

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K034-M

产品规格: 48T(34 samples)/96T(82 samples)

检测仪器: 酶标仪(530-540 nm)

Elabscience®维生素 C(VC)比色法测试盒

Vitamin C (VC) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动物血清(浆)、动植物组织中的维生素 C(VC)含量。

检测原理

VC 在菲啰啉的存在下,可使三价铁离子还原成二价铁离子,后者在特定的环境下可与菲啰啉形成粉红色复合物,在 536 nm 处有最大吸收波长。通过比色,可计算出 VC 的含量。

本试剂盒检测组织样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用 BCA 法(货号: E-BC-K318-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extracting Solution)	2 mL×1 瓶	5 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	8 mL×1 瓶	15 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	铁试剂 (Ferrum Reagent)	0.5 mL×1 支	0.5 mL×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	终止剂 (Stop Solution)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	VC 标准品 (VC Standard)	6 mg×2 支	6 mg×2 支	2-8℃避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明:试剂严格按上表中的保存条件保存,不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂,使用前请先离心,以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(530-540 nm, 最佳检测波长 536 nm)、37°C恒温气浴箱、涡旋混匀仪、磁力搅拌器、烧杯、微量移液器(1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L)、离心机。

耗材：枪头(1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L)、EP 管(10 mL, 5 mL, 2 mL)。

试剂：双蒸水、生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS(0.01 M, pH 7.4)。

试剂准备

① 试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂一工作液的配制：

按试剂一：双蒸水为1: 14的体积比混匀即可，2-8°C避光可保存7天。

③ 试剂三工作液的配制：

按试剂三：无水乙醇为1: 9的体积比混匀即可，2-8°C避光可保存7天。

④ 试剂四工作液的配制：

取0.15 mL试剂四用双蒸水稀释至25 mL即可，2-8°C避光可保存7天。

⑤ 60 μ g/mL标准品的配制：

取一支试剂六用1 mL试剂一工作液溶解，浓度为6 mg/mL，然后取适量用试剂一工作液稀释100倍，即为60 μ g/mL标准品。由于标准品易氧化，请在样本上清液制备好后再配制标准品，并在10 min内进行实验。

⑥ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
标准品浓度(μ g/mL)	0	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0	17.5
60 μ g/mL 标准品(μ L)	0	50	75	100	125	150	175
试剂一工作液 (μ L)	600	550	525	500	475	450	425

样本准备

① 样本处理

样本要求:样本中不能含有 DTT、2-巯基乙醇等还原性试剂,不能添加 HEDP、EDTA 等整合剂。

血清血浆样本:可直接测定。

组织样本:常规匀浆处理(生理盐水(0.9% NaCl 溶液)或 PBS(0.01 M, pH 7.4))。匀浆后,4°C, 10000 × g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前,需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验,根据预实验的结果,结合本试剂盒的线性范围:0.31-17.5 µg/mL,请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%小鼠肾组织	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释
鸡血清	不稀释	10%小鼠肺组织	不稀释
马血清	不稀释	10%小鼠脾组织	不稀释
人尿液	不稀释	10%大鼠肝组织	不稀释
人乳汁	不稀释	10%大鼠心组织	不稀释
10%植物组织	不稀释		

注:稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS(0.01 M, pH 7.4)。

实验关键点

- ① 样本加试剂一混匀离心后的上清液必须澄清。
- ② 请先配制试剂工作液,再制备样本上清液,然后再配制标准品。
- ③ 标准品易氧化,请现配现用。

操作步骤

上清液的制备

取 0.10 mL 待测样本到 2 mL EP 管中，加入 0.30 mL 试剂一工作液，旋涡混匀，室温静置 15 min 后 2000 ×g 离心 10 min，取上清液待测。

上清液 VC 含量测定

- ① 标准管：取 100 μL 不同浓度标准品，加入 2 mL EP 管中；
测定管：取 100 μL 样本上清液，加入 2 mL EP 管中。
- ② 向步骤①中的各管加入 125 μL 试剂二，250 μL 试剂三工作液，65 μL 试剂四工作液。
- ③ 涡旋混匀，37°C 孵育 30 min。
- ④ 向步骤③中的各管加入 25 μL 试剂五，涡旋混匀。
- ⑤ 室温静置 10 min，取 250 μL 加入酶标板，酶标仪 536 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

	标准管	测定管
不同浓度标准品(μL)	100	
样本上清液(μL)		100
试剂二(μL)	125	125
试剂三工作液(μL)	250	250
试剂四工作液(μL)	65	65
涡旋混匀，37°C 孵育 30 min		
试剂五(μL)	25	25
旋涡混匀，室温静置 10 min，取 250 μL 加入酶标板，酶标仪 536 nm 处，测定各孔 OD 值。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清(浆)中 VC 含量计算公式：

$$\begin{aligned} \text{VC 含量} \\ (\mu\text{g/mL}) \end{aligned} = (\Delta A_{536} - b) \div a \times f \times 4^*$$

组织中 VC 含量计算公式：

$$\begin{aligned} \text{VC 含量} \\ (\mu\text{g/mgprot}) \end{aligned} = (\Delta A_{536} - b) \div a \times f \times 4^* \div C_{pr}$$

注解：

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标曲斜率

b: 标曲截距

ΔA_{536} : 样本测定 OD 值-空白 OD 值

f: 样本加入检测体系前稀释的倍数

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度(mgprot/mL)

4*: 样本在上清液制备时的稀释倍数(4 倍)

附录1 关键数据

1. 技术参数

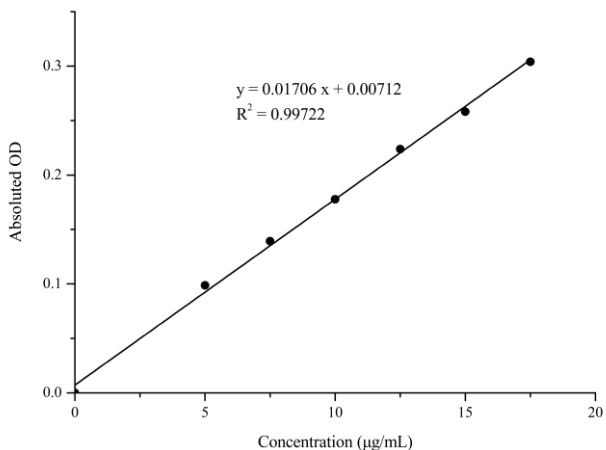
检测范围	0.31-17.5 µg/mL	平均批间差	6.1 %
灵敏度	0.31 µg/mL	平均批内差	2.2 %
平均回收率	108 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量为100 µL，按照说明书操作步骤进行操作，读取数据(如下表)：

标准品浓度 (µg/mL)	0	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0	17.5
OD 值	0.054	0.149	0.193	0.228	0.281	0.314	0.360
	0.054	0.155	0.192	0.234	0.274	0.310	0.356
平均 OD 值	0.054	0.152	0.193	0.231	0.278	0.312	0.358
绝对 OD 值	0.000	0.099	0.139	0.178	0.224	0.258	0.304

②绘制标曲(如下图)：



附录2 实例分析

例如检测鸡血清(数据仅供参考):

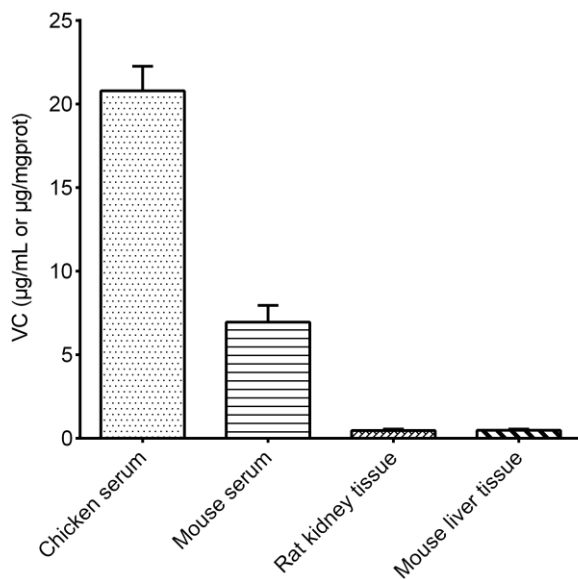
前处理: 取鸡血清0.1 mL到1.5 mL EP管中, 加入0.3 mL试剂一工作液, 旋涡混匀, 室温静置15 min后2000 ×g离心10 min, 取上清液待测。

按操作表检测, 结果如下:

标准曲线: $y = 0.0233x + 0.0198$, 测定孔平均OD值为0.203, 空白OD值为0.062, 带入公式计算结果为:

$$\text{VC 含量} = (0.203 - 0.062 - 0.0198) \div 0.0233 \times 4 = 20.81 \mu\text{g/mL} \text{ (}\mu\text{g/mL)}$$

按照说明书操作, 测定鸡血清(加样量0.10 mL)、小鼠血清(加样量0.10 mL)、大鼠肾组织(10%组织匀浆的蛋白含量10.17 mg/mL, 加样量0.10 mL)、小鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量13.01 mg/mL, 加样量0.10 mL)中的VC含量(如图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	样本上清液含有沉淀	再次离心,用移液器枪小心取上清液
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675

11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
 23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
 24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
 25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
 26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
 27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
 28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
 29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
 30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508