



# 维生素C的定量测定

## 2, 6-二氯酚靛酚滴定法

南昌大学生物学实验教学中心 汪艳璐

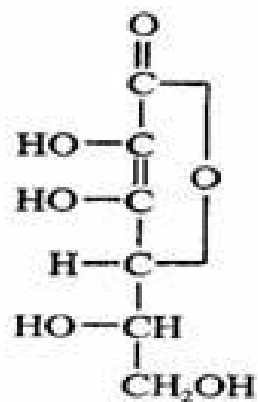
# 实验目的

了解并掌握用**2, 6-二氯酚靛酚法**测定**维生素C**的原理和方法。

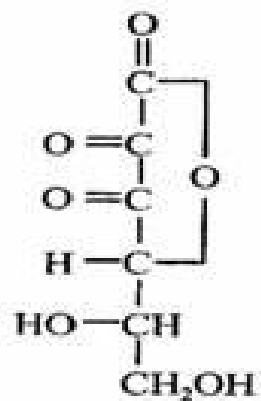
# 实验原理

维生素C能促进细胞间质的合成，与体内其它还原剂共同维持细胞正常的氧化还原电势和有关酶系统的活性。在1928年，从牛的肾上腺皮质中提取出的结晶物质，证明对治疗和预防坏血病有特殊功效，因此称为抗坏血酸。如果人体缺乏维生素C时则会出现坏血病。

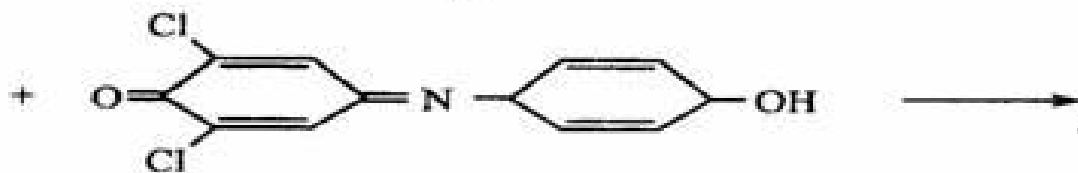
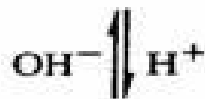
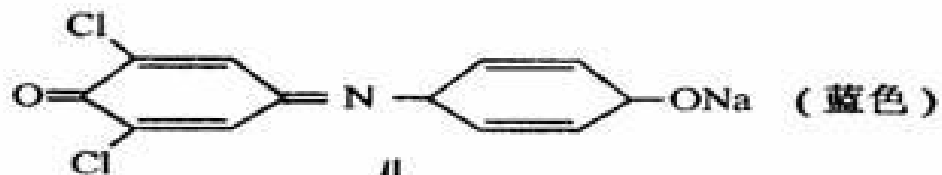
还原型抗坏血酸能还原染料2, 6-二氯酚靛酚钠盐，本身则氧化成脱氢抗坏血酸。在酸性溶液中，2, 6-二氯酚靛酚呈红色，被还原后变为无色。因此，可用2, 6-二氯酚靛酚滴定样品中的还原型抗坏血酸。当抗坏血酸全部被氧化后，稍多加一些染料，使滴定液呈淡红色，即为终点。如无其他杂质干扰，样品提取液所还原的标准染料量与样品中所含的还原型抗坏血酸量成正比。



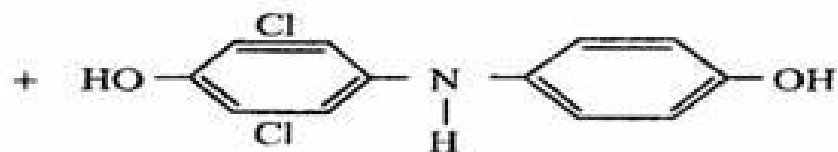
还原型抗坏血酸



脱氢抗坏血酸



2,6-二氯酚靛酚 (红色)



还原型 2,6-二氯酚靛酚 (无色)

# 实验材料与试剂

## 1、实验材料

新鲜蔬菜、新鲜水果

## 2、实验试剂

1)、2%草酸溶液：草酸2 g溶于100 ml蒸馏水中。

2)、1%草酸溶液：溶1 g草酸于100 ml蒸馏水中。

3)、标准抗坏血酸溶液（0.1 mg/ml）：准确称取50.0 mg纯抗坏血酸，溶于1%草酸溶液，并稀释至500 ml。贮于棕色瓶中，冷藏，最好临用时配置。

4)、0.1%2, 6-二氯酚靛酚溶液：溶500 mg 2, 6-二氯酚靛酚于300ml含有104mg  $\text{NaHCO}_3$ 热水中，冷却后加水稀释至500ml，滤去不溶物，贮棕色瓶内，冷藏（4℃约可保存一星期）。每次临用时，以标准抗坏血酸液标定。

# 实验器材

- 1、吸管1.0ml、10.0ml
- 2、容量瓶 100 ml
- 3、微量滴定管 5 ml
- 4、电子分析天平
- 5、研钵
- 6、漏斗

# 操作步骤

## 1、取材与预处理

新鲜蔬菜和水果类：水洗净，用纱布或吸水纸吸干表面水分。然后称取**2.5g**，加**2%**草酸适量。研磨成浆后漏斗过滤，滤液转入**25ml**容量瓶，用**2%**草酸定容。

## 2、滴定

### 1)、标准液滴定

准确吸取标准抗坏血酸溶液**1.0 ml**（含**0.1mg**抗坏血酸）置**100 ml**锥形瓶中，加**9ml 1%**草酸，微量滴定管以**0.1%2, 6-二氯酚靛酚**滴定至淡红色，并保持**15s**钟即为终点。由所用染料的体积计算出**1ml**染料相当于多少**mg**抗坏血酸。

### 2)、样液滴定

准确吸取滤液两份，每份**10.0ml**分别放入两个**100ml**锥形瓶内，滴定方法同前。



# 计算

$$\text{维生素 C 含量 (mg/100 g 样品)} = \frac{V \ T \ A}{W \ A_1} \ 100$$

式中：**V** -- 滴定样品提取液消耗染料平均值 (mL)

**T** -- 每mL 染料所能氧化抗坏血酸mg 数

**A** -- 样品提取液定容体积

**A1** -- 滴定时吸取样品提取液体积

**W** -- 样品重量

# 注意事项

- 1、2%草酸可抑制抗坏血酸氧化酶，1%草酸因浓度太低不能完成上述作用。
- 2、样品中某些杂质亦能还原二氯酚靛酚，但速度较抗坏血酸慢，故终点以淡红色存在15s内为准。
- 3、滴定过程宜迅速，一般不超过2 min。
- 4、样品的提取液制备和滴定过程，要避免阳光照射和与铜、铁器具接触，以免抗坏血酸被破坏。

# 思考题

- 1、为什么滴定过程宜迅速？
- 2、为什么滴定终点以淡红色存在15s内为准。