



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。

源叶还原型维生素 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	R24193-50T	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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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 1ml 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 9ml 二氯酚靛酚稀释液中, 即得二氯酚靛酚储液(1mg/ml)(如有必要, 可加热助溶)。临用前, 按二氯酚靛酚储液(1mg/ml): 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	1	2	3	4
Vitamin C 标准液	0.8	1	1.2	1.4
1×组织匀浆液	1.2	1	0.8	0.6
Vc 浓度(ug/ml)	20	25	30	35

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
系列 Vc 标准液(1~4 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 浓度(0、10、15、20、25、30、35ug/ml)为横坐标，对应吸光度为纵坐标，绘制标准曲线；A 测定代入方程求得待测样品中维生素 C 浓度。

$$100g \text{ 样品中维生素 C 的质量(mg/100g)} = C \times VT \times N \times 100 / (1000 \times m)$$

式中：C=(经稀释后)提取液中维生素 C 浓度(ug/ml)

VT=样品提取液总体积(ml)

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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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, 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, 可抑制抗坏血酸氧化酶活性。

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: 2-8℃避光保存, 12 个月有效。

