

食品及び一般分析用試薬キット

E-キット L-アスコルビン酸
ENZYTEC L-Ascorbic Acid

製品番号
比色法 要 2~8 °C保存 E1267

包装単位
24回 測定用



(製品写真例)

はじめに

E-キット L-アスコルビン酸は、食品及び一般試料中の L-アスコルビン酸の酵素法による比色法測定キットです。測定には、比色計又は分光光度計が必要です。

本法は、MEBAK により推奨されています。

測定原理

L-アスコルビン酸 + X-H₂ + MTT* → PMS**

→ デヒドロアスコルビン酸 + X + MTT-フォルマザン + H⁺

(*MTT ; 3-(4,5-ジメチルチアゾリル-2)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド)

(**PMS ; 5-メチルフェナジニウムメチルサルフェイト)

L-アスコルビン酸 + 1/2 O₂ → アスコルビン酸オキシダーゼ (AAO)

→ 酸化アスコルビン酸 + H₂O

この反応で生成される MTT-フォルマザンの量は、L-アスコルビン酸の量と化学量論的に等しくなり、578nm の吸光度で測定されます。

測定条件

波長 : 578 nm (MTT-フォルマザン)

光路長 : 1.00cm (ガラスまたはプラスチック製セル)

温度 : +37°C

反応液量 : 2.700 mL

測定対照 : 水

試料溶液 : 0.100 ~ 1.600 mL

試料溶液中 0.5 ~ 20 µg L-アスコルビン酸

試薬

試薬#1:(3 本). 約 26 ml のリン酸ナトリウム/クエン酸バッファー:
pH 約 3.5、約 80 mg の MTT 含有。

試薬#2. 約 600 U の AAO (安定性は包装ラベルを参照) の凍結乾燥粉末。

試薬#3. 約 5.5 ml の約 23.5 mg の PMS を含む溶液。

濃度計算

試料中の L-アスコルビン酸の濃度 (C) は、測定された吸光度差 (ΔA) から下記の式で計算されます。

$$C(\text{g/L}) = \frac{V \times MW \times \Delta A}{\epsilon \times d \times v \times 1000}$$

V = 反応液量 (mL)
MW = 分子量 (L-アスコルビン酸)
d = 光路長 (cm)
ε = モル吸光係数
v = 試料量 (mL)

必要試薬 (キットには含まれません)

測定試験のコントロールとして、L-アスコルビン酸 0.2g/L の標準液を使用します。

取扱上の注意

この測定用試薬類はすべて、人に無害です。化学実験室における作業用一般安全性規則に準拠して、使用後は実験室廃棄物として処理できます。包装材料はリサイクルできます。

特長

- 特異性: L-アスコルビン酸に特異的 (イソアスコルビン酸の反応速度は非常に遅く、L-アスコルビン酸が 6 分を要する場合、イソアスコルビン酸は 20 分を要します) です。市販の L-アスコルビン酸を測定した場合の含有量は、L-アスコルビン酸が酸化されるため、試料が製造されてからの時間あるいは貯蔵条件により <100 % の結果が得られることが多くあります。
- 感度: 0.1 mg/L (ΔA = 0.005; v = 1.600 mL; V = 2.700 mL)
- 検出限度: 0.3 mg/L (ΔA = 0.015; v = 1.600 mL; V = 2.700 mL)
- 直線性: 0.5 µg/測定 (v = 1.600 mL; V = 2.700 mL) ~ 20 µg/測定 (v = 0.100 mL; V = 2.700 mL)
- 精度: ΔA = ± 0.005 ~ 0.010 吸収単位 (Abs.)
CV = 約 1 ~ 3 %
- 測定妨害: > 20 mg D-ソルビトール/測定および、> 100 mg エタノールの存在は AAO を阻害します。> 50 µg 亜硫酸塩/測定は、クリーブ反応により MTT/PMS と反応します。ワイン中の亜硫酸塩はフォルムアルデヒドを添加することにより除去します。
- 技術情報:
 - MTT 反応系および特に PMS との反応系は光の影響を受け易いのでご注意ください。
 - AAO を添加後は激しく混和してください。AAO により消費した酸素を新たに空気から取り込むために行います。
 - メタリン酸 (例 Merck カタログ番号 546、1.5 % (w/v) 溶液は水酸化カリウム (10 M) により pH を 3.5 ~ 4.0 に調節して使用します。

株式会社 J.K.インターナショナル

〒103-0025 東京都中央区日本橋茅場町 3-2-10 鉄鋼会館 5F
(アズマックス(株)内)

TEL 03-6661-6132 FAX 03-6661-1091

E-mail: info@jki.co.jp URL: http://www.jki.co.jp