

# Research Progress in Development of the Determination Methods of Vitamine C in Food and Pharmaceuticals\*

Hongliang Zhu<sup>1</sup>, Huofeng Dai<sup>1</sup>, Kairun Wang<sup>1</sup>, Tupeng Yao<sup>1</sup>, Yun Zhang<sup>1,2</sup>, Haoyu Shen<sup>1#</sup>

<sup>1</sup>Ningbo Institute of Technology, Zhejiang University, Ningbo

<sup>2</sup>Quzhou Center for Disease Control and Prevention, Quzhou

Email: #hyshen@nit.zju.edu.cn

Received: Jul. 16<sup>th</sup>, 2013; revised: Jul. 20<sup>th</sup>, 2013; accepted: Aug. 1<sup>st</sup>, 2013

Copyright © 2013 Hongliang Zhu et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Abstract:** Vitamin C is necessary to the growth and metabolism for human beings. Vitamin C is mainly from fruits, vegetables and medicine, so it is one of the important standards to evaluate the quality of the food nutrition and medicine. With the growing concern of food safety, the quantitative analysis of vitamin C in food nutrition and pharmaceuticals has attracted more and more attention. In recent years, determination techniques of vitamin C in food and pharmaceuticals have been developed rapidly, including titrimetric method, spectrophotometric method, electrochemical method, chemiluminescence method, flow injection analysis, liquid chromatography and indirect atomic adsorption methods, etc. In this work, some principles, characteristic and the recent progress of reported methods have been summarized and compared.

**Keywords:** Vitamin C; Food and Pharmaceuticals; Determination Method; Review

## 食品与药品中维生素 C 含量的检测方法进展\*

朱宏亮<sup>1</sup>, 戴火锋<sup>1</sup>, 汪凯闰<sup>1</sup>, 姚屠鹏<sup>1</sup>, 张 蕴<sup>1,2</sup>, 沈昊宇<sup>1#</sup>

<sup>1</sup>浙江大学宁波理工学院生物与化学工程学院, 宁波

<sup>2</sup>衢州市疾病预防控制中心, 衢州

Email: #hyshen@nit.zju.edu.cn

收稿日期: 2013 年 7 月 16 日; 修回日期: 2013 年 7 月 20 日; 录用日期: 2013 年 8 月 1 日

**摘 要:** 维生素 C 是人体不可缺少的营养物质之一, 人体主要通过新鲜水果、蔬菜或药片来获取或补充维生素 C。因此维生素 C 的含量成为评价食品营养价值和药品质量的重要标准之一。随着对食品安全的日益关心, 食品营养中维生素 C 和医药品的定量分析已经吸引了越来越多的关注。近年来食品与药品中维生素 C 的检测方法发展较为迅速, 主要有滴定分析法、光度法、电化学法、化学发光法、流动注射法、液相色谱法以及原子吸收间接法等。本文对比总结了这些方法的原理、特点以及应用范围, 讨论了方法的优缺点, 以期选择合适的检测方法提供一定的参考。

**关键词:** 维生素 C; 食品与药品; 检测方法; 综述

### 1. 引言

维生素 C 又称抗坏血酸, 其结构式如图 1 所示,

\*本文得到浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划 2012)项目和浙江大学宁波理工学院教研教改项目(NITJY-201021, NITJY-201217)的资助, 特此感谢。

#通讯作者。

是一种重要的水溶性维生素, 作为一种抗氧化剂和自由基清除剂, 能够缓解多种疾病的氧化应激, 与生命活动密切相关, 具有极其重要的生理功能<sup>[1]</sup>。维生素 C 在人体内不能合成, 因此必须从食品中摄取, 其中水果和蔬菜是人体维生素 C 的主要来源<sup>[2]</sup>。中国营养

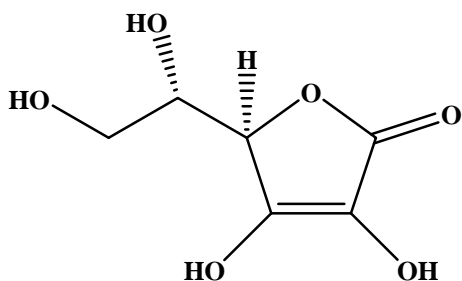


Figure 1. The structural formula of vitamin C  
图 1. 维生素 C 的结构式

学会推荐的每日膳食营养素供给量(RDAs)中婴儿(初生~12个月)维生素 C 的摄取量为 30 mg/天, 儿童(1~12岁)为 40~50 mg/天, 12 岁以上及成年人为 60 mg/天<sup>[3]</sup>。人体如果缺乏维生素 C 将引起疾病的发生, 甚至导致坏血病、心脏及肝脏损伤等疾病。由于维生素 C 的性质不稳定, 在氧气、金属离子(如  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ )存在下以及碱性、高温等条件下, 很容易被氧化<sup>[1,4]</sup>, 不能确保维生素 C 的含量恒定。因此, 测定食品中维生素 C 的含量对人们日常通过膳食补充维生素 C 具有科学的指导意义<sup>[3-5]</sup>。近年来, 随着人们对食品安全问题的日益关注, 维生素 C 的定量分析在食品营养分析与药物分析中越来越受到人们的重视。

文献报道的食品与药品中维生素 C 的检测方法主要包括滴定分析法<sup>[6-8]</sup>、光度法<sup>[6,9-12]</sup>、电化学法<sup>[6,13-16]</sup>、化学发光法<sup>[6,17]</sup>、流动注射法<sup>[18,19]</sup>、液相色谱法(HPLC)<sup>[6,20-27]</sup>以及原子吸收间接法(AAS)<sup>[6,28-30]</sup>等。表 1 中汇总了已报道的主要检测方法。以下对几种常见的检测方法进行简要的叙述。

## 2. 维生素 C 的测定方法

### 2.1. 滴定分析法

采用滴定法测定维生素 C 的原理主要是利用维生素 C 的氧化还原性质, 通过化学反应, 选择合适的指示剂, 根据样品溶液颜色的变化判定终点。常见的方法有 2,6-二氯吡啶酚滴定法(又称染料法)<sup>[7]</sup>和碘量法<sup>[8]</sup>等。其中 2,6-二氯吡啶酚滴定法的基本原理是: 在酸性环境中, 红色的 2,6-二氯吡啶酚与维生素 C 反应被还原为无色的酚亚胺, 以 2,6-二氯吡啶酚染料为滴定剂, 用滴定剂自身的颜色变化指示终点, 当溶液中的维生素 C 刚好被全部氧化时, 溶液呈浅红色 30 s 内不褪色, 即为滴定终点, 其反应式如图 2 所示。滴定分

析法快速、准确、方便, 可用于测定水果中少量的维生素 C。但当样品中含有  $\text{Fe(II)}$ 、 $\text{Sn(II)}$ 、 $\text{Cu(I)}$ 、 $\text{SO}_2$ 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  等离子和富含丹宁酸、甜菜苷时, 由于这些物质本身也有还原性, 也会与氧化剂发生氧化还原反应, 而使测定结果不准确。因此滴定分析法往往只适用于测定不含 L-脱氢抗坏血酸(DHA)、花青素含量较低及不含还原性离子的样品<sup>[31]</sup>。

### 2.2. 光度法

光度法测定样品中维生素 C 含量的原理大多利用显色剂与维生素 C 发生的氧化还原反应, 通过测定溶液的吸光度建立标准曲线来测定样品维生素 C 的含量<sup>[32]</sup>。然而, 由于总抗坏血酸的局限性, 例如 GB/T 12392-1990 只能测定脱氢抗坏血酸。而对于还原型抗坏血酸测定, GB5009.159-2003 则采用抗坏血酸与固蓝盐 B(Fast blue salt 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 测定吸光度来检测<sup>[32]</sup>。陈焕文等<sup>[9]</sup>采用亚甲蓝褪色光度法能够方便的测定维生素 C, 具有良好的选择性。黄仲鑫<sup>[12]</sup>利用抗坏血酸对于  $\text{Cu(II)}$  具有专一的还原作用, 在  $\text{Cu(II)}$  的存在下, 抗坏血酸将  $\text{Cu(II)}$  迅速还原成  $\text{Cu(I)}$ ,  $\text{Cu(I)}$  与新亚铜灵(2,9-二甲苯-1,10 菲绕啉)络合生成黄色水溶性物质, 并在分光光度计下测定。此类方法结果可靠, 重现性好, 能准确测定维生素 C 的含量; 但如果待测液本身有颜色时, 吸光度会受到影响, 进而影响测定结果的准确性, 且耗时较长。

### 2.3. 电化学法

电化学分析法是利用维生素 C 在电极上发生氧化反应而进行测定的。维生素 C 在电极上失去 2 个电子和 2 个氢离子被氧化形成脱氢抗坏血酸, 经过不可逆的水合作用形成脱氢古落糖酸。常用的工作电极有金属电极、石墨电极等, 但维生素 C 在此类电极氧化需要较高的氧化电位, 在检测过程中易受到其它物质的干扰。近年来, 采用修饰电极来降低氧化电位受到研究者的广泛重视, 如纳米粒子金修饰的氧化钛膜电极( $\text{Au/TiO}_2/\text{Ti}$ )<sup>[14]</sup>, 聚吡咯修饰的分子印迹(MIP)石墨电极<sup>[17]</sup>等, 大大提高了检测方法的灵敏度和选择性。电化学分析法具有分析速度快, 操作简便、成本低、试剂用量少等优点, 还可以与液相色谱<sup>[20]</sup>、毛细管电泳<sup>[26]</sup>、生物传感器<sup>[16]</sup>等联用来提高测定方法的灵敏度。

Table 1. Determination methods of vitamin C in food and pharmaceutical  
表 1. 食品与药品中维生素 C 的检测方法

基体	样品前处理	实验方法及条件	线性范围	检出限	回收率/%	RSD/%	Ref
柑橘、西瓜、葡萄、香蕉	2%草酸溶液为提取剂, 捣碎呈浆, 过滤滴定滤液	滴定法(碘量法) 2 mol/L HAc 体系, 1% CuSO <sub>4</sub> 溶液为指示剂	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	[7]
饮料、蔬菜、维生素 C 药片	取一定量的待测样品溶解稀释, 取样测定	光度法: 维生素 C 的还原性对亚甲基蓝有褪色作用; 试剂: 对氨基苯磺酸(增敏剂); pH = 2 的缓冲液(HCl-KCl); 测定波长: 660 nm	0.4~40 mg/L	0.4 mg/L	N.A.	N.A.	[9]
维生素 C 药片、泡腾片、复合维生素药片	研磨后, 用盐酸溶液提取并过滤后稀释	光度法: 利用维生素 C 的还原性将 Cu(II)还原为 Cu(I); C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> + Cu(II)-NH <sub>3</sub> → C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> + Cu(I)-NH <sub>3</sub> , 铜与铜氨络合试剂(pH = 9.5)显色反应; 测定波长: 600 nm	0.8~6 mmol	0.26 mmol	97~101	1.00~5.00	[10]
食品、药品、生物样品	0.2 mol/L 草酸溶液溶解或提取, 加 5% EDTA 离心后, 取上清液稀释	光度法: 利用维生素 C 与甲基紫在碱性溶液中形成蓝色化合物的显色反应; 测定波长: 600 nm	0.1~1.0 μg/L	0.1 μg/mL	98.5~99.3	1.9	[11]
维生素 C 药片	研磨后用水提取	荧光猝灭法: 维生素 C 与亚甲基蓝形成化合物, 根据亚甲基蓝的荧光强度减弱进行测定; 发射波长 682 nm; 激发波长: 664 nm	$3.0 \times 10^{-7}$ ~ $6.0 \times 10^{-6}$ mol/L	$2.5 \times 10^{-7}$ mol/L	N.A.	N.A.	[12]
阿司匹林	研磨后用水提取	电化学方法(循环伏安法): 以石墨为电极(PEG); 利用聚吡咯(PPy)的分子印迹膜测定; 阳极峰电压: +0.15 V; 阴极峰电压: +0.00 V	0.25~7.0 mmol/L	$7.4 \times 10^{-5}$ mol/L	93~97.1	<1.62	[15]
果汁	用 50 mmol/L 的磷酸缓冲液 PBS (pH = 6.5) 溶解	电化学生物法: 工作电极: 直径 3 mm 玻璃电极(GCE); 阻抗电极: 直径 0.5 mm 铂丝; 参比电极: 饱和甘汞电极; 响应分析系统的电压为 0.3 V, E <sub>ac</sub> = 10 mV, 频率在 10 kHz~0.1 Hz 之间	$4.0 \times 10^{-5}$ ~ $3 \times 10^{-3}$ mol/L	13 μmol/L	N.A.	0.43~0.91	[16]
维生素片	研磨后用水提取	毛细管电泳 - 电化学法: 采用柱端射壁电化学检测系统; 直径 300 μm 碳圆盘电极为工作电极; 电动进样: 20 KV 下进样 10 s; 最佳工作电位: 1.2 V	$1.0 \times 10^{-5}$ ~ $1.0 \times 10^{-2}$ mol/L	$1.0 \times 10^{-6}$ mol/L	96	<3.0	[27]
果蔬	捣碎, 三氯乙酸提取, 加入 DL-胱氨酸反应后测定	毛细管电泳 - 电化学法: 毛细管电泳仪; 磷酸盐缓冲液: pH = 6.90; 进样条件: 14 KV/(42~44) μA	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	[31]
软饮料	稀释	化学发光法(间接法): 利用维生素 C 的还原性对 Fe-叶绿酸 - 过氧化氢化学发光体系的猝灭作用测定; 发射波长: 400~600 nm; 光电倍增管电压: 700 V	$4.0 \times 10^{-12}$ ~ $4.0 \times 10^{-4}$ mol/L	$4.0 \times 10^{-12}$ mol/L	N.A.	3.8	[17]
补血药, 柠檬汁, 洗发水等	溶于水, 过滤, 收集滤液, 稀释	流动注射法(FI): 利用维生素 C 对 pH 3.0 的 Ti(III)溶液的还原性形成荧光物质 TiCl <sub>3</sub> <sup>2-</sup> 测定; 激发波长: 227 nm; 发射波长: 419 nm	$1 \times 10^{-6}$ ~ $5 \times 10^{-5}$ mol/L	$8 \times 10^{-7}$ mol/L	91~117	2.1	[18]
婴儿奶粉, 婴儿豆制品	1%的偏磷酸溶液溶解, 离心, 收集上清液和过滤膜	液相色谱 - 紫外检测法 (HPLC-UV): 流动相: 0.1 mol/L, pH = 3.5 的磷酸钾缓冲液; 检测波长: 245 nm	N.A.	N.A.	N.A.	1.35~1.55	[13]
		电位滴定法: 1%的草酸溶液标准加入校准法; 初始电压: -0.15 V; 终止电压: +2.0 V; 扫描速率: 5 mV/s; 电流密度: 5 nA/min	N.A.	N.A.	N.A.	2.53~3.41	[13]

续表

橘子汁, 葡萄 柚汁, 萝卜	流动相稀释后, 过 0.45 μm 滤膜	液相色谱 - 电化学法(HPLC-ED): 电 极: Ag/AgCl; 测定电压: 400 mV; 色谱柱: C18; 流动相: 20 mmol 的鸟 嘌呤-5'-单磷酸二钠(GMP); 流速: 0.8 mL/min	0.02~10 ng/μL	0.02 ng/μL	>90	2.7	[20]
半固体药物 及化妆品	流动相溶解后, 离心 去上层物, 稀释定容	液相色谱 - 紫外检测法 (HPLC-UV): 色谱柱: C18; 流动相: 0.2% 的偏磷酸/甲醇/乙腈 = 90:8:2; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 254 nm	1~12 μg/mL	0.05 μg/mL	95.5~101.5	0.38~1.22	[21]
茶、枸杞	含蔗糖醇的乙腈/水 (30:70)溶液超声提取 并离心, 流动相稀释	液相色谱 - 紫外检测法 (HPLC-UV): 色谱柱: 二醇基柱; 流动相: 乙腈/66.7 mmol/L 醋酸铵水 溶液 = (85:15); 检测波长: 260 nm	1~50 μg/mL	0.3 μg/mL	100.2~105.8	1.0~2.8	[22]
果汁, 茶饮料, 可乐等	直接测定; 必要时过滤稀释	液相色谱 - 紫外检测法 (HPLC-UV): 色谱柱: ODS 或 Mediterranea sea 18; 流动相: 0.1% 的 甲酸水溶液; 检测波长: 254 nm	0.2~400 mg/L	0.01 mg/L	N.A.	<2	[23]
蔷薇果	液氮冷冻或低温烘 干后用 5% 的偏磷酸 溶液提取离心	液相色谱 - 紫外检测法 (HPLC-UV): 色谱柱: RP C18 柱; 流动相: 0.5% NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -乙腈 = (93:7) pH = 2.25; 检测波长: 254 nm	0.5~200 mg/L	0.05 mg/L	97~102	2.42~6.24	[24]
蔬菜, 水果	用 3% 偏磷酸, 8% 甲 酸和 1 mmol/LEDTA 溶液提取, 离心过滤	超高压液相色谱 - 二极管阵列检测法 (UHPLC-PDA): 色谱柱: HSS T3; 流动相: 0.1% 的甲酸水溶液; 检测波长: 254 nm	0.05~100 μg/mL	22 ng/mL	88.9~102.5	<3.9	[25]
果蔬	捣碎	原子吸收间接法(AAS): 在酸性介质 中维生素 C 可将 Cu <sup>2+</sup> 定量的还原为 Cu <sup>+</sup> , 然后 Cu <sup>+</sup> 与 SCN <sup>-</sup> 反应生成 CuSCN 沉淀, 离心分离出 CuSCN 沉 淀, 洗涤后经浓硝酸溶解, 用原子吸 收法测定沉淀中的铜的吸光度, 测定维生素 C 的含量; 步骤: 依次加入一定体积 CuSO <sub>4</sub> 溶 液, NH <sub>4</sub> SCN 溶液, HCl-NaAc 缓冲 液及饱和 KCl 溶液, 混合摇匀, 离心, 洗涤沉淀, 最后用浓 HNO <sub>3</sub> 溶解沉淀, 测定。	N.A.	N.A.	96.6~100.7	3.02~4.77	[28]
维生素 C 药片, 感冒药	与 0.2 mol/L HNO <sub>3</sub> 一起研磨后用水 稀释	原子吸收间接法(AAS): 利用维生素 C 的还原性, 将固相反应柱中二氧化锰 还原成二价锰, 检测流出液中锰含量, C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> + MnO <sub>2</sub> + H <sup>+</sup> → C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> + MnO; 洗脱液: 6.3 mmol/L HNO <sub>3</sub> (pH = 2.2), 洗脱速度: 4.0 mL/min; 扫描宽度: 0.5 nm; 灯电流: 9 mA; 检测波长: 279.5 nm	~30 mg/L	0.2 mg/L	98.7~103.2	<1.09	[29]
药片、食品、 果蔬或饮料	捣碎, 研磨 或稀释	原子吸收间接法(AAS): 利用维生 素 C 的还原性, 将过量的 Fe <sup>3+</sup> 定量 还原成 Fe <sup>2+</sup> , 通过微型阳离子交换 树脂柱的在线吸附, 再用一定浓度 的硝酸溶液洗脱, 并通过火焰原子 吸收分光光度计(FAAS)测定 Fe <sup>2+</sup> , 即可知维生素 C 的含量; 流速: 7 mL/min; 灯电流: 6.0 mA; 检测波长: 248.3 nm	0.1~50 mg/L	0.06 mg/L	96~106	1.6	[30]

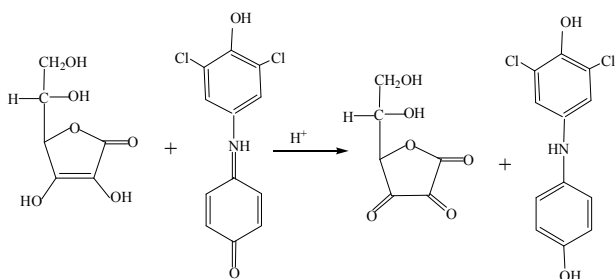


Figure 2. Reaction mechanism of the 2,6—chloride indoles phenol based titration method

图 2. 2,6-二氯吲哚酚滴定法反应式

其缺点是对样品前处理要求较高，操作较为繁琐。

## 2.4. 化学发光法(CL)

化学发光法(CL)是利用维生素 C 与高锰酸钾、 $K_2Cr_2O_7$ 、 $Fe^{3+}$ 或铁氰化合物等发生氧化反应，并与鲁米诺(Luminol)或光泽精(Lucigenin)化学发光体系进行反应偶合来测定体系的发光强度进行维生素 C 的测定。Kato 等利用在维生素 C 中加入 Fe-叶绿酸发光体系发生淬灭来测定微量的维生素 C<sup>[17]</sup>。化学发光法具有易操作、线性范围宽和灵敏度高的优点，是一种有效的痕量分析方法。

## 2.5. 流动注射分析法(FIA)

流动注射分析法(FIA)是将有色(或无色但有紫外吸收)溶液作为载流，当被测样品注入载流时，发生化学反应，使载流溶液颜色变淡(或紫外吸收降低)。若载流吸光度的变化与被测物质量具有一定的函数关系，即可以此对被测样品进行定量。流动注射法具有试剂用量少，重现性好，样品自动注射，占用空间少等优点<sup>[19]</sup>，特别适用于在大量样品中测定某一种目标分析物。近年来，FIA 技术用于维生素 C 测定受到很多研究者的关注，实现了快速、自动分析测定维生素 C。流动注射系统可以与光谱法、电化学分析、色谱法、荧光法结合，与传统方法相比，大大提高了灵敏度和准确度。

## 2.6. 液相色谱法(HPLC)

液相色谱法(HPLC)由于其具有灵敏度高、重现性好、操作简便和能实现多种维生素的同时测定等优点已成为近年来应用最广的分离和测定维生素 C 的方法。基于样品前处理方法、测定色谱条件和检测器的不同采用 HPLC 测定维生素 C 含量的方法也不尽相

同。常用于测定维生素 C 的色谱柱以反相柱为主，检测器包括的紫外(UV)或二极管阵列(PDA)检测器和电化学(EC)检测器等<sup>[20,25]</sup>。例如：Maia 等采用 0.2%的偏磷酸-甲醇-乙腈(90:8:2)为流动相， $C_{18}$ 柱为色谱柱，在 254 nm 波长下对药品中的维生素 C 含量进行测定<sup>[21]</sup>。Quiros 等，以 0.1%(V/V)的甲酸溶液为流动相，Mediterranea sea 18 为色谱柱，在 254 nm 波长下测定果汁和饮料中维生素 C 含量<sup>[23]</sup>。由于流动相常常要使用含有一定的离子强度的缓冲溶液，故基本无法使用液相色谱-质谱联用技术来测定维生素 C 的含量。

## 2.7. 原子吸收光谱法(AAS)

原子吸收光谱法(AAS)间接测定维生素 C 的含量已有一些报道<sup>[28-30]</sup>，大致分为两类：沉淀法和阳离子树脂交换法。沉淀法的原理是：在酸性介质中维生素 C 与  $Cu^{2+}$  及  $SCN^-$  反应生成一价铜盐  $CuCNS$  (沉淀)，分离后用原子吸收法测铜含量而间接测定维生素 C 含量<sup>[28]</sup>。阳离子树脂交换法是通过维生素 C 在阳离子交换柱表面将高氧化态金属离子或氧化物( $Fe^{3+}$ ,  $MnO_2$ )还原为低氧化金属离子( $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ )，通过流动注射(FI)洗脱，利用原子吸收光谱法(AAS)测定其中还原态金属离子，从而达到间接测定维生素 C 含量的目的<sup>[29,30]</sup>。

## 3. 结论与展望

综上所述，食品与药品中维生素 C 的定量分析方法中，已报道的几类主要检测方法各有利弊。常规滴定法方法简单，但操作费时费力，滴定有色物质时终点难以判断；紫外分光光度法目前所需的仪器设备比较成熟，且准确度较高，因而成为实验室定量分析维生素 C 的主要方法。高效液相色谱法由于其选择性好、测定迅速，与其他检测技术联用灵敏度较高，是近年来发展快速的一种方法，但仪器设备价格高昂，推广和普及仍存在一定的困难；原子吸收法操作简单快速，可以避免果蔬中色素的干扰，但同样的也存在仪器设备价格高昂的问题；电化学法应用于维生素 C 的定量检测是近几年来研究应用最活跃的一个领域，因其所需仪器结构简单、操作方便、便于携带且准确度高，在现场快速检测方面具有较好的应用前景，但实

用性有待进一步完善。

#### 4. 致谢

本文得到浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划 2012)项目和浙江大学宁波理工学院教研教改项目(NITJY-201021, NITJY-201217)的资助, 特此感谢。

#### 参考文献 (References)

- [1] M. W. Davey, M. V. Montagu, D. Inze, et al. Review plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80: 825-860.
- [2] J. S. Hampl, C. A. Taylor and C. S. Johnston. Intakes of vitamin C, vegetables and fruits: Which schoolchildren are at risk. *Journal of the American College of Nutrition*, 1999, 18(6): 582-590.
- [3] 中国营养学会. 中国居民膳食营养素参考摄入量[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000, 445-450.
- [4] L. Novakova, P. Solich and D. Solichova. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends in Analytical Chemistry*, 2008, 27: 942-958.
- [5] S. K. Lee, A. A. Kader. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 2000, 20: 207-220.
- [6] S. P. Arya, M. Mahajan, P. Jain. Non-spectrophotometric methods for the determination of Vitamin C. *Analytica Chimica Acta*, 2000, 417: 1-14.
- [7] 吴春艳. 水果中维生素 C 含量的测定及比较[J]. 武汉理工大学学报, 2007, 29: 90-91.
- [8] 王元秀, 庄海燕. 微量滴定法测定猕猴桃中维生素 C 的含量[J]. 济南大学学报, 2001, 15: 374-378.
- [9] 陈焕文, 宋庆宇, 刘宏伟等. 测定抗坏血酸的亚甲蓝褪色光度法[J]. 分析测试学报, 2001, 20(2): 55-57.
- [10] M. A. Farajzadeh, S. J. Nagizadeh. A simple and reliable spectrophotometric method for the determination of ascorbic acid in pharmaceutical preparations. *Analytical Chemistry*, 2003, 8(10): 927-932.
- [11] E. K. Janghel, V. K. Gupta, M. K. Rai, et al. Micro determination of ascorbic acid using methyl viologen. *Talanta*, 2007, 72: 1013-1016.
- [12] 黄仲鑫, 袁明松, 王梅华. 果蔬、饮料中抗坏血酸的新亚铜灵光度分析法[J]. 分析测试学报, 1993, 12(4): 63-65.
- [13] M. J. Esteve, R. Farre, A. Frigola, et al. Comparison of voltammetric and high performance liquid chromatographic methods for ascorbic acid determination in infant formulas. *Food Chemistry*, 1995, 52: 99-102.
- [14] M. G. Hosseini, M. Faraji and M. M. Momeni. Application of titanium oxide nanotube films containing gold nanoparticles for the electroanalytical determination of ascorbic acid. *Thin Solid Films*, 2011, 519: 3457-3461.
- [15] T. Kato, O. Ohno, T. Nagoshi, et al. Determination of small amounts of L-ascorbic acid using the chemiluminescence of an iron-chlorophyllin complex. *Analytical Sciences*, 2005, 21: 579-581.
- [16] Y. P. Wen, X. M. Duan, J. K. Xu, et al. One-step electrosynthesis of poly(3,4-ethylenedioxy-thiophene)-ethylsulfate matrix for fabricating vitamin C electrochemical biosensor and its determination in commercial juices. *Chinese Journal of Polymer Science*, 2012, 30(3): 460-469.
- [17] L. Ozcan, M. Sahin and Y. Sahin. Electrochemical preparation of a molecularly imprinted polypyrrole-modified pencil graphite electrode for determination of ascorbic acid. *Sensors*, 2008, 8: 5792-5805.
- [18] B. Rezaei, A. A. Ensafi and S. Nouroozi. Flow-injection determination of ascorbic acid and cysteine simultaneously with spectrofluorometric detection. *Analytical Sciences*, 2005, 21: 1067-1071.
- [19] M. C. Yebra-Biurrun. Flow injection determination methods of ascorbic acid. *Talanta*, 2000, 52: 367-383.
- [20] H. J. Iwase. Use of nucleic acids in the mobile phase for the determination of ascorbic acid in foods by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography A*, 2000, 881: 327-330.
- [21] A. M. Maia, A. R. Baby, W. J. Yasaka, et al. Validation of HPLC stability-indicating method for vitamin C in semisolid pharmaceutical/cosmetic preparations with glutathione and sodium metabisulfite, as antioxidants. *Talanta*, 2007, 71: 639-643.
- [22] A. Tai, E. J. Gohda. Determination of ascorbic acid and its related compounds in foods and beverages by hydrophilic interaction liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 2007, 853: 214-220.
- [23] A. R. B. de Quiros, M. Fernandez-Arias and J. Lopez-Hernandez. A screening method for the determination of ascorbic acid in fruit juices and soft drinks. *Food Chemistry*, 2009, 116: 509-512.
- [24] S. Nojavan, K. F. M. Kiaie, et al. Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of Rosa canina L. fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008, 21: 300-305.
- [25] V. Spinola, B. Mendes, J. S. Camara, et al. An improved and fast UHPLC-PDA methodology for determination of L-ascorbic and dehydroascorbic acids in fruits and vegetables. Evaluation of degradation rate during storage. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 403: 1049-1058.
- [26] P. Emadi-Konjin, Z. Verjee, A. V. Levin, et al. Measurement of intracellular vitamin C levels in human lymphocytes by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC). *Clinical Biochemistry*, 2005, 38: 450-456.
- [27] 曹志广, 丁祥欢, 叶建农. 维生素片中水溶性维生素的毛细管电泳-电化法测定[J]. 分析测试学报, 1999, 18(5): 57-59.
- [28] 刘国胜, 张玉铭, 王珏云等. 用原子吸收间接法测定水果蔬菜 and 果汁饮料中的维生素 C[J]. 河北大学学报, 1999, 19(3): 260-263.
- [29] M. Noroozifar, M. Khorsani-Motlagh and K. Akhavan. Atomic absorption spectrometry for the automatic indirect determination of ascorbic acid based on the reduction of manganese dioxide. *Analytical Sciences*, 2005, 21: 655-659.
- [30] Y. C. Jiang, Z. Q. Zhang and J. Zhang. Flow-injection, on-line concentrating and flame atomic absorption spectrometry for indirect determination of ascorbic acid based on the reduction of iron(III). *Analytica Chimica Acta*, 2001, 435: 351-355.
- [31] 杨建洲, 张荣莉. 毛细管区带电泳分析果蔬中的维生素 C 含量[J]. 西北轻工业学院学报, 2001, 19(3): 12-14.
- [32] GB/T 5009.159-2003. 食品中还原型抗坏血酸的测定[S]. 中华人民共和国卫生部, 2003.