脱氢抗坏血酸(DHA)检测试剂盒(菲咯啉微板法)

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(菲咯啉微板法)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,在酸性条件下还原型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,以酶标仪 534nm 处检测吸光度,在一定浓度范围(样品浓度控制在 1~40μg/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。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:

编号 / 名称	GCTC2040 100T	Storage
试剂(A): Vitamin C 标准	20mg	RT 避光
试剂(B): 组织匀浆液(5×)	500ml	RT 避光
试剂(C): DHA 还原液	200ml	-20℃ 避光
试剂(D): NaOH 溶液	100ml	RT
试剂(E): 酸性缓冲液	3ml	RT
试剂(F): AsA Assay buffer	3ml	RT
试剂(G): 菲咯啉显色液	6ml	RT 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、蒸馏水、无水乙醇

2、研钵或匀浆器、离心机、离心管或试管、pH 试纸或 pH 计、酶标仪、酶标条

操作步骤(仅供参考):

1、稀释组织匀浆液:按组织匀浆液(5×):蒸馏水=1:4 的比例稀释,获得 1×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 2.5g，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 22.5ml，充分混匀，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：将 Vitamin C 标准 20mg 用 2ml 1×组织匀浆液溶解，再稀释至 50μg/ml，取干净的 96 孔板，按下表进行操作，依次稀释。

加入物(μl)	1	2	3	4	5	6
抗坏血酸(50μg/ml)	1	4	7	10	20	40
1×组织匀浆液	49	46	43	40	30	10
抗坏血酸浓度(μg/ml)	1	4	7	10	20	40

5、DHA 加样：按照下表设置空白孔、标准孔、AsA 测定孔、DHA 测定孔，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 平行孔，求平均值。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	AsA 测定孔	DHA 测定孔
1×组织匀浆液	100	50	50	—
系列抗坏血酸(1-6 号)	—	50	—	—
上清液	—	—	50	—
DHA 待测液	—	—	—	100
无水乙醇	50	50	50	50
酸性缓冲液	25	25	25	25
AsA Assay buffer	25	25	25	25
菲咯啉显色液	50	50	50	50

6、DHA 测定：立即混匀，30℃条件下反应 60min，以空白调零，酶标仪测定 534nm 处系列标准孔、AsA 测定孔、DHA 测定孔的吸光度。

计算：以系列标准抗坏血酸浓度(1、4、7、10、20、40μg/ml)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 测定孔吸光度代入回归方程求得 AsA 提取液中 AsA 含量；以 DHA 测定孔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。

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、 组织匀浆液(5×)有腐蚀性，请小心操作。

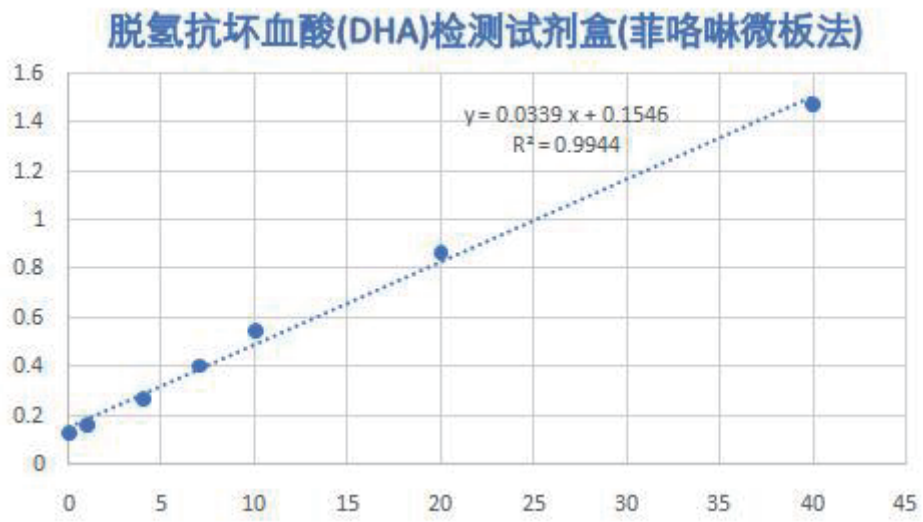
4、 待测样品如不能及时测定，应置于 2~8℃保存，3 天内稳定。

5、 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。

6、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期： 6 个月有效。低温运输，按要求保存。

附录：标准曲线制作：在室温条件下按说明书操作，用酶标仪 540nm 对系列标准(0、1、4、7、10、20、40μg/ml)进行吸光度的测定，其标准曲线如下(仅供参考)：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，标准曲线会有差异，该值仅供参考，根据测定经验显示 Vc 标准在 0.5μg/ml 以下，40μg/ml 以上，标准曲线会有偏差。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCDH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
GCDI0635	淀粉指示剂(1%)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCPT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
GCPW0035	Western 转移缓冲液(5×)
GCTC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)
GCTP1023	植物根系活力检测试剂盒(TTC 比色法)

