还原型维生素 C 检测试剂盒(二氯酚靛酚比色法)

产品简介:

维生素 C(Vitamin C) 是一种具有抗氧化性质的有机化合物，又称抗坏血酸，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，同时也是一种辅酶，为酸性己糖衍生物，是烯醇式己糖酸内酯，可保护身体免于自由基的威胁，其广泛的食物来源为新鲜的蔬菜和水果，Vc 有 L-抗坏血酸和 D-抗坏血酸，而且两种都具有强还原性，但只有 L-抗坏血酸对人体具有生物活性。L-抗坏血酸有还原型抗坏血酸和氧化型抗坏血酸两种，前者含量较高，在一般蔬菜和水果中占 90%以上，L-还原型抗坏血酸极易被氧化为 L-脱氢抗坏血酸；L-脱氢抗坏血酸亦可被还原为 L-还原型抗坏血酸，通常也称作氧化型抗坏血酸。

还原型维生素 C 检测试剂盒(二氯酚靛酚比色法)检测原理是向一定提取液中加入过量的 2,6-二氯酚靛酚染料溶液，与还原型抗坏血酸作用后，2,6-二氯酚靛酚被还原，多余的 2,6-二氯酚靛酚可用二甲苯萃取比色，待测液中抗坏血酸的含量与二甲苯萃取的颜色呈线性负相关，即待测液中抗坏血酸含量越高，未被还原的染料就越少，二甲苯萃取的颜色就越浅，由于水溶性的花青素不溶于二甲苯，因此不影响测定结果，常用于蔬菜、水果中还原型维生素 C 含量的测定，特别适用于花青素含量高的蔬菜类样品。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCTC2057 50T	Storage
试剂(A): Vitamin C 标准	10mg	RT 避光
试剂(B): 组织匀浆液(12×)	250ml	RT
试剂(C): 二氯酚靛酚	20mg	4℃ 避光
试剂(D): 二氯酚靛酚稀释液	20ml	RT
试剂(E): 硫酸锌溶液	25ml	RT
试剂(F): 亚铁盐溶液	25ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、 新鲜蔬菜或水果等样品、蒸馏水、二甲苯

2、 组织捣碎器、匀浆器、滤纸、漏斗、容量瓶(10ml 、50ml)、分光光度计、比色杯

操作步骤(仅供参考)：

1、配制 1×组织匀浆液：按组织匀浆液(12×)：蒸馏水=1：11 的比例稀释，即得。

2、配制 2×组织匀浆液：按组织匀浆液(12×)：蒸馏水=1：5 的比例稀释，即得。

3、制备样品提取液：清洗干净新鲜蔬菜或水果，用布或吸水纸吸干表面水分或自然晾干。称取 1g，加入 1.5ml 的 2×组织匀浆液，置于组织捣碎器中打成浆状，滤液倒入 50ml 容量瓶内，滤渣可用 1×组织匀浆液重复匀浆 1~2 次，合并滤液倒入容量瓶内，加入 0.5ml 硫酸锌溶液，摇动容量瓶，再加入 0.5ml 亚铁盐溶液，晃动以除去脂溶性色素，再用 1×组织匀浆液定容至刻度，摇匀后过滤至干净小烧杯中备用。

4、配制 Vitamin C 标准液：取少量 1×组织匀浆液加入 10mg Vitamin C 标准中，充分混匀，然后完全转移至 10ml 容量瓶，用 1×组织匀浆液稀释至刻度，即为 Vitamin C 标准储液(1mg/ml)；再取 0.5ml 标准储液加入 10ml 容量瓶中，用 1×组织匀浆液稀释至刻度，即为 Vitamin C 标准液(0.05mg/ml)；注意：Vc 标准液最好临用前配制。

5、配制二氯酚靛酚溶液：取少量二氯酚靛酚稀释液加入 10mg 二氯酚靛酚中，充分混匀，然后完全转移至二氯酚靛酚稀释液中，即得二氯酚靛酚储液(如有必要，可加热助溶)。临用前，按二氯酚靛酚储液：蒸馏水=1：4 的比例稀释，即得二氯酚靛酚溶液，此溶液每毫升约相当于含有 0.1mg 的维生素 C。

6、配置 Vc 梯度标准：按下边分别吸取 Vitamin C 标准液和 1×组织匀浆液，(单位：ml)

管号	0	1	2	3	4	5
Vitamin C 标准液	0	0.3	0.6	0.75	0.9	1.2
1×组织匀浆液	1.2	0.9	0.6	0.45	0.3	0
Vc 含量/ug	0	15	30	37.5	45	60

7、维生素 C 加样：按照下表设置标准管、测定管，溶液应按照顺序依次加入；如果样品中的 Vc 浓度过高，可减少样品用量，可补加 1×组织匀浆液后再进行测定，样品的检测最好能设置平行管。

加入物(ml)	标准管	测定管
1×组织匀浆液	—	—
系列 Vc 标准液(0~5 号)	1.2	—
样品提取液	—	1.2
二氯酚靛酚溶液	0.6	0.6
二甲苯	1.5	1.5

8、维生素 C 测定：迅速摇动约 30s，静置后二甲苯与水层分离，吸取各管上层二甲苯层萃取溶液倒入 1cm 比色皿中，以二甲苯做空白调零，分光光度计测定各管 500nm 吸光度(即为 $A_{标准}$、$A_{测定}$)。

计算：以系列维生素 C 含量(0、15、30、37.5、45、60ug)为横坐标，对应吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，求得回归方程；$A_{测定}$代入回归方程求得待测样品中维生素 C 含量。

100g 样品中维生素 C 的质量(mg/100g)=$m_0 \times V_T/(1000 \times V_s \times m) \times 100 \times N$

式中：m_0=1.2ml 提取液中维生素 C 含量(ug)

V_T=样品提取液总体积(ml)

V_s=测定用样品提取液体积(ml)=1.2

m=样品鲜质量(g)

N=样本稀释倍数

1000= ug 与 mg 的比例换算

注意事项：

1、 组织匀浆液(12×)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。

2、 配好的 Vitamin C 标准液 4℃避光保存，4 周有效(最好临用前配制)，也可-20℃保存。

3、 配制好的二氯酚靛酚储液 4℃避光保存，配好的二氯酚靛酚溶液 4℃避光保存，1 周有效；如有条件可称取二氯酚靛酚 10mg，加入 10ml 二氯酚靛酚稀释液充分溶解，可避免浪费试剂。

4、 该试剂盒提供的组织匀浆液可用于大部分的蔬菜和水果等样品，可抑制抗环血酸氧化酶活性。

5、 样品提取液要避免日光直射，否则会加速抗坏血酸的氧化。

6、 测定溶液中含有二甲苯等有机溶剂，不能用塑料比色皿测定。

7、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

8、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效。常温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCNA0034	Tris-硼酸电泳缓冲液(5×TBE)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCPW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
GCTC1169	尿尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)