

维生素 C 检测试剂盒(磷钼酸微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

维生素 C(VitaminC)又称 L-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，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。

维生素 C 检测试剂盒(磷钼酸微板法)检测原理是在强酸和偏磷酸根离子存在条件下，钼酸铵能与还原型维生素 C 反应生成蓝色化合物，在一定浓度范围吸光度值与浓度呈线性关系，以酶标仪 760nm 处检测吸光度，获得 VitaminC 含量。该试剂盒主要用于植物组织中的还原型维生素 C(抗坏血酸)的检测，其优点是：1、反应迅速；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，专一性好。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：

名称		规格	保存条件
维生素 C 检测试剂盒(磷钼酸微板法)		100T	
试剂(A):VitaminC 标准(250 μ g/ml)		2ml	4℃避光
试剂(B):组	试剂(B1):组织匀浆液 A	100ml	RT
织匀浆液	试剂(B2):组织匀浆液 B	100ml	RT
试剂(C):MPA		0.2g	RT
试剂(D):酸性缓冲液 I		5ml	RT
试剂(E):酸性缓冲液 II		10ml	RT
试剂(F):钼酸铵		0.5g	RT
使用说明书		1 份	
有效期		6 个月	

自备材料：

- 1、蒸馏水
- 2、电子天平、研磨器或匀浆器
- 3、离心机、离心管或试管

- 4、水浴锅或恒温箱
- 5、酶标仪、96 孔板

操作步骤(仅供参考):

- 1、配制组织匀浆液：按组织匀浆液 A:组织匀浆液 B:蒸馏水=8:1:91 的比例混匀即得。
- 2、准备样品：取待测材料如青菜、水果、松针等，清洗擦干，准确称量 1g，加入研磨器内，再加入少量组织匀浆液，研磨碎，留取上清，再次用组织匀浆液研磨，最后一并倒入 10ml 离心管，补充组织匀浆液至 10ml，充分混匀，4000r/min 离心 5min，取 0.05ml 上清液，加入等量蒸馏水，即为待测液。
- 3、配制 MPA 工作液：称取 0.3gMPA 粉末，充分溶解于 10ml 酸性缓冲液 I 中，也可根据使用情况称取一定量的 MPA 按比例溶解即可，4℃ 保存 3~4 天有效。
- 4、配制 VitaminC Assay buffer：取钼酸铵粉末 0.5g，充分溶解于 10ml 蒸馏水中，也可根据使用情况称取一定量的钼酸铵加水按比例溶解即可，4℃ 避光保存。注意：钼酸铵溶于水会逐渐变化成乳白色浊液，则不能使用。
- 5、配制系列 VitaminC 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(μl)	1	2	3	4	5	6	7
VitaminC 标准(250 μg/ml)	20	30	40	50	60	80	100
蒸馏水	80	70	60	50	40	20	0
相当于 VitaminC 浓度(μg/ml)	50	75	100	125	150	200	250

- 6、VitaminC 加样：按照下表设置空白孔、标准孔、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 VitaminC 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	空白孔	测定孔
蒸馏水	40	—	—
系列 VitaminC 标准(1~7 号)	—	40	—
待测液	—	—	40
1×组织匀浆液	80	80	80
MPA 工作液	20	20	20
酸性缓冲液 II	40	40	40
VitaminC Assay buffer	80	80	80

- 7、VitaminC 测定：立即混匀，30℃ 水浴 20min，空白调零，以酶标仪测定 760nm 处系列标准孔、测定孔的吸光度。

计算：以系列标准 VitaminC(50、75、100、125、150、200、250 μg/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，以测定孔的吸光度代入回归方程求得样品维生素 C 含量。

100g 样品中维生素 C 含量(mg)

$$=(c_0 \times V_1) \times 100 / (m_1 \times 1000) = (c_0 \times V_1) / (m_1 \times 10)$$

式中：c₀:待测样品的吸光度值在标准曲线上查出的维生素 C 的浓度(μg/ml)

V₁:待测液的总体积(ml)

m₁:样品质量(g)

1000: μg 换算成 mg

注意事项:

- 1、VitaminC 标准避免反复冻融，以免失效或效率下降。
- 2、组织匀浆液 A 保存温度过低时易产生结晶，可用温水浴溶解后再使用。
- 3、VitaminC Assay buffer 室温保存时间过长或者过期会出现白色粘稠物，不可使用，应换新的产品使用。不使用时建议 4℃ 保存。
- 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。

附录 1: 标准曲线制作: 在室温条件下按说明书操作，用分光光度计对系列标准进行吸光度的测定，其标准曲线如下(仅供参考):



