

脱氢抗坏血酸（DHA）检测试剂盒（菲咯啉比色法）

产品货号：BA1715

产品规格：50T

产品简介：

维生素C(Vitamin C)又称 L-抗坏血酸(AsA)，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，为酸性己糖衍生物，是稀醇式己糖酸内酯，保护身体免于自由基的威胁，同时也是一种辅酶，其广泛的食物来源为各类新鲜蔬果。Vc有L型和D-型两种异构体，只有L-型的才具有生理功能，还原型和氧化型都有生理活性。

脱氢抗坏血酸(DHA)检测试剂盒(菲咯啉比色法)检测原理是利用还原剂将脱氢抗坏血酸还原成还原型抗坏血酸，在酸性条件下维生素C(抗坏血酸)把三价铁离子还原成亚铁离子，后者与菲咯啉形成稳定的红色螯合物，以分光光度计534nm处检测吸光度，在一定浓度范围(样品浓度控制在10~250 μ g/ml)吸光度与抗坏血酸含量呈线性关系，获得抗坏血酸含量。该试剂盒主要用于植物组织中的维生素C(抗坏血酸)的检测，计算出总抗坏血酸含量，从中减去样品中原有的还原型抗坏血酸含量，即得脱氢抗坏血酸含量，其优点是：1、反应稳定，不易褪色；2、操作简便；3、还原糖及其他常见的还原物质对实验没有干扰，因此专一性好；4、灵敏度高。本试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

产品名称	50T	保存条件
试剂(A): 抗坏血酸标准(250 μ g/ml)	2ml	2-8℃，避光
试剂(B): 组织匀浆液(5 $\times$)	500ml	室温，避光
试剂(C): DHA还原液	100ml	-20℃
试剂(D): NaOH溶液	50ml	室温
试剂(E): 酸性缓冲液	15ml	室温
试剂(F): AsA Assay buffer	15ml	室温，避光
试剂(G): 菲咯啉显色液	30ml	2-8℃，避光

自备材料：

1. 蒸馏水
2. 无水乙醇
3. 研钵或匀浆器
4. 离心管或试管
5. 离心机
6. pH试纸或pH计
7. 比色杯
8. 分光光度计

操作步骤 (仅供参考)：

1. 稀释组织匀浆液：按组织匀浆液(5 $\times$)：蒸馏水=1：4的比例稀释，获得1 $\times$ 组织匀浆液，待用。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

2. 制备AsA提取液：取待测材料如青菜、水果、松针等，清洗擦干，准确称量5g，加入研磨器内，再加入少量1×组织匀浆液，研磨碎，留取上清，再次用1×组织匀浆液研磨，最后一并倒入50ml离心管，补充1×组织匀浆液至45ml，充分混匀后，4000g离心5min，留取上清液即为AsA提取液。
3. 制备DHA待测液：取4ml AsA提取液，加入2ml DHA还原液，用NaOH溶液调节pH至7~8，室温下静置10min，使脱氢抗坏血酸还原成抗坏血酸，再加入1.6ml组织匀浆液(5×)和0.4ml蒸馏水即为DHA待测液。
4. 配制系列抗坏血酸标准：取干净离心管或试管，按下表进行操作，依次稀释。

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6
抗坏血酸(250μg/ml)	0.02	0.04	0.08	0.12	0.16	0.2
蒸馏水	0.48	0.46	0.42	0.38	0.34	0.3
相当于抗坏血酸含量(μg)	5	10	20	30	40	50

5. DHA加样：按照下表设置空白管、标准管、AsA测定管、DHA测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的抗坏血酸含量过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置2平行管，求平均值。

加入物(ml)	空白管	标准管	AsA测定管	DHA测定管
1×组织匀浆液	1.0	0.5	0.5	-
系列抗坏血酸(1~6号)	-	0.5	-	-
上清液	-	-	0.5	-
DHA待测液	-	-	-	1.0
无水乙醇	0.5	0.5	0.5	0.5
酸性缓冲液	0.25	0.25	0.25	0.25
AsA Assay buffer	0.25	0.25	0.25	0.25
菲咯啉显色液	0.5	0.5	0.5	0.5

6. DHA测定：立即混匀，以空白调零，比色光径1cm，以分光光度计测定534nm处系列标准管、AsA测定管、DHA测定管的吸光度。

计算：以系列标准抗坏血酸(5、10、20、30、40、50μg)为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，求得回归方程。以AsA测定管吸光度代入回归方程求得AsA提取液中AsA含量；以DHA测定管吸光度代入回归方程求得DHA待测液中总AsA含量；总AsA含量与AsA提取液中AsA含量的差值即为脱氢抗坏血酸(DHA)含量。

$$\text{DHA含量(mg/100g)} = (m_0 \times V_T \times 100) / (m_1 \times V_S \times 1000)$$

式中： m_0 = 总AsA含量与AsA提取液中AsA含量的差值(μg)

V_T = 待测液的总体积(ml)

m_1 = 样品质量(g)

V_S = 测定时取样体积(ml)

100 = 100g

注意事项：

1. 上述低温试剂避免反复冻融，以免失效或效率下降。
2. 组织匀浆液(5×)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。
3. 待测样本如不能及时测定，应置于2~8℃保存，3天内稳定。
4. 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。

有效期：6个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com