

# Megazyme

---

## ÁCIDO L-ASCÓRBICO (L-ASCORBATO)

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

K-ASCO 11/05

(40 Ensayos por Kit)

*Este folleto se puede conseguir en*  
**[www.megazyme.com](http://www.megazyme.com)** en los siguientes idiomas:  
**Inglés-Francés-Alemán-Italiano-Portugués**



## INTRODUCCIÓN:

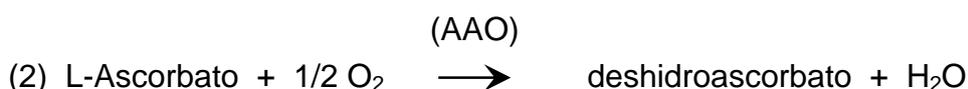
El ácido L-Ascórbico (Vitamina C), un eliminador de los radicales libres y antioxidantes, se encuentra en frutas y verduras tales como los cítricos (naranjas, limones, lima, mandarinas, etc), melones, tomates, pimientos, brécol, verduras de hoja verde como las espinacas, patatas y nabos. Su determinación cuantitativa es especialmente importante en la producción del vino, cerveza, leche y refrescos, donde puede ser un indicador de la calidad. Dada la función tan importante que desempeña en la dieta humana, el ácido L-ascórbico (E300) y derivados salinos (E301-303) se utilizan generalmente como aditivos alimentarios, con la ventaja adicional de sus propiedades antioxidantes y potenciadores de sabor. En la industria vinícola, el ácido L-ascórbico se puede añadir para evitar la oxidación del vino.

## PRINCIPIO:

En presencia del portador del electrón PMS y con un pH de 3,5, el ácido L-ascórbico (L-ascorbato), y algunas otras sustancias reductoras ( $R-H_2$ ) presentes en la muestra, reducen la sal tetrazolium MTT [3-(4,5-dimetitiazoli-2)-2,5-difeniltetrazolium bromuro] en un compuesto formazan. Durante el ensayo de la muestra, en la primera reacción, se mide tanto el ácido ascórbico como otras sustancias reductoras (1).



A continuación, se miden otras sustancias reductoras en la muestra se miden después de eliminar selectivamente el L-ascorbato utilizando ácido ascórbico oxidasa (AAO) y oxígeno atmosférico, dado en una muestra sin tratar (2).



Lo que se mide es MTT-formazan, por el aumento de la capacidad de absorción a 578 nm. La diferencia de absorción entre la muestra y la muestra sin tratar es estequiométrica con la cantidad de ácido L-ascórbico en la muestra.

## ESPECIFICIDAD, SENSIBILIDAD, LINEALIDAD Y PRECISIÓN:

En las condiciones mencionadas en este procedimiento, el ensayo es específico para el ácido L-ascórbico. Sin embargo, el ácido iso-ascórbico (ácido D-arabo-ascórbico), si está presente, se determinará de forma simultánea (pero la velocidad de reacción es más lenta). Al medir el ácido iso-ascórbico, el tiempo de incubación con AAO tiene que aumentarse a aproximadamente 20 min.

La diferencia de absorción inferior para el ensayo es de 0,005 unidades de absorción, que se corresponde a 0,088 mg/L de solución de muestra con un volumen máximo de muestra de 1,50 mL (o a 1,31 mg/L con un volumen de muestra de 0,1 mL). El límite de detección es de 0,175 mg/L, que se deriva de un diferencial de absorción de 0,010 con un volumen máximo de muestra de 1,50 mL.

El ensayo es lineal a lo largo del intervalo de 0,5 a 30 µg de ácido L-ascórbico por ensayo. En determinaciones dobles utilizando una solución de muestra, se puede producir una diferencia de absorción de 0,005 a 0,010. Con un volumen de muestra de 1,50 mL, esto corresponde a una concentración de ácido L-ascórbico de aproximadamente entre 0,088 y 0,175 mg/L de solución de muestra. Si la muestra se diluye durante su preparación, el resultado se multiplica por el factor de dilución, F. Si en la preparación de la muestra, la muestra se pesa, por ejemplo, 10 g/L, cabe esperar una diferencia entre 0,02 a 0,05 g/100 g.

### **INTERFERENCIA:**

Si la conversión de ácido L-ascórbico se ha completado en el tiempo especificado en el ensayo, en general se puede concluir que no se ha producido ninguna interferencia. Sin embargo, se puede hacer otra comprobación añadiendo ácido L-ascórbico (aprox. 15 µg en 0,1 mL) en la cubeta, cuando se complete la reacción. Se debería observar un aumento significativo de la absorción.

Las sustancias que interfieren en la muestra analizadas se pueden identificar incluyendo un estándar interno. Cabe esperar una recuperación cuantitativa de este estándar. Las pérdidas por manipulación y extracción de la muestra se pueden identificar realizando experimentos de recuperación, es decir, añadiendo ácido L-ascórbico a la muestra en las fases iniciales de la extracción.

A concentraciones de hasta 30 mg por ensayo, los azúcares que se encuentran en los alimentos no interfieren en el ensayo. El D-Sorbitol no interfiere si está presente a niveles por encima de 20 mg/mL, como los alcoholes a concentraciones de > 100 mg/mL (p.ej. etanol). Estos actúan inhibiendo el ácido ascórbico oxidasa, pero se puede resolver aumentando el tiempo de incubación con el enzima. Altos niveles de SO<sub>2</sub> (> 50 µg/ensayo) reaccionan con MTT y PMS y pueden provocar una reacción de fluencia. Esto se puede resolver eliminando el SO<sub>2</sub> (véase ejemplo c).

Los iones de nitrito dan una descomposición espontánea del ácido L-ascórbico, y los iones de metal por encima de 100 µg/ensayo pueden inhibir el ácido ascórbico oxidasa. Si el ácido oxálico está presente a niveles superiores a 30 µg/ensayo, se debería eliminar de la muestra con un ligero aumento de iones de Ca<sup>2+</sup> en una solución ligeramente ácida (pH 5-6). Si la muestra que se tiene que analizar para el ácido L-ascórbico contiene metales pesados (p.ej. cobre o hierro) es esencial

preparar la solución de muestra inmediatamente antes de ponerla en las cubetas, ya que el ácido L-ascórbico es inestable en soluciones que contengan iones de metal.

### **SEGURIDAD:**

En general, los reagentes utilizados en la determinación del ácido L-ascórbico no son materiales peligrosos según el Reglamento de Sustancias Peligrosas. Sin embargo, el concentrado tampón contiene azida de sodio 0,02 % (w/v) como conservante. Es necesario observar todas las medidas generales de seguridad que se aplican a todas las sustancias químicas.

### **KITS:**

Megazyme dispone de kits idóneos para realizar 40 determinaciones. Los kits contienen el método completo de ensayo además de:

**Botella 1:** Tampón de fosfato de sodio (0,2 M)/citrato de sodio (0,2 M) (24 mL, pH 5,6) mas Triton X-100, 6 % (v/v), EDTA (2 mM) y azida de sodio 0,02 % (w/v) como conservante.  
Estable durante > 2 años a 4°C.

**Botella 2:** MTT (9 mL, 15 mg/mL) en 2 M de tampón de acetato de sodio (pH 3,5).  
Estable durante > 2 años en la oscuridad a temperatura ambiente.

**Botella 3: (x2)** PMS (9,6 mg) mas portador.  
Estable durante > 2 años en la oscuridad a 4°C.

**Botella 4:** Suspensión de ácido ascórbico oxidasa (0,85 mL, 320 U/mL).  
Estable durante > 2 años a 4°C.

**Botella 5:** Ácido L-Ascórbico (vitamina C, ~ 2 g).  
Estable durante > 2 años a 4°C.

### **PREPARACIÓN DE SOLUCIONES/SUSPENSIONES DE REAGENTES:**

1. Use el contenido de la botella 1 según se suministra.  
Caliente a ~ 37°C antes de utilizar. Estable durante > 2 años a 4°C.
2. Use el contenido de la botella 2 según se suministra. Guarde en sitio oscuro a temperatura ambiente entre usos.  
Estable durante > 2 años en la oscuridad a temperatura ambiente.
3. Disuelva el contenido de la botella 3 en 4,1 mL de agua destilada. **No** disuelva el contenido de la segunda botella hasta que lo necesite. Guarde en un contenedor oscuro (según se suministra) a 4°C entre usos.  
Estable durante > 6 meses a 4°C.
4. Use el contenido de la botella 4 según se suministra. Antes de abrirla por primera vez, agite la botella para eliminar cualquier enzima que se pueda

haber quedado en el tapón de goma. **Agite bien la botella para que se mezcle el contenido antes de utilizarla.** A continuación, guárdela en posición vertical.

Estable durante > 2 años a 4°C.

5. Pese aproximadamente 150 mg de ácido L-ascórbico al más redondeando al 0.1 mg en un matraz de 100 mL. Rellene hasta la marca con 100 mM de tampón de fosfato potásico (pH 3,5). Diluya una parte alícuota 1:10 (1 + 9) con el tampón de fosfato potásico y mezcle bien. Esta solución es estable durante 3 días a 4°C y 1 semana a -20°C.

**NOTA:** La solución estándar de ácido L-ascórbico láctico solo se utiliza en el ensayo cuando existe alguna duda sobre la precisión del espectrofotómetro que se está utilizando o cuando se sospecha que las sustancias que intervienen en la muestra están produciendo una inhibición. La concentración de ácido L-ascórbico se determina directamente a partir del coeficiente de extinción de MTT-formazan (véase página 6).

#### **TAMPÓN DE FOSFATO POTÁSICO:**

Prepare 1 M de tampón de fosfato de potasio (pH 3,5), disuelva 34,8 g de fosfato hidrógeno de dipotasio ( $K_2HPO_4$ ) en 150 mL de agua destilada y ajuste el pH a 3,5 con 5 HCl. Ajuste el volumen a 200 mL y guarde a 4°C entre usos. Prepare 100 mM de tampón de fosfato de potasio diluyendo una parte alícuota de esta solución multiplicada por 10 en agua destilada. Ajuste el pH a 3,5.

#### **EQUIPO (RECOMENDADO):**

1. Matraces (50 mL, 100 mL y 500 mL).
2. Cubetas de plástico desechables (paso de luz de 1 cm, 3 mL).
3. Micropipetas, p. ej. Gilson Pipetman® (20 µL y 100 µL).
4. Pipeta de desplazamiento positivo p.ej. Eppendorf Multipette®
  - con 5 mL Combitip® (para administrar 0,2 mL de partes alícuotas de solución PMS, 0,2 mL de solución tampón de MTT/acetato y 0,5 mL de mezcla tampón de citrato/fosfato).
  - con 25 mL de Combitip® (para administrar partes alícuotas de 1,5 mL de agua destilada).
5. Balanza de precisión.
6. Espectrofotómetro a 578 nm.
7. Agitador vibrador de tubos Vortex (p.ej. Agitador de tubos de prueba IKA® Yellowline TTS2).
8. Cronómetro.
9. Papeles filtro Whatman No.1 (9 cm).

## PROCEDIMIENTO:

**Longitud de onda:** 578 nm  
**Cubeta:** Paso de luz de 1 cm (vidrio o plástico)  
**Temperatura:** 37°C  
**Volumen final:** 2,52 mL  
**Solución de muestra:** 0,5-30 µg de ácido L-ascórbico  
(en 0,1-1,5 mL de volumen de muestra)

**Medir contra corriente de aire** (sin cubeta en el paso de luz) o contra agua

Pipeta en cubetas	Muestra sin tratar	Muestra
agua destilada (~ 37°C)	1,50 mL	1,52 mL
muestra	0,10 mL	0,10 mL
solución 1 (tampón fosfato/citrato)	0,50 mL	0,50 mL
suspensión 4 (ácido ascórbico oxidasa)	0,02 mL	-
Mezcle**, e incube durante 3 min a 37°C. Mientras está incubando, mezcle el contenido de los ensayos con muestra y muestra sin tratar cada minuto durante aproximadamente 5 s, a continuación añada:		
solución 2 (tampón MTT/acetato)***	0,20 mL	0,20 mL
Mezcle**, e incube durante 2-3 min a 37°C. Mientras está incubando, mezcle el contenido de los ensayos con muestra y muestra sin tratar cada minuto durante aproximadamente 5 s, a continuación las absorciones de la muestra sin tratar y la muestra (A <sub>1</sub> ). Inicie las reacciones añadiendo:		
solución 3 (PMS)	0,20 mL	0,20 mL
Mezcle*, lea las absorciones de las soluciones (A <sub>2</sub> ) inmediatamente una después de la otra al final de la reacción (aprox. 8 min a 37°C).		

\* aclare la pipeta con la solución de muestra antes de administrar la solución de muestra.

\*\* por ejemplo con una espátula de plástico o dándole la vuelta con cuidado después de tapar la cubeta con tapa o Parafilm®.

\*\*\* la mezcla de la reacción es sensible a la luz después de añadir la solución 2 (tampón MTT/acetato). Evite que las cubetas estén a la luz.

**NOTA:** MTT y el sistema de reacción que contiene MTT son sensibles a la luz. Por consiguiente, las reacciones hay que realizarlas en la oscuridad (p.ej. en la cubeta del espectrofotómetro con la tapa del fotómetro cerrada).

### CALCULO:

Calcule las diferencias de absorción ( $A_2-A_1$ ) con muestra y muestra sin tratar. Reste la diferencia de absorción de la muestra sin tratar de la diferencia de absorción de la muestra, obteniendo con ello  $\Delta A_{\text{ácido L-ascórbico}}$ . El valor de  $\Delta A_{\text{ácido L-ascórbico}}$  debería ser por regla general de al menos 0,100 unidades de absorción para conseguir resultados suficientemente precisos.

La concentración de ácido L-ascórbico se puede calcular de la siguiente forma:

$$c = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A_{\text{ácido L-ascórbico}} \quad [\text{g/L}]$$

### Donde:

V = volumen final [mL]

MW = peso molecular del ácido D-ascórbico [g/mol]

$\varepsilon$  = coeficiente de extinción de MTT-formazan a 578 nm  
= 16900 [l x mol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>]

d = paso de luz [cm]

v = volumen de muestra [mL]

### Sigue para el ácido L-ascórbico:

$$c = \frac{2,52 \times 176,13}{16900 \times 1,0 \times 0,10} \times \Delta A_{\text{ácido L-ascórbico}} \quad [\text{g/L}]$$

$$= 0,2626 \times \Delta A_{\text{ácido L-ascórbico}} \quad [\text{g/L}]$$

Si la muestra se ha diluido durante la preparación, el resultado se debe multiplicar por el factor de dilución, F.

Cuando se analicen muestras sólidas o semi-sólidas que se pesan para preparar la muestra, el contenido (g/100 g) se calcula a partir de la cantidad pesada de la siguiente forma:

### Contenido de ácido L-ascórbico

$$= \frac{C_{\text{ácido L-ascórbico}} [\text{g/L solución de muestra}] \times 100}{\text{peso}_{\text{muestra}} [\text{g/L solución de muestra}]} \quad [\text{g/100 g}]$$

**NOTA:** Estos cálculos se pueden simplificar utilizando la aplicación **Mega-Calc**<sup>TM</sup> de Megazyme, que se puede descargar desde la página web donde aparece el producto ([www.megazyme.com](http://www.megazyme.com)).

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

### 1. Dilución de la muestra.

La cantidad de ácido L-ascórbico en la cubeta (es decir, en los 0,1 mL de muestra que se está analizando) deberá situarse entre 0,5 y 30 µg. La solución de muestra por tanto se debe diluir lo suficiente como para conseguir una concentración de ácido L-ascórbico entre 0,05 y 0,30 g/L.

**Tabla De la Dilución**

Concentración estimada de ácido L-ascórbico (g/L)	Dilución con tampón fosfato	Factor de dilución (F)
< 0,3	No es necesaria dilución	1
0,30-3,0	1 + 9	10
3,0-30	1 + 99	100
> 30	1 + 999	1000

Si el valor de  $\Delta A_{\text{ácido L-ascórbico}}$  es demasiado bajo (p.ej. < 0,100), pese más muestra o diluya con menos fuerza. Como alternativa, la muestra que se debe verter en la cubeta se puede aumentar a 1,50 mL, asegurándose de que los componentes de la muestra y el agua destilada en la reacción sumen 1,60 mL, utilizando el nuevo volumen de muestra en la ecuación.

### 2. Clarificación de la muestra.

**El protocolo de clarificación Carrez no se puede utilizar en la preparación de la muestra para la determinación del ácido L-ascórbico debido a la baja recuperación del analito resultante.**

En lugar de con reagentes Carrez, las muestras se clarifican y se precipita la proteína y elimina mediante un tratamiento combinado con 100 mM de tampón de fosfato de potasio (pH 3,5) y filtrando. Para la preparación de los 100 mM de fosfato de potasio, pH 3,5, véase página 4.

### 3. Consideraciones generales.

**(a) Muestras líquidas:** muestras claras, ligeramente coloreadas y aproximadamente neutras se pueden utilizar directamente en el ensayo.

**(b) Muestras alcalinas:** si se utiliza una muestra alcalina sin diluir, el pH de la solución se debe ajustar a aproximadamente 3,5 utilizando 2 M HCl.

**(c) Dióxido de carbono:** las muestras que contengan una importante cantidad de dióxido de carbono, como la de cerveza, se desgasifican filtrando o removiendo con varilla de vidrio.

**(d) Muestras coloreadas:** las muestras ligeramente coloreadas se pueden analizar directamente.

**(e) Muestras muy coloreadas:** Si se utilizan sin diluir, las muestras muy coloreadas se deben tratar añadiendo 0,2 g de PVPP /10 mL de muestra. Agite bien el tubo durante 5 minutos y a continuación filtre con papel de filtro Whatman No. 1.

**(f) Muestras sólidas:** homogeneice o triture las muestras sólidas en 100 mM de tampón de fosfato de potasio (pH 3,5) y filtre si fuera necesario.

**(g) Muestras que contengan grasas:** extraiga dichas muestras con 100 mM de tampón de fosfato de potasio (pH 3,5) a una temperatura por encima del punto de fusión de la grasa, por ejemplo en un matraz de 100 mL a 60°C. Deje enfriar y deje que la grasa se separe y rellene hasta la marca con 100 mM de tampón de fosfato de potasio. Tire los primeros mL de lo que filtre, y utilice el sobrenadante claro (que puede estar ligeramente opalescente) para el ensayo.

**(h) Muestras que contengan proteína:** desproteínez las muestras que contengan proteína añadiendo un volumen igual de hielo 1 M de fosfato de potasio (pH 3,5) con mezcla. Centrifugue a 1.500 g durante 10 min y diluya con 100 mM de tampón de fosfato de potasio (pH 3,5).

## **EJEMPLOS PARA PREPARAR LAS MUESTRAS:**

### **(a) Determinación del ácido L-ascórbico en el vino.**

Ajuste el pH del vino a 3,5-4 con 1 M HCl y diluya con agua o 100 mM de tampón de fosfato de potasio (pH 3,5) en una concentración idónea de ácido L-ascórbico (véase tabla de dilución). Decolore el vino tinto con PVPP de la forma siguiente: añada 0,2 g de PVPP a 10 mL de vino y mezcle durante 5 min. Filtre. El vino que contenga anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>) se trata con formaldehído de la siguiente forma: añada una gota de solución de formaldehído (aprox. 5 % v/v) a 10 mL de vino, mezcle e incube durante 5 min a 20-25°C. Ajuste el pH a 3,5-4, diluya si fuera necesario con 100 mM de tampón de fosfato potásico (pH 3,5) (según la tabla de dilución) y utilice esta solución para el ensayo. Si se requiere un volumen de muestra de 0,2-0,5 mL, aumente el tiempo de incubación con el ácido ascórbico oxidasa a 5 min.

*Normalmente, no se requiere dilución y un volumen de muestra de 0,1-0,5 mL es adecuado.*

### **(b) Determinación del ácido L-ascórbico en la cerveza.**

Después de eliminar el dióxido de carbono removiendo aproximadamente 10 mL de cerveza con una varilla de vidrio o filtrando, ajuste el pH a 3,5-4 con 1 M HCl (si fuera necesario). *Normalmente, no se requiere dilución y un volumen de muestra de 0,1 mL es adecuado.*

### **(c) Determinación del ácido L-ascórbico en el zumo de fruta, bebidas y zumos.**

La concentración de ácido L-ascórbico de soluciones claras se puede determinar en general sin tratar la muestra, salvo ajustando el pH a 3,5-4 (si fuera necesario) y diluyendo según la tabla de dilución. Realice las diluciones con 100 mM de tampón de fosfato de potasio (pH 3,5) (véase tabla de dilución). Sin embargo, si las soluciones coloreadas requieren un análisis sin diluir, se pueden decolorar de la siguiente forma: remueva 10 mL de muestra líquida durante 5 min con 0,2 g de PVPP y a continuación fíltrelo. Utilice la solución que ha filtrado clara o ligeramente coloreada en el ensayo. Filtre los zumos turbios. *Normalmente, para el zumo de naranja, no se requiere dilución y un volumen de muestra de 0,1 mL es adecuado.*

### **(d) Determinación del ácido L-ascórbico en la leche.**

Ajuste el pH de 100 mL de leche a 3,5-4 añadiendo aproximadamente 1 g de ácido cítrico (monohidrato). Filtre la solución y tire los primeros 5 mL del filtrado. Utilice la solución ligeramente opalescente en el ensayo. *Normalmente, no se requiere dilución y un volumen de muestra de 0,1 mL es adecuado.*

### **(e) Determinación del ácido L-ascórbico en productos cárnicos.**

Pase las muestras de carne por una picadora de carne tres veces, con 1 minuto de espera en cada pase. Homogeeinice aproximadamente 4 g de muestra en 10 mL de tampón de fosfato potásico (pH 3,5) con homogeeinizador Ultraturax<sup>®</sup> o Polytron<sup>®</sup> (o equivalente) durante 20 segundos para que se desintegren completamente las partículas de carne. Ajuste el pH a 3,5-4, si fuera necesario, con 2 M KOH y traslade la mezcla a un matraz de 100 mL. Aclare el homogeeinizador con agua y vierta este agua en el matraz. Rellene hasta la marca con 100 mM de tampón de fosfato potásico (pH 3,5), colóquelo en el frigorífico (o agua de hielo) durante 20 min aproximadamente para que se separe la grasa, y a continuación fíltrelo. *Normalmente, no se requiere dilución y un volumen de muestra de 1,0 mL es adecuado.*

### **(f) Determinación del ácido L-ascórbico en las patatas.**

Triture aproximadamente 50 g de patata con 50 mL de 1M tampón fosfato potásico (pH 3,5) y 0,1 mL de *n*-octanol (para minimizar la espuma) con una batidora doméstica durante aproximadamente 1 min. Ajuste el pH a 3,5-4 con 2 M KOH. Traslade la mezcla a un matraz de 500 mL con agua destilada, rellene hasta la marca con agua destilada, mezcle y filtre. *Normalmente, no se requiere dilución y un volumen de muestra de 1,0 mL es adecuado.*

### **(g) Determinación del ácido L-ascórbico en la harina.**

Pese aproximadamente 20 g de harina y colóquela en un matraz Erlenmeyer de 100 mL. Añada 100 mL de 100 mM tampón fosfato potásico (pH 3,5). Agite la suspensión hasta que esté homogénea. Filtre una parte alícuota de la solución en un papel filtro Whatman No. 1 y utilice la solución que ha filtrado para el ensayo. Los ensayos se deben realizar nada más filtrar la mezcla, para evitar la precipitación del almidón en el sistema de ensayo. *Normalmente, no se requiere dilución y un volumen de muestra de 1,0 mL es adecuado.*

### **(h) Determinación del ácido L-ascórbico en las vitaminas en pastillas.**

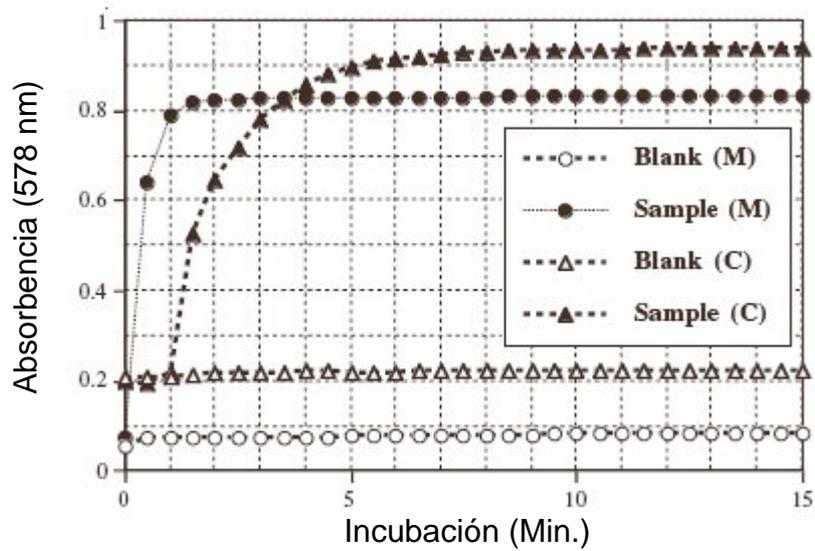
Disuelva 1 g de pastillas que contengan ácido L-ascórbico en 100 mL de 100 mM tampón fosfato potásico (pH 3,5). Diluya la muestra según la tabla de dilución. *Normalmente, un volumen de muestra de 0,1 mL es adecuado.*

### **(i) Determinación del ácido iso-ascórbico en productos cárnicos.**

Dado que el ácido ascórbico oxidada reacciona con menos rapidez con ácido iso-ascórbico en las condiciones de ensayo descritas aquí (véase Especificidad, Sensibilidad, Linealidad y Precisión, página 1), el tiempo de incubación con este encima se debe aumentar a 20 min. Los productos cárnicos se preparan y extraen según se ha descrito para el ácido L-ascórbico. *Normalmente, no se requiere dilución y un volumen de muestra de 0,5-1,0 mL es adecuado.*

### **REFERENCIA:**

1. Beutler, H. -O. (1988). L-Ascorbate and L-Dehydroascorbate. In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H. U., ed.), 3rd ed., **Vol.VI**, pp. 376-385, VCH Publishers (UK) Ltd., Cambridge, UK.



**Figura 1:** Aumento de la absorción en 578 nm con incubación de 20 µg ácido ascórbico con ácido ascórbico oxidasa en presencia de PMS. (M), Ket de Megazyme; (C), kit de la competencia.

**NOTAS:**



**Megazyme International Ireland Ltd.,  
Bray Business Park, Bray,  
Co. Wicklow,  
IRLANDA**

**Teléfono: (353.1) 286 1220**

**Fax: (353.1) 286 1264**

**Página Web: [www.megazyme.com](http://www.megazyme.com)**

**Correo electrónico: [info@megazyme.com](mailto:info@megazyme.com)**

---

**SIN GARANTÍA**

La información contenida en este librete está, al mejor de nuestro conocimiento, verdad y exacto, pero puesto que las condiciones del uso están más allá de nuestro control, de ninguna garantía se da o se implica por lo que se refiere a cualquier recomendación o sugerencia que puedan ser hechas o que ningún uso no infringirá ninguna patentes.