

维生素 C 检测试剂盒(磷钼酸比色法)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，是烯醇式己糖酸内酯，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(磷钼酸比色法)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，以分光光度计 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(磷钼酸比色法)		50T	4℃避光
试剂(A):VitaminC 标准(250 μg/ml)		10ml	4℃避光
试剂(B):组织	试剂(B1):组织匀浆液 A	2 × 100ml	RT
匀浆液	试剂(B2):组织匀浆液 B	25ml	RT
试剂(C):MPA		0.5g	RT
试剂(D):酸性缓冲液 I		12ml	RT
试剂(E):酸性缓冲液 II		25ml	RT
试剂(F):钼酸铵		2.5g	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、分光光度计、比色皿

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 5g, 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 50ml 离心管, 补充组织匀浆液至 45ml, 充分混匀, 4000r/min 离心 5min, 取 0.5ml 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: 称取钼酸铵粉末 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(ml)	1	2	3	4	5	6	7
VitaminC 标准(250 μ g/ml)	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.8	1.0
蒸馏水	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.2	0
相当于 VitaminC 浓度(μ g/ml)	2	3	4	5	6	7	8

- 6、VitaminC 加样: 按照下表设置空白管、标准管、测定管, 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 平行管, 求平均值。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.4	—	—
系列 VitaminC 标准(1~8 号)	—	0.4	—
待测液	—	—	0.4
1×组织匀浆液	0.8	0.8	0.8
MPA 工作液	0.2	0.2	0.2
酸性缓冲液 II	0.4	0.4	0.4
VitaminC Assay buffer	0.8	0.8	0.8

- 7、VitaminC 测定: 立即混匀, 30℃ 水浴 20min, 以空白调零, 比色杯光径 1cm, 以分光光

度计测定 760nm 处系列标准管、测定管的吸光度。

计算：以系列标准 VitaminC(50、75、100、125、150、200、250 $\mu\text{g/ml}$)为横坐标，对应的吸光度为纵坐标绘制标准曲线，求得回归方程，以测定管的吸光度代入回归方程求得样品中维生素 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： 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($\mu\text{g/ml}$)

V_1 :待测液的总体积(ml)

m_1 :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)：



