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

维生素 C 检测试剂盒(磷钼酸微板法)

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(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 Vitamin C 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。

组成：

名称 \ 编号		R22194 100T	Storage
试剂(A): Vitamin C 标准		25mg	RT 避光
试剂(B): 组织匀浆液	试剂(B1): 组织匀浆液 A	100ml	RT
	试剂(B2): 组织匀浆液 B	12ml	RT
试剂(C): MPA		0.1g	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	

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

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、水浴锅或恒温箱、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，4000r/min 离心5min,取上清并补充组织匀浆液至10ml,充分混匀，即为待测液。如果样品维生素C浓度较低，可适当提高研磨时组织的质量。

3、配制 MPA 工作液：称取 0.1g MPA 粉末，充分溶解于 5ml 酸性缓冲液Ⅰ中，30℃水浴超声，边超声边摇晃，3min可以溶解，温度越低溶解越慢；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 Vitamin C 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 Vitamin C 标准：将 25mg Vitamin C 标准用 1ml 组织匀浆液溶解即得 Vitamin C 标准(25mg/ml)，再用蒸馏水稀释成 Vitamin C 标准(250ug/ml)， 取干净离心管或试管，按下表进行操作，依次稀释。Vitamin C 标准(25mg/ml)放置-20℃， 短期保存。

加入物(μl)	1	2	3	4	5	6	7
Vitamin C 标准(250μg/ml)	20	30	40	50	60	80	100
蒸馏水	80	70	60	50	40	20	0
相当于 Vitamin C 浓度(μg/ml)	50	75	100	125	150	200	250

6、Vitamin C 加样：按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔，溶液应按顺序依次加入，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 平行孔，求平均值。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水	40	_	_
系列 Vitamin C 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
Vitamin C Assay buffer	80	80	80

注意：30℃恒温可以用水浴或者金属浴。烘箱温度传导效率低，溶液整体温度低会有沉淀析出，如果无法水浴或者金属浴，可以提前将1x组织匀浆液，MPA工作液，酸性缓冲液II和Vitamin C Assay buffer提前预热至30℃再使用。

7、Vitamin C 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 Vitamin C (50、75、100、125、150、200、250μg/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)

$=(C_0\times V_1)\times 100/(m_1\times 1000)\times D=(C_0\times V_1)/(m_1\times 10)\times D$

式中: C_0: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(ug/ml)

V:待测液的总体积(ml)=10

m1:样品质量(g)=1

1000: ug换算成mg

D:待测样品的稀释倍数

注意事项：

1、Vitamin C 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、Vitamin C 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。

有效期：6 个月有效。常温运输和保存。