究  
举 报 电 话 : (010)68533533

## 前 言

本标准第一法对应于 ISO 6557-1:1986《蔬菜、水果及其制品中抗坏血酸的测定方法》和 AOAC 967.22《维生素制品中总维生素 C 的微量荧光测定方法》。

本标准与 ISO 6557-1 和 AOAC 967.22 的一致性程度为非等效。

本标准代替 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)》。

本标准与 GB/T 12392—1990 相比主要修改如下：

- 修改了标准的中文名称,标准中文名称改为《蔬菜、水果及其制品中总抗坏血酸的测定(荧光法和 2,4-二硝基苯肼法)》；
- 按 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第 4 部分:化学分析方法》对原标准的结构进行了修改。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所负责起草。

本标准主要起草人:王光亚、杨晓莉、田立新。

原标准于 1990 年首次发布,本次为第一次修订。

## 蔬菜、水果及其制品中总抗坏血酸的测定 (荧光法和 2,4-二硝基苯肼法)

### 1 范围

本标准规定了用荧光法和 2,4-二硝基苯肼比色法测定食品中的抗坏血酸。

本标准适用于蔬菜、水果及其制品中总抗坏血酸的测定。

本方法检出限:荧光法为  $0.022 \mu\text{g/mL}$ , 2,4-二硝基苯肼比色法为  $0.1 \mu\text{g/mL}$ 。线性范围:荧光法为  $5 \mu\text{g/mL} \sim 20 \mu\text{g/mL}$ , 2,4-二硝基苯肼比色法为  $1 \mu\text{g/mL} \sim 12 \mu\text{g/mL}$ 。

### 第一法 荧光法

### 2 原理

试样中还原型抗坏血酸经活性炭氧化为脱氢抗坏血酸后,与邻苯二胺(OPDA)反应生成有荧光的喹唔啉(quinoxaline),其荧光强度与抗坏血酸的浓度在一定条件下成正比,以此测定食品中抗坏血酸和脱氢抗坏血酸的总量。

脱氢抗坏血酸与硼酸可形成复合物而不与 OPDA 反应,以此排除试样中荧光杂质产生的干扰。

### 3 试剂

3.1 偏磷酸-乙酸液:称取 15 g 偏磷酸,加入 40 mL 冰乙酸及 250 mL 水,加温,搅拌,使之逐渐溶解,冷却后加水至 500 mL。于  $4^\circ\text{C}$  冰箱可保存 7 d~10 d。

3.2 0.15 mol/L 硫酸:取 10 mL 硫酸,小心加入水中,再加水稀释至 1 200 mL。

3.3 偏磷酸-乙酸-硫酸液:以 0.15 mol/L 硫酸液为稀释液,其余同 3.1 配制。

3.4 乙酸钠溶液(500 g/L):称取 500 g 乙酸钠( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ),加水至 1 000 mL。

3.5 硼酸-乙酸钠溶液:称取 3 g 硼酸,溶于 100 mL 乙酸钠溶液(3.4)中。临用前配制。

3.6 邻苯二胺溶液(200 mg/L):称取 20 mg 邻苯二胺,临用前用水稀释至 100 mL。

3.7 抗坏血酸标准溶液( $1 \text{ mg/mL}$ )(临用前配制):准确称取 50 mg 抗坏血酸,用偏磷酸-乙酸溶液(3.1)溶于 50 mL 容量瓶中,并稀释至刻度。

3.8 抗坏血酸标准使用液( $100 \mu\text{g/mL}$ ):取 10 mL 抗坏血酸标准液,用偏磷酸-乙酸溶液稀释至 100 mL,定容前试 pH 值,如其  $\text{pH} > 2.2$  时,则应用偏磷酸-乙酸-硫酸溶液(3.3)稀释。

3.9 0.04%百里酚蓝指示剂溶液:称取 0.1 g 百里酚蓝,加 0.02 mol/L 氢氧化钠溶液,在玻璃研钵中研磨至溶解,氢氧化钠的用量约为 10.75 mL,磨溶后用水稀释至 250 mL。

变色范围:

pH 值等于 1.2 红色

pH 值等于 2.8 黄色

pH 值大于 4 蓝色

3.10 活性炭的活化:加 200 g 炭粉于 1 L 盐酸(1+9)中,加热回流 1 h~2 h,过滤,用水洗至滤液中无铁离子为止,置于  $110^\circ\text{C} \sim 120^\circ\text{C}$  烘箱中干燥,备用。

### 4 仪器

4.1 实验室常用设备。