



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](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 维生素 C 检测试剂盒(菲咯啉微板法)

### 简介:

维生素 C(Vitamin C)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。

源叶生物 维生素 C 检测试剂盒(菲咯啉微板法)检测原理是在酸性条件下,维生素 C 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 0.5~35 $\mu$ g/ml)吸光度与维生素 C 含量呈线性关系,获得 Vitamin C 含量,主要用于植物组织中的维生素 C(抗坏血酸)的检测,其优点是: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。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

### 组成:

名称 \ 编号	R30288 100T	Storage
试剂(A): Vitamin C 标准	25mg	4℃ 避光
试剂(B): 组织匀浆液(5 $\times$ )	500ml	RT 避光
试剂(C): 酸性缓冲液	3ml	RT
试剂(D): Vitamin C Assay Buffer	3ml	RT
试剂(E): 菲咯啉显色液	6ml	4℃ 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、试管
- 3、96 孔板、酶标仪、恒温箱或水浴锅

## 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。

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 2~3g, 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 22ml, 充分混匀, 4000g 离心 5min, 上清液即为待测液。

3、配制系列 Vitamin C 标准: 将 25mg Vitamin C 标准用 1ml 1×组织匀浆液溶解即得 Vitamin C 标准(25mg/ml), 再用 1×组织匀浆液稀释成 Vitamin C 标准(50ug/ml), 取干净离心管或试管, 按下表进行操作, 依次稀释。配置好的 Vitamin C 标准(25mg/ml)放置-20℃, 短期保存。

加入物(μl)	1	2	3	4	5	6
Vitamin C 标准(50μg/ml)	4	10	16	20	40	60
1×组织匀浆液	96	90	84	80	60	40
相当于 Vitamin C 浓度(μg)	2	5	8	10	20	30

4、Vitamin C 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 Vitamin C 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 2~3 平行孔, 求平均值。



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](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

加入物(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
1×组织匀浆液	100	—	—
系列 Vitamin C 标准(1~6 号)	—	100	—
待测液	—	—	100
无水乙醇	50	50	50
混匀			
酸性缓冲液	25	25	25
菲咯啉显色液	50	50	50
Vitamin C Assay Buffer	25	25	25

5、Vitamin C 测定: 混匀, 30℃温箱中反应 60min, 以空白调零, 酶标仪测定 534nm 处系列标准孔、测定孔的吸光度。

### 计算:

以系列标准 Vitamin C(0、2、5、8、10、20、30μg)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。以测定孔吸光度代入回归方程求得维生素 C 含量。

$$\text{维生素 C 含量(mg/100g)} = (m_0 \times V_T \times 100) / (m_1 \times V_S \times 1000)$$

式中:  $m_0$  = 根据待测样品的吸光度在标准曲线求得的维生素 C 的质量(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

1000 = μg 与 mg 的换算系数

### 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、组织匀浆液有腐蚀性, 应小心操作, 避免直接接触。



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](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

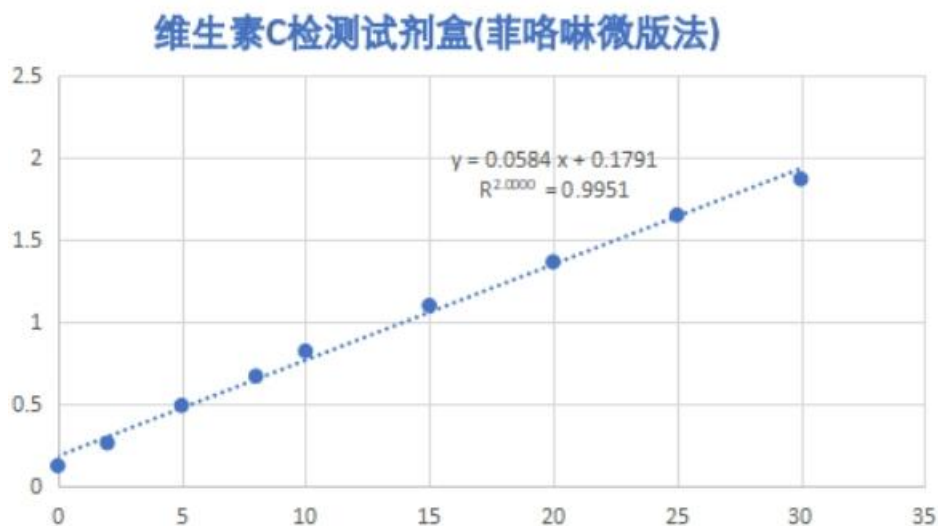
3、加样后反应不完全，因此不能立即测定，一般情况下 60min 内即可充分反应，应当在 60~120min 内测定完成。

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。

**有效期：**6 个月有效；4℃ 运输，4℃ 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、2、5、8、10、20、30μg)μg)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 以下，60μg 以上，标准曲线会有偏差。