



中华人民共和国国家标准

GB 5413.18—2010

食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中维生素 C 的测定

National food safety standard

Determination of vitamin C in foods for infants and young children,
milk and milk products

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准代替GB/T 5413.18-1997《婴幼儿配方食品和乳粉 维生素C的测定》。

本标准与GB/T 5413.18-1997相比，主要变化如下：

- 明确了酶的活力单位；
- 改变了邻苯二胺溶液浓度；
- 含淀粉试样处理进行了改变；
- 增加了加入硼酸—乙酸钠溶液后的反应时间；
- 增加了加入邻苯二胺溶液后的反应时间。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 5413-1985、GB/T 5413.18-1997。

食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中维生素 C 的测定

1 范围

本标准规定了婴幼儿食品和乳品中维生素 C 的测定方法。

本标准适用于婴幼儿食品和乳品中维生素 C 的测定。本标准测定的是还原型维生素 C 和氧化型维生素 C 的总量。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

3 原理

维生素 C（抗坏血酸）在活性炭存在下氧化成脱氢抗坏血酸，它与邻苯二胺反应生成荧光物质，用荧光分光光度计测定其荧光强度，其荧光强度与维生素 C 的浓度成正比，以外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

4.1 淀粉酶：酶活力 1.5 U/mg，根据活力单位大小调整用量。

4.2 偏磷酸—乙酸溶液 A：称取 15 g 偏磷酸及 40 mL 乙酸（36 %）于 200 mL 水中，溶解后稀释至 500 mL 备用。

4.3 偏磷酸—乙酸溶液 B：称取 15 g 偏磷酸及 40 mL 乙酸（36 %）于 100 mL 水中，溶解后稀释至 250 mL 备用。

4.4 酸性活性炭：称取粉状活性炭（化学纯，80 目~200 目）约 200 g，加入 1 L 体积分数为 10 % 的盐酸，加热至沸腾，真空过滤，取下结块于一个大烧杯中，用水清洗至滤液中无铁离子为止，在 110℃~120℃ 烘箱（5.3）中干燥约 10 h 后使用。

检验铁离子的方法：普鲁士蓝反应。将 20 g/L 亚铁氰化钾与体积分数为 1 % 的盐酸等量混合，将上述洗出滤液滴入，如有铁离子则产生蓝色沉淀。

4.5 乙酸钠溶液：用水溶解 500 g 三水乙酸钠，并稀释至 1 L。

4.6 硼酸—乙酸钠溶液：称取 3.0 g 硼酸，用乙酸钠溶液（4.5）溶解并稀释至 100 mL，临用前配制。

4.7 邻苯二胺溶液（400 mg/L）：称取 40 mg 邻苯二胺，用水溶解并稀释至 100 mL，临用前配制。

4.8 维生素 C 标准溶液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)：称取 0.050 g 维生素 C 标准品，用偏磷酸—乙酸溶液 A (4.2) 溶解并定容至 50 mL，再准确吸取 10.0 mL 该溶液用偏磷酸—乙酸溶液 A (4.2) 稀释并定容至 100 mL，临用前配制。

5 仪器和设备

5.1 荧光分光光度计。

5.2 天平：感量为 0.1 mg。

5.3 烘箱：温度可调。

5.4 培养箱：45 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

6 分析步骤

6.1 试样处理

6.1.1 含淀粉的试样：称取约 5 g (精确至 0.0001 g) 混合均匀的固体试样或约 20 g (精确至 0.0001 g) 液体试样 (含维生素 C 约 2 mg) 于 150 mL 三角瓶中，加入 0.1 g 淀粉酶 (4.1)，固体试样加入 50 mL 45 $^{\circ}\text{C} \sim 50^{\circ}\text{C}$ 的蒸馏水，液体试样加入 30 mL 45 $^{\circ}\text{C} \sim 50^{\circ}\text{C}$ 的蒸馏水，混合均匀后，用氮气排除瓶中空气，盖上瓶塞，置于 45 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养箱 (5.4) 内 30 min，取出冷却至室温，用偏磷酸—乙酸溶液 B (4.3) 转至 100 mL 容量瓶中定容。

6.1.2 不含淀粉的试样：称取混合均匀的固体试样约 5 g (精确至 0.0001 g)，用偏磷酸—乙酸溶液 A (4.2) 溶解，定容至 100 mL。或称取混合均匀的液体试样约 50 g (精确至 0.0001 g)，用偏磷酸—乙酸溶液 B (4.3) 溶解，定容至 100 mL。

6.2 待测液的制备

6.2.1 将上述试样 (6.1.1, 6.1.2) 及维生素 C 标准溶液 (4.8) 转至放有约 2 g 酸性活性炭 (4.4) 的 250 mL 三角瓶中，剧烈振动，过滤 (弃去约 5 mL 最初滤液)，即为试样及标准溶液的滤液。然后准确吸取 5.0 mL 试样及标准溶液的滤液分别置于 25 mL 及 50 mL 放有 5.0 mL 硼酸—乙酸钠溶液 (4.6) 的容量瓶中，静置 30 min 后，用蒸馏水定容。以此作为试样及标准溶液的空白溶液。

6.2.2 在此 30 min 内，再准确吸取 5.0 mL 试样及标准溶液的滤液于另外的 25 mL 及 50 mL 放有 5.0 mL 乙酸钠溶液 (4.5) 和约 15 mL 水的容量瓶中，用水稀释至刻度。以此作为试样溶液及标准溶液。

6.2.3 试样待测液：分别准确吸取 2.0 mL 试样溶液 (6.2.2) 及试样的空白溶液 (6.2.1) 于 10.0 mL 试管中，向每支试管中准确加入 5.0 mL 邻苯二胺溶液 (4.7)，摇匀，在避光条件下放置 60 min 后待测。

6.2.4 标准系列待测液：准确吸取上述标准溶液 (6.2.2) 0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL 和 2.0 mL，分别置于 10 mL 试管中，再用水补充至 2.0 mL。同时准确吸取标准溶液的空白溶液 (6.2.1) 2.0 mL 于 10 mL 试管中。向每支试管中准确加入 5.0 mL 邻苯二胺溶液 (4.7)，摇匀，在避光条件下放置 60 min 后待测。

6.3 测定

6.3.1 标准曲线的绘制

将标准系列待测液 (6.2.4) 立刻移入荧光分光光度计的石英杯中，于激发波长 350 nm，发射波长 430 nm 条件下测定其荧光值。以标准系列荧光值分别减去标准空白荧光值为纵坐标，对应的维生素 C 质量浓度为横坐标，绘制标准曲线。

6.3.2 试样待测液的测定

将试样待测液（6.2.3）按（6.3.1）的方法分别测其荧光值，试样溶液荧光值减去试样空白溶液荧光值后在标准曲线上查得对应的维生素 C 质量浓度。

7 分析结果的表述

试样中维生素 C 的含量按式(1)计算：

$$X = \frac{c \times V \times f}{m} \times \frac{100}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中维生素 C 的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）；

V ——试样的定容体积，单位为毫升（mL）；

c ——由标准曲线查得的试样测定液中维生素 C 的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

m ——试样的质量，单位为克（g）；

f ——试样稀释倍数。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留至小数点后一位。

8 精密度

在重复性条件下获得两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

9 其他

本标准检出限为 0.1 mg/100 g。