

# 维生素 C 检测试剂盒(菲咯啉微板法)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。

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 0.5~50  $\mu$ g/ml)吸光度与维生素 C 含量呈线性关系，获得 VitaminC 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。

## 产品组成:

名称	规格	保存条件
维生素 C 检测试剂盒(菲咯啉微板法)	100T	4℃避光
试剂(A):VitaminC 标准(250 $\mu$ g/ml)	2ml	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):VitaminC Assay Buffer	3ml	RT
试剂(E):菲咯啉显色液	6ml	4℃避光
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

## 自备材料:

- 1、蒸馏水、无水乙醇
- 2、研钵或匀浆器
- 3、离心机、离心管、试管
- 4、96 孔板、酶标仪
- 5、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 VitaminC 标准：取干净的 96 孔板，按下表进行操作，依次稀释。

加入物(μl)	1	2	3	4	5
VitaminC 标准(250 μg/ml)	4	8	12	16	20
1×组织匀浆液	96	92	88	84	80
相当于 VitaminC 含量(μg)	10	20	30	40	50

4、VitaminC 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 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 2~3 平行孔，求平均值。

加入物(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
1×组织匀浆液	100	—	—
系列 VitaminC 标准(1~6 号)	—	100	—
待测液	—	—	100
无水乙醇	50	50	50
	0.3	0.3	0.3
混匀			
酸性缓冲液	25	25	25
菲咯啉显色液	50	50	50
VitaminC Assay Buffer	25	25	25

5、VitaminC 测定：混匀，30℃温箱中反应 60min，以空白调零，酶标仪测定 534nm 处系列标准管、测定管的吸光度。

**计算：**以系列标准 VitaminC(10、20、30、40、50 μg)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<sub>0</sub>=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)

VT=待测液的总体积(ml)

m1=样品质量(g)

VS=测定时取样体积(ml)

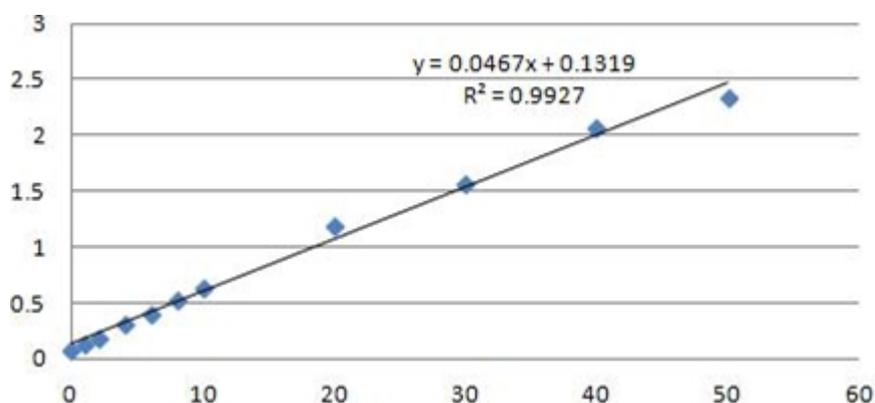
100=100g

1000=  $\mu$ g 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。
- 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。

**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、1、2、4、6、8、10、20、30、40、50  $\mu$ g)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 0.5  $\mu$ g 以下，60  $\mu$ g 以上，标准曲线会有偏差。

