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、水果极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:

编号 / 名称	GCTC2055 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℃ 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 样品中维生素 C 的质量(mg)=$(V_3-V_2)\times V_T/(V_s\times m)\times T\times 100$

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

式中：V_T=样品提取液的总体积(ml)

V_s =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，可抑制抗环血酸氧化酶活性。

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 个月有效。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。

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)

相关产品：

产品编号	产品名称
GCNA0034	Tris-硼酸电泳缓冲液(5×TBE)
GCDI0636	淀粉指示剂(1%)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCOT0090	碘酸钾滴定液(0.001mol/L)
GCPW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
GCTC1169	尿尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)