

## 维生素 C 检测试剂盒(菲咯啉微板法)

### 产品简介:

维生素 C(Vitamin C)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。

Leagene 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 0.5~35 $\mu$ g/ml)吸光度与维生素 C 含量呈线性关系, 获得 Vitamin C 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	编号	TC2038	Storage
试剂(A): Vitamin C 标准		100T	
试剂(B): 组织匀浆液(5 $\times$ )		25mg	RT 避光
试剂(C): 酸性缓冲液		500ml	RT 避光
试剂(D): Vitamin C Assay Buffer		3ml	RT
试剂(E): 菲咯啉显色液		3ml	RT
试剂(E): 菲咯啉显色液		6ml	RT 避光
使用说明书			1 份

### 自备材料:

- 1、蒸馏水、无水乙醇
- 2、研钵或匀浆器、离心机、离心管、试管
- 3、96 孔板、酶标仪、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 $\times$ ): 蒸馏水=1: 4 的比例稀释, 获得 1 $\times$ 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 $\times$ 组织匀浆液, 研磨碎, 留取上清, 再次用 1 $\times$ 组织匀浆液研磨, 最后一并倒入 50ml 离心管, 补充 1 $\times$ 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 Vitamin C 标准：将 25mg Vitamin C 标准用 1ml 1×组织匀浆液溶解即得 Vitamin C 标准(25mg/ml)，再用 1×组织匀浆液稀释成 Vitamin C 标准(50ug/ml)，取干净离心管或试管，按下表进行操作，依次稀释。配置好的 Vitamin C 标准(25mg/ml) 放置-20℃，短期保存。

加入物(μl)	1	2	3	4	5	6
Vitamin C 标准(50μg/ml)	4	10	16	20	40	60
1×组织匀浆液	96	90	84	80	60	40
相当于 Vitamin C 含量(μg)	2	5	8	10	20	30

- 4、Vitamin C 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 Vitamin C 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 Vitamin C 标准(1~6 号)	—	100	—
待测液	—	—	100
无水乙醇	50	50	50
混匀			
酸性缓冲液	25	25	25
菲咯啉显色液	50	50	50
Vitamin C Assay Buffer	25	25	25

- 5、Vitamin C 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 Vitamin C(0、2、5、8、10、20、30μg)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： $m_0$ =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)

$V_T$ =待测液的总体积(ml)

$m_1$ =样品质量(g)

$V_S$ =测定时取样体积(ml)

100=100g

1000=μg 与 mg 的换算系数

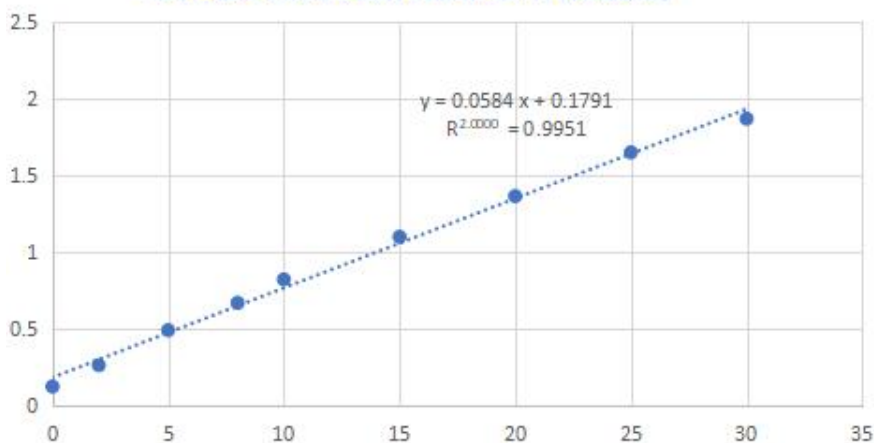
**注意事项:**

- 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。
- 6、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 7、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期:** 6 个月有效。

**附录:** 标准曲线制作: Leagene 在室温条件下按说明书操作, 用酶标仪 540nm 对系列标准((0、2、5、8、10、20、30μg)μg)进行吸光度的测定, 其标准曲线如下(仅供参考):

**维生素C检测试剂盒(菲咯啉微版法)**



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 Leagene 测定经验显示 Vc 标准在 0.5μg 以下, 60μg 以上, 标准曲线会有偏差。

**相关产品:**

产品编号	产品名称
DP0013	GUS 染色液(即用型)
PE0025	SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×)
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
PT0013	考马斯亮蓝快速染色液
PW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)