

## 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 $\mu$ 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 $\mu$ g/ml)	2ml	2-8 $^{\circ}$ C, 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 $^{\circ}$ C
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 $^{\circ}$ C, 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。
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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

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、50 μg)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

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com