

维生素 C 检测试剂盒(铜氧化微板法)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(铜氧化微板法)检测原理是维生素 C 的分子结构中具有共轭双键，在酸性溶液中 243nm 处有最大吸收峰，在中性或碱性条件下最大吸收峰转移至 265nm 处，利用铜离子消除背景差异，可用酶标仪直接测定样品中的维生素 C 含量，主要用于植物组织中的维生素 C(抗坏血酸)的检测。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(铜氧化微板法)	100T	4℃避光
试剂(A):VitaminC 标准(1.2mg/ml)	1ml	4℃避光
试剂(B):组织匀浆液(10×)	100ml	RT
试剂(C):Cu 酸性缓冲液	25ml	4℃
试剂(D):VcAssayBuffer	6ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

自备材料：

- 1、蒸馏水
- 2、离心管或试管
- 3、离心机
- 4、水浴锅或恒温箱
- 5、96 孔板
- 6、酶标仪

操作步骤(仅供参考):

1、稀释组织匀浆液: 按组织匀浆液(10×): 蒸馏水=1: 9 的比例稀释, 获得 1×组织匀浆液。
2、制备样品: 取待测材料如青菜、水果以及其他组织等, 清洗擦干, 准确称量 5g, 加入研磨器内, 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 10ml 离心管, 补充 1×组织匀浆液至 10ml, 充分混匀, 10000g 离心 5min, 取 0.05ml 上清液, 即为待测液; 液体样品直接检测或稀释后进行检测。

3、配制系列 VitaminC 标准: 取 VitaminC 标准(1.2mg/ml), 用蒸馏水稀释至 12 μg/ml, 4℃ 保存备用, 取干净离心管或试管, 用 VitaminC 标准(12 μg/ml)按下表进行操作, 依次稀释。

加入物(μl)	1	2	3	4	5
VitaminC 标准(12 μg/ml)	5	10	15	20	25
蒸馏水	45	40	35	30	25
相当于 VitaminC 浓度(μg/ml)	1.2	2.4	3.6	4.8	6

4、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(μl)	空白管	标准管	测定管 I	测定管 II
待测液	—	—	50	50
VitaminC 标准(1~8 号)	—	50	—	—
蒸馏水	50	—	—	—
Cu 酸性缓冲液	200	200	200	200
	—	—	—	50℃水浴 15min
全部转移至 96 孔板的孔中。				
VcAssayBuffer	50	50	50	50

5、VitaminC 测定: 混匀, 以空白调零, 酶标仪测定 265nm 处标准孔、测定管 I、测定管 II 的吸光度。

计算: 以系列标准 VitaminC(1.2、2.4、3.6、4.8、6 μg/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, 以测定管的吸光度代入回归方程求得维生素 C 含量。

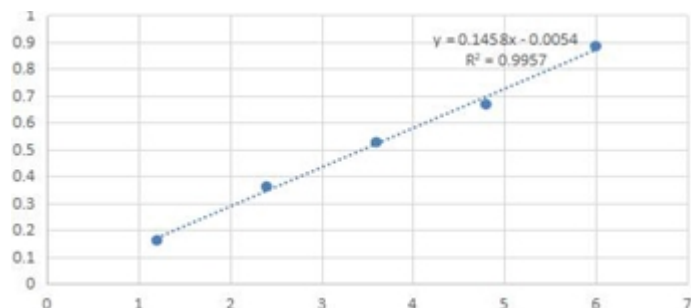
样品中维生素 C 含量(μg/5g)=(A I - A II) × N × 6/K 液体中维生素 C 含量(μg/待测样品 ml 数)=(A I - A II) × N × 6/K 式中: A I =测定管 I 的吸光度 A II =测定管 II 的吸光度 N=待测样品稀释倍数 K=标准曲线斜率

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、待测样品如不能及时测定，应置于 2~8℃ 保存，3 天内稳定。
- 3、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：参考标准曲线范围：测定 VitaminC 标准(1~5 号)在 1.2、2.4、3.6、4.8、6 μg/ml 时，通过分光光度计测定其吸光度多 0.1~0.95 之间，其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 VC 含量的，可以采用标准曲线进行多点重复测定；根据测定经验显示，标准品浓度在 0.6 μg/ml 以下以及 24 μg/ml 以上，标准曲线会有偏差。