

维生素 C(Vc)/抗坏血酸 (Vc/ASA) 测定试剂盒

比色法: 50 管/48 样

一、试剂盒组成及配制:

试剂一: 贮备液 5ml×1 瓶, 4℃保存 6 个月。

试剂一应用液配制: 用时按照试剂一贮备液: 双蒸水=1: 14 稀释, 混匀制备。

试剂二: 粉剂×1 支, 4℃保存 6 个月。

试剂二应用液配制: 用时 1 支粉剂加 0.36ml 的冰醋酸再加水至 40ml, 溶解, 4℃保存。

试剂三: 白色结晶体的粉剂×1 支, 4℃保存 6 个月。

试剂三应用液配制: 因较难溶解, 用前 2~4 小时加 95%酒精或无水乙醇 60ml 充分溶解制备, 4℃保存。

试剂四: 黄色贮备液 0.2ml×1 瓶, 冰箱 4~8℃避光保存, 贮存时间 6 个月。

试剂四应用液配制: 用时取 0.15ml 试剂四贮备液加水至 25ml 制备。(现用现配)

试剂五: 液体 6ml 1 瓶, 4℃保存 6 个月。

试剂六: Vc 标准品: 粉剂 6mg×3 支, 每瓶内含维生素 C, 4℃避光保存 6 个月。

600 g/ml Vc 标准品应用液配制: 将 1 支标准品粉剂溶于 10ml 试剂一应用液中, 制备。

6g/ml Vc 标准品应用液配制: 取 600 g/ml Vc 标准品应用液再用试剂一应用液 100 倍稀释备用, 现用现配。

注: 维生素 C 标准品易氧化, 因此在样本上清液制备好后再配标准, 并在 10 分钟内进行检测。

二、操作步骤:

1、上清液制备: 取样本 0.15ml 加试剂一应用液 0.45ml, 旋涡混匀, 放置 15 分钟后离心, 3500~4000 转/分, 离心 10 分钟, 上层清亮液体为上清液。

2、上清液中 Vc 的测定:

	空白管	标准管	测定管
--	-----	-----	-----

试剂一应用液 (ml)	0.4		
6 g/ml Vc 标准品应用液 (ml)		0.4	
上清液 (ml)			0.4
试剂二应用液 (ml)	0.5	0.5	0.5
试剂三应用液 (ml)	1	1	1
试剂四应用液 (ml)	0.25	0.25	0.25
充分混匀, 37 °C 水浴 30 分钟			
试剂五 (ml)	0.1	0.1	0.1
充分混匀, 静置 10 分钟, 波长 536nm, 光径 1cm (或 0.5cm), 双蒸水调零, 处测各管吸光度值。			

三、测定原理:

本法用 Fe^{3+} 与还原型抗坏血酸迅速作用生成 Fe^{2+} , 后者再与啡罗啉显色反应, 可以测定血浆中维生素 C 的含量。

四、测定意义:

维生素 C 在体内参与胶原物质合成, 是脯氨酸羟化酶和赖氨酸羟化酶的辅因子, 是催化多巴胺转变成去甲肾上腺素的铜酶多巴 β 羟化酶所必需, 当维生素 C 缺乏时, 合成的胶原得不到充分的羟化, 不能很好的形成纤维。

维生素 C 最明显的化学活性是作为还原剂, 它可以将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , 促使铁在肠道吸收, 促进铁的贮

存和利用。抗坏血酸作为自由基清除剂，可以很快地与 O_2^- 、 H_2O_2 反应，更快地与 $OH\cdot$ 反应生成抗坏血酸自由基，它也可以清除 O_2^- ，因此，抗坏血酸可以保护机体免受内源性氧自由基的损伤。

维生素 C 能与生育酚自由基还原成维生素 E，间接地起着链阻断剂作用。维生素 C 是血浆中最有效的抗氧化剂，是细胞外液抗氧化防御系统的第一道防线，Vc 对血浆中正在进行着的脂质过氧化作用也有阻断作用。