

抗坏血酸 (ASA) 含量检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0258	抗坏血酸 (ASA) 含量检测试剂盒	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 120mL ×1 瓶	4℃
试剂一	液体 6mL ×1 瓶	4℃
试剂二	液体 5mL ×1 瓶	4℃
试剂三	液体 6mL ×1 瓶	4℃
标准品	粉剂 10mg ×1 瓶: 称取 1mg 加入 10mL 提取液, 即为 100μg/mL 标准品。	4℃, 避光

一、产品说明

AsA 又称维生素 C。AsA 是辅酶、自由基清除剂、电子共体/受体和草酸盐与酒石酸盐生物合成的底物等。作为植物细胞中最重要的抗氧化剂, AsA 在保护叶绿体免于氧化损伤时起着举足轻重的作用, 也是衡量农作物产品品质的重要指标之一。

抗坏血酸具有较强还原能力将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , 邻二氮菲与 Fe^{2+} 会形成红色螯合物, 在 534nm 处具有强的吸收法, 且吸光值与反应液中抗坏血酸含量呈正比。

二、自备材料

研钵、冰、低温离心机、酶标仪或可见分光光度计、96 孔板或微量比色皿、可调式移液器和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆。8000g, 4℃ 离心 20min, 取上清置冰上待测。
- 2、细菌或培养细胞: 按照细胞数量 (10^4 个) : 提取液体积 (μ L) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 8000g, 4℃ 离心 20min, 取上清液置冰上混匀待测。
- 3、血清或血浆: 直接待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 534nm, 提取液调零。
- 2、测定前将所有试剂 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 水浴 5min 以上。
- 3、标准曲线的绘制及样本测定 (严格按照顺序加入各试剂) :

	0μg/mL	15μg/mL	30μg/mL	60μg/mL	80μg/mL	100μg/mL	测定管
标准品	0μL	6μL	12μL	24μL	32μL	40μL	0μL
样本	0μL	0μL	0μL	0μL	0μL	0μL	40μL
提取液	40μL	34μL	28μL	16μL	8μL	0μL	0μL
试剂一	50μL	50μL	50μL	50μL	50μL	50μL	50μL
混合, 摇匀。							
试剂二	25μL	25μL	25μL	25μL	25μL	25μL	25μL
试剂三	50μL	50μL	50μL	50μL	50μL	50μL	50μL
蒸馏水	50μL	50μL	50μL	50μL	50μL	50μL	50μL
充分混匀, 室温静置 15min 后, 取 200 μl 于 96 孔板或微量比色皿, 534nm 处测定各管吸光值。(如底部有沉淀, 离心后再取液读数)							

五、ASA 含量的计算

根据标准曲线, 将样品 ΔA 带入公式中 (x), 计算出样品浓度 y ($\mu\text{g/mL}$)。

1、按照样本蛋白浓度计算:

抗坏血酸 ($\mu\text{g} / \text{mg prot}$) = $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}})$ 。

2、按照样本鲜重计算:

抗坏血酸 ($\mu\text{g} / \text{g 鲜重}$) = $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W)$ 。

3、按照细胞/细菌数量计算:

抗坏血酸 ($\mu\text{g} / 106\text{ceLL}$) = $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量})$ 。

4、按照液体体积计算:

抗坏血酸 ($\mu\text{g} / \text{ml}$) = y。

$V_{\text{样总}}$: 上清液总体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积; W : 样品质量, g ;
 C_{pr} : 上清液蛋白质浓度, mg/mL; 细胞数量: 以 10^4 为单位计量。

六、注意事项

- 1、样品处理需匀浆完全, 抗坏血酸易分解, 需避光保存。
- 2、标准品: 现配现用。
- 3、不确定样品中 抗坏血酸 含量的高低, 可稀释几个梯度后再进行测量。
- 4、因为提取液中含有蛋白质沉淀剂, 因此上清液不能用于蛋白浓度测定。