

水果、蔬菜维生素C含量测定法
(2,6-二氯靛酚滴定法)

UDC 634.1/.8
:635.1/.8
:543
GB 6195-86

Determination of vitamin C in vegetables and fruits
(2,6-dichloro-indophenol titration method)

1 适用范围

本标准适用于果品、蔬菜及其加工制品中还原型抗坏血酸的测定(不含二价铁、二价锡、一价铜、二氧化硫、亚硫酸盐或硫代硫酸盐),不适用于深色样品。

2 测定原理

染料2,6-二氯靛酚的颜色反应表现两种特性,一是取决于其氧化还原状态,氧化态为深蓝色,还原态变为无色;二是受其介质的酸度影响,在碱性溶液中呈深蓝色,在酸性介质中呈浅红色。

用蓝色的碱性染料标准溶液,对含维生素C的酸性浸出液进行氧化还原滴定,染料被还原为无色,当到达滴定终点时,多余的染料在酸性介质中则表现为浅红色,由染料用量计算样品中还原型抗坏血酸的含量。

3 仪器设备

- a. 高速组织捣碎机: 8000~12000 r/min。
- b. 分析天平。
- c. 滴定管: 25 ml、10 ml。
- d. 容量瓶: 100 ml。
- e. 锥形瓶: 100 ml、50 ml。
- f. 吸管: 10 ml、5 ml、2 ml、1 ml。
- g. 烧杯: 250 ml、50 ml。
- h. 漏斗。

4 试剂(凡未加说明者均为分析纯)

4.1 浸提剂

4.1.1 偏磷酸: 2%溶液(W/V)*

4.1.2 草酸: 2%溶液(W/V)。

4.2 抗坏血酸标准溶液(1 mg/ml): 称取100 mg(准确至0.1 mg)抗坏血酸**,溶于浸提剂中并稀至100 ml。现配现用。

4.3 2,6-二氯靛酚(2,6-二氯靛酚吲哚酚钠盐)溶液: 称取碳酸氢钠52 mg溶解在200 ml热蒸馏水

* 偏磷酸不稳定,切勿加热。

** 一般抗坏血酸纯度为99.5%以上,可不标定。如试剂发黄,则弃去不用。若要检查其纯度,可按附录B方法标定。

中,然后称取2,6-二氯酚50mg溶解在上述碳酸氢钠溶液中。冷却定容至250ml,过滤至棕色瓶内,保存在冰箱中。每次使用前,用标准抗坏血酸标定其滴定度。即吸取1ml抗坏血酸标准溶液于50ml锥形瓶中,加入10ml浸提剂,摇匀,用2,6-二氯酚溶液滴定至溶液呈粉红色15s不褪色为止。同时,另取10ml浸提剂做空白试验。

滴定度按式(1)计算:

$$\text{滴定度 } T \text{ (mg/ml)} = \frac{C \cdot V}{V_1 - V_2} \dots\dots\dots (1)$$

式中: T ——每毫升2,6-二氯酚溶液相当于抗坏血酸的毫克数;

C ——抗坏血酸的浓度, mg/ml;

V ——吸取抗坏血酸的体积, ml;

V_1 ——滴定抗坏血酸溶液所用2,6-二氯酚溶液的体积, ml;

V_2 ——滴定空白所用2,6-二氯酚溶液的体积, ml。

4.4 白陶土(或称高岭土):对维生素C无吸附性。

5 测定步骤

5.1 样液制备:称取具有代表性样品的可食部分100g,放入组织捣碎机中,加100ml浸提剂,迅速捣成匀浆。称10~40g浆状样品,用浸提剂将样品移入100ml容量瓶,并稀释至刻度,摇匀过滤。若滤液有色,可按每克样品加0.4g白陶土脱色后再过滤。

5.2 滴定:吸取10ml滤液放入50ml锥形瓶中,用已标定过的2,6-二氯酚溶液滴定,直至溶液呈粉红色15s不褪色为止。同时做空白试验。

6 结果计算

6.1 计算公式:

维生素C按式(2)计算:

$$\text{维生素C (mg/100g)} = \frac{(V - V_0) \cdot T \cdot A}{W} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中: V ——滴定样液时消耗染料溶液的体积, ml;

V_0 ——滴定空白时消耗染料溶液的体积, ml;

T ——2,6-二氯酚染料滴定度, mg/ml;

A ——稀释倍数;

W ——样品重量, g。

6.2 平行测定的结果,用算术平均值表示,取三位有效数字,含量低的保留小数点后两位数字。

6.3 平行测定结果的相对相差,在维生素C含量大于20mg/100g时,不得超过2%,小于20mg/100g时,不得超过5%。

附 录 A
二甲苯—二氯靛酚比色法
(补充件)

A.1 适用范围

测定深色样品中还原型抗坏血酸。

A.2 测定原理

用定量的2,6-二氯靛酚染料与试样中的维生素C进行氧化还原反应,多余的染料在酸性环境中呈红色,用二甲苯萃取后比色,在一定范围内,吸光度与染料浓度呈线性相关,由剩余染料浓度用差减法计算维生素C含量。

A.3 仪器设备

A.3.1 分光光度计或比色计。

A.3.2 具塞试管:50ml。

A.4 试剂(皆为分析纯)

A.4.1 偏磷酸:2%溶液(W/V)。

A.4.2 乙酸钠缓冲溶液(pH4.0):500ml50%(W/V)的乙酸钠溶液与500ml冰乙酸混合。

A.4.3 2,6-二氯靛酚溶液:参照4.3条。

A.4.4 二甲苯。

A.5 测定步骤

A.5.1 标准曲线的绘制:用6只50ml具塞试管加入5ml2%偏磷酸和5mlpH4.0的乙酸钠缓冲液,然后依次加入0.0,0.1,0.3,0.6,0.9,1.2及1.5ml2,6-二氯靛酚溶液,用力摇动5s,再向各试管中加入10ml二甲苯,再激烈摇动20s,静置分层后与试样管同时比色(无染料的试液作空白),以吸光度为纵坐标,2,6-二氯靛酚的毫升数为横坐标绘制标准曲线。

A.5.2 吸取5ml2%偏磷酸样品浸出液(参照5.1条)于50ml具塞试管中,加5mlpH4.0的乙酸钠缓冲液和2ml染料溶液,激烈摇动5s,立即加入10ml二甲苯,再激烈摇动20s,待静置分层后,从二甲苯层中小心吸取一份,放入1cm比色杯中于500nm波长下进行比色。记录吸光度A,在标准曲线上查出二甲苯层中2,6-二氯靛酚的毫升数。整个操作应在30min内完成。

A.6 计算公式

$$\text{维生素C (mg/100g)} = \frac{(2 - V) \cdot T \cdot A}{W} \times 100$$

式中:2——所用2,6-二氯靛酚染料的体积,ml;

V——查得2,6-二氯靛酚溶液的体积,ml;

A——稀释倍数;

T——染料滴定度,mg/ml;

W——样品重量,g。

附录 B
抗坏血酸纯度检验法
(补充件)

B.1 称取100mg(准确至0.1mg)抗坏血酸待测样品,用2%偏磷酸或2%草酸溶液溶解稀释至100ml。

B.2 吸取抗坏血酸溶液1ml于盛10ml 2%偏磷酸或2%草酸溶液的锥形瓶中,加入6%碘化钾溶液0.5ml和1%淀粉溶液五滴,摇匀。用 1.67×10^{-4} M碘酸钾标准溶液滴定,终点为极淡蓝色。

B.3 计算公式

B.3.1 抗坏血酸浓度按式(B1)计算:

$$\text{抗坏血酸浓度} = \frac{V_1 \times 0.088}{V_2} \dots\dots\dots(\text{B1})$$

式中: V_1 ——滴定时消耗 1.67×10^{-4} M碘酸钾标准溶液的体积, ml;

V_2 ——所取抗坏血酸溶液的体积, ml;

0.088——1ml 1.67×10^{-4} M碘酸钾溶液相当于抗坏血酸的重量, mg;

B.3.2 抗坏血酸纯度(%)按式(B2)计算:

$$\text{抗坏血酸纯度}(\%) = \frac{C \cdot V}{W} \times 100 \dots\dots\dots(\text{B2})$$

式中: C ——所标定抗坏血酸的浓度, mg/ml;

V ——抗坏血酸溶液总体积, ml;

W ——抗坏血酸重量, mg。

附加说明:

本标准由中华人民共和国农牧渔业部提出。

本标准由江苏省农科院综合实验室负责起草。