

## 还原型维生素C 检测试剂盒(二氯酚靛酚滴定法)

### 产品简介

维生素 C(Vitamin C) 是一种具有抗氧化性质的有机化合物, 又称抗坏血酸, 是高等灵长类动物与其他少数生物的必需营养素, 在生物体内, 维生素 C 是一种抗氧化剂, 同时也是一种辅酶, 为酸性己糖衍生物, 是烯醇式己糖酸内酯, 可保护身体免于自由基的威胁, 其广泛的食物来源为新鲜的蔬菜和水果, Vc 有 L-抗坏血酸和 D-抗坏血酸, 而且两种都具有强还原性, 但只有 L-抗坏血酸对人体具有生物活性。L-抗坏血酸有还原型抗坏血酸和氧化型抗坏血酸两种, 前者含量较高, 在一般蔬菜和水果中占 90%以上, L-还原型抗坏血酸极易被氧化为 L-脱氢抗坏血酸; L-脱氢抗坏血酸亦可被还原为 L-还原型抗坏血酸, 通常也称作氧化型抗坏血酸。

还原型维生素 C 检测试剂盒(二氯酚靛酚滴定法)检测原理是还原型维生素 C 易被氧化型的 2,6-二氯酚靛酚氧化成氧化型维生素 C, 2,6-二氯酚靛酚不仅是一种氧化剂, 而且是一种酸碱指示剂, 在中性和碱性溶液中呈蓝色, 在酸性溶液中为红色, 而被还原的 2,6-二氯酚靛酚为无色, 当用 2,6-二氯酚靛酚滴定含有维生素 C 的酸性溶液时维生素 C 尚未完全被氧化前, 滴下的 2,6-二氯酚靛酚立即被还原成无色; 一旦维生素 C 全部被氧化时, 滴下的 2,6-二氯酚靛酚立即被氧化成粉红色, 因此当溶液从无色转变为微红色时即表示维生素 C 刚刚全部被氧化, 此时即为滴定终点, 如果无其他杂质干扰, 待测样品所还原的标准 2,6-二氯酚靛酚量与样品中所含的还原型维生素 C 量成正比, 常用于蔬菜、水果及其制品中还原型维生素 C 含量的测定。该试剂盒仅用于科研领域, 不用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

名称 \ 编号	ADS141TC0 50T	Storage
试剂(A): Vitamin C 标准	10mg	RT 避光
试剂(B): 组织匀浆液(6×)	2×250ml	RT
试剂(C): 二氯酚靛酚	50mg	4°C 避光
试剂(D): 二氯酚靛酚稀释液	250ml	RT
使用说明书	1 份	

### 自备材料

- 1、组织捣碎器、匀浆器、滤纸、漏斗、50ml 容量瓶
- 2、100ml 三角烧瓶、10ml 吸管、5ml 微量滴定管

### 操作步骤(仅供参考)

- 1、配制 1×组织匀浆液：按组织匀浆液(6×)：蒸馏水=1：5 的比例稀释，即得。
- 2、制备样品提取液：清洗干净新鲜蔬菜或水果，用布或吸水纸吸干表面水分或自然晾干。称取 5g，加入 5ml 的 1×组织匀浆液，置于组织捣碎器中打成浆状，滤纸过滤，滤液倒入 50ml 容量瓶内，滤渣可用 1×组织匀浆液重复匀浆 1~2 次，合并滤液倒入容量瓶内，定容滤液总体积至 50ml。
- 3、配制 Vitamin C 标准液：取少量 1×组织匀浆液加入 10mg Vitamin C 标准中，充分混匀，然后完全转移至 1×组织匀浆液，即为 Vitamin C 标准液(0.1mg/ml)。注意：溶解应完全、准确，否则有可能导致标准液不准确，配制好的 Vitamin C 标准液 4℃避光保存，4 周有效(最好临用前配制)。
- 4、配制二氯酚靛酚标准液：取少量二氯酚靛酚稀释液加入 50mg 二氯酚靛酚中，充分混匀，然后完全转移至二氯酚靛酚稀释液中，并定容至 250ml，即为二氯酚靛酚标准液 (0.2mg/ml)。注意：溶解应完全、准确，否则有可能导致标准液不准确，配制好的二氯酚靛酚标准液 4℃避光保存，1 周有效。
- 5、标定二氯酚靛酚标准液：准确吸取 1ml Vitamin C 标准液(0.1mg/ml)，置于三角烧瓶中，加入 9ml 1×组织匀浆液，用微量滴定管以二氯酚靛酚标准液进行滴定，直至呈现淡红色，并保持 15s 不褪色，即为滴定终点，记录染料的用量( $V_1$ )；另取一个三角烧瓶，用 1×组织匀浆液 10ml 做空白对照，按相同方法滴定，记录染料的用量( $V_2$ )，由于 1ml Vitamin C 标准液含量是已知的，即 0.1mg；由所用二氯酚靛酚标准液的体积可计算出 1ml 二氯酚靛酚相当于 Vitamin C 的毫克数，即滴定度 T(重复 3 次，取平均值)。
- 6、维生素 C 样品滴定：准确吸取滤液 10ml 置于 100ml 三角烧瓶内，按相同方法滴定，记录染料的用量( $V_3$ ) (重复 3 次，取平均值)。

## 计算

$$100g \text{ 样品中维生素 C 的质量(mg)} = (V_3 - V_2) \times V_T / (V_5 \times m) \times T \times 100$$

$$T \text{ (mg/ml)} = 0.1 \times 1 / (V_1 - V_2)$$

式中： $V_T$  = 样品提取液的总体积(ml)

$V_5$  = 滴定时所取的样品提取液体积(ml)

$V_1$  = 染料标定所用的二氯酚靛酚标准液的体积(ml)

$V_2$  = 空白标定所用的二氯酚靛酚标准液的体积(ml)

$V_3$  = 样品提取液标定所用的二氯酚靛酚标准液的体积(ml)

T = 滴定度，即 1ml 二氯酚靛酚相当于 Vitamin C 的毫克数(mg/ml)

m = 制备样品提取液所用的样品质量(g)

## 注意事项

- 1、组织匀浆液(6×)久置或低温保存，容易产生乳白色浑浊；如果白色浑浊不明显，可以直

- 接使用，不影响效果；如果白色浑浊较多，应弃用。
- 2、配好的 Vitamin C 标准液-20℃避光保存，4 周有效(最好临用前配制)。
  - 3、配好的二氯酚靛酚标准液 4℃避光保存，1 周有效；如有条件可称取二氯酚靛酚 10mg，加入二氯酚靛酚稀释液并定容至 50ml 后使用，可避免浪费试剂。
  - 4、本产品提供的组织匀浆液可用于大部分的蔬菜和水果等样品，可抑制抗坏血酸氧化酶活性。
  - 5、松针类样品宜用 1%盐酸溶液提取。
  - 6、若样品中含大量  $Fe^{2+}$ ，可用 8%醋酸溶液提取， $Fe^{2+}$  不会很快与染料起作用。
  - 7、待测样本如不能及时测定，应置于 2~8℃避光保存，3 天内稳定。
  - 8、样品切碎的过程中，尽量避免与铁器、铜器接触，并且尽量迅速。
  - 9、某些水果、蔬菜浆状物泡沫太多，可滴加数滴丁醇或辛醇等。
  - 10、如用干滤纸过滤，应弃去起初的数毫升滤液，也可离心取上清。
  - 11、如果浆状物不易过滤，可低速离心，留取上清液进行滴定。
  - 12、样品提取液要避免日光直射，否则会加速抗坏血酸的氧化。
  - 13、如果提取物中含有较多色素，可用白陶土脱色过滤后再滴定，或加入 1ml 氯仿，到达滴定终点时，氯仿层呈现淡红色。也可采用二甲苯萃取比色法进行测定。
  - 14、如果样品是流质（如橙汁等），则无需研磨，直接取 5ml 汁液，加入等量的 1×组织匀浆液混匀后滴定即可。
  - 15、为了防止还原型维生素 C 被氧化，滴定应迅速，一般不超过 2min。
  - 16、滴定所用的二氯酚靛酚标准液一般控制在 1~4ml 之间，2ml 左右最好。
  - 17、滴定开始时二氯酚靛酚标准液应迅速加入，随后尽量一滴一滴的加入，并不断摇动三角烧瓶，直至呈粉红色，且保持 15s 不褪色，这样可以减少其他杂质的干扰。
  - 18、如果样品浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。
  - 19、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
  - 20、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**有效期：**12 个月。常温运输，按要求保存。

**附录：**该试剂盒提供的试剂均经严格称量或容量瓶定容，如果试剂盒开封使用后或可考虑 Vitamin C 标准液不再标准时，尤其是配制 Vitamin C 标准液后，放置过久，可以考虑重新标定 Vitamin C 标准液含量。其方法如下：

将 Vitamin C 标准液(0.1mg/ml)用 1×组织匀浆液稀释至 0.02mg/ml，取 Vitamin C 标准液(0.02mg/ml)5ml 置于三角烧瓶中，加入 6%碘化钾溶液 0.5ml，1%淀粉指示剂 3 滴，再以 0.001mol/L 碘酸钾标准液进行滴定，终点为蓝色。

$$\text{维生素 C 浓度(mg/ml)} = 0.088 \times V_1 / V_2$$

式中:  $V_1$ =滴定时所消耗的碘酸钾标准液的量(ml)

$V_2$ =滴定时所取的 Vitamin C 标准液的量(ml)

0.088=1ml 碘酸钾标准液相对于 Vitamin C 的量(mg)

