维生素 C/抗坏血酸（L-AA）含量检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	100 mL×1	4℃	
试剂一	4 mL×1	4℃	
试剂二	6 mL×1	4℃	
试剂三	粉剂×2	4℃避光	临用前取 1 瓶加入 7 mL 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂 4℃下可保存 3 天。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细胞/细菌：按照细胞/细菌数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞/细菌（功率 200 w，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 10000g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：直接测定。

五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 420 nm 处。

2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入：

	测定管	空白管
样本（μL）	100	-
蒸馏水/超纯水（μL）	-	100
试剂一（μL）	30	30
试剂二（μL）	50	50
试剂三（μL）	120	120
蒸馏水/超纯水（μL）	700	700

充分混匀后，取 200 μL 于 96 孔板测定 A420，记 A 测定、A 空白，ΔA=A 测定-A 空白，空白管只需测 2~3 次。

六、计算：

标准方程

标准条件下测得回归方程为 y=0.0043x-0.0076，R^2=0.9995，x 为标准品浓度（μg/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照样本质量计算：

维生素 C（μg/g 鲜重） =（ΔA+0.0076）÷0.0043×V 样÷（W×V 样÷V 样总）=232.56×（ΔA+0.0076）÷W

2. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

维生素 C（μg/mg prot） =（ΔA+0.0076）÷0.0043×V 样÷（Cpr×V 样÷V 样总）=232.56×（ΔA+0.0076）÷Cpr

3. 按细胞/细菌密度计算：232.56×（ΔA+0.0076）

维生素 C（μg/10^4cell） =(ΔA+0.0076)÷0.0043×V 样÷(N×V 样÷V 样总) =232.56×（ΔA+0.0076）÷N

4. 按液体体积计算

维生素 C（μg/mL） =(ΔA+0.0076)÷0.0043=232.56×（ΔA+0.0076）

V 样：加入样品体积，0.1 mL；V 样总：加入提取液体积，1.0 mL；Cpr：蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量（g）；N：细胞/细菌数量（万个）。

七、产品简介

维生素 C 又称抗坏血酸。维生素 C 是辅酶、自由基清除剂、电子共体/受体和草酸盐与酒石酸盐生物合成的底物等。作为植物细胞中最重要的抗氧化剂，维

生素 C 在保护叶绿体免于氧化损伤起着 举足轻重的作用，也是衡量农作物产品品质的重要指标之一。