

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ082

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 在菲啰琳的存在下，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琳形成粉红色复合物，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：GBQ162)。

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	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	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℃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℃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℃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℃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 等螯合剂。

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℃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℃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：GBQ162)。

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：

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

组织中 VC 含量计算公式：

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

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

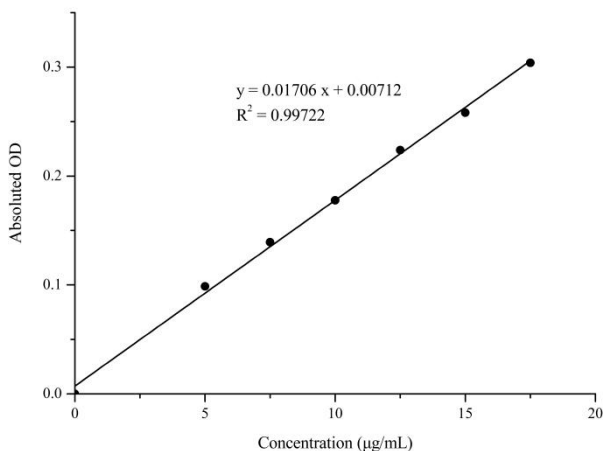
检测范围	0.31-17.5 µg/mL	平均批间差	6.1 %
灵敏度	0.31 µg/mL	平均批内差	2.2 %
平均回收率	108 %		

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):

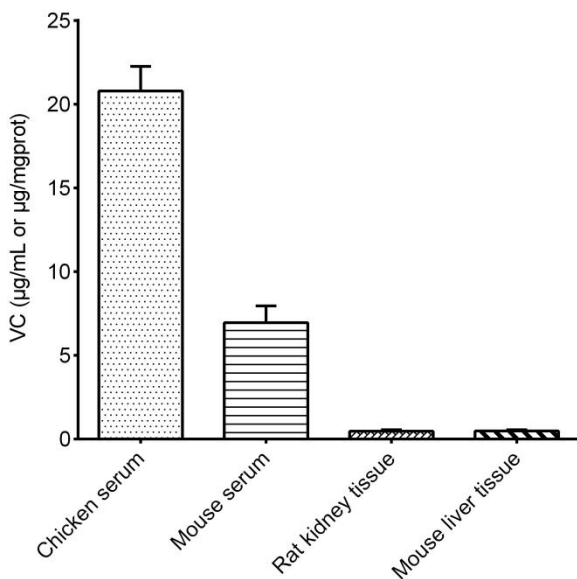
前处理: 取鸡血清0.1 mL到1.5 mL EP管中, 加入0.3 mL试剂一工作液, 旋涡混匀, 室温静置15 min后 $2000 \times g$ 离心10 min, 取上清液待测。

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:

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

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