

# 维生素 C 检测试剂盒(铜氧化比色法)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(铜氧化比色法)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，可用分光光度计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(铜氧化比色法)	50T	4℃
试剂(A):VitaminC 标准(1.2mg/ml)	1ml	4℃避光
试剂(B):组织匀浆液(10×)	250ml	RT
试剂(C):Cu 酸性缓冲液	100ml	4℃
试剂(D):VcAssayBuffer	25ml	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、比色杯
- 6、分光光度计

## 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 30g，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 50ml，充分混匀，10000g 离心 5min，取 0.5ml 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(ml)	1	2	3	4	5
VitaminC 标准(12 μg/ml)	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
蒸馏水	0.45	0.4	0.35	0.3	0.25
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(ml)	空白管	标准管	测定管 I	测定管 II
待测液	—	—	0.5	0.5
VitaminC 标准(1~5 号)	—	0.5	—	—
蒸馏水	0.5	—	—	—
Cu 酸性缓冲液	2	2	2	2
	—	—	—	50℃水浴 15min
VcAssayBuffer	0.5	0.5	0.5	0.5

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

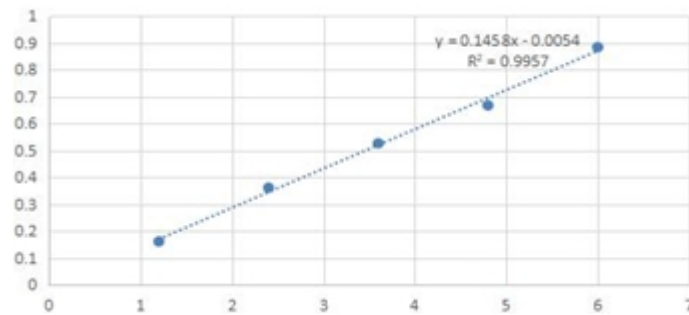
**计算：**以系列标准 VitaminC(1.2、2.4、3.6、4.8、6 μg/ml)为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，求得回归方程，以测定管的吸光度代入回归方程求得维生素 C 含量。

样品中维生素 C 含量( μg/30g)=(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  $\mu\text{g/ml}$  时，通过分光光度计测定其吸光度在 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  $\mu\text{g/ml}$  以下以及 24  $\mu\text{g/ml}$  以上，标准曲线会有偏差。