

Ascorbic Acid Content Assay Kit

还原型抗坏血酸(AsA)/维生素 C 含量测定试剂盒

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|--------|--------------------------|-----|
| BL878A | 还原型抗坏血酸(AsA)/维生素C含量测定试剂盒 | 48T |

产品简介:

抗坏血酸 AsA 又称维生素 C。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。在氧化还原代谢反应中起调节作用，抗坏血酸 (AsA) 与脱氢抗坏血酸 (DHA) 的比值 (AsA/ DHA) 是反映细胞氧化状态的另一个重要指标。

还原型抗坏血酸 (AsA) 把三价铁离子还原成二价铁离子，二价铁离子与菲咯啉反应生成红色络合物，在 534nm 处有特征吸收峰，颜色深浅与还原型抗坏血酸含量成正比。

产品组成:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|-------------|--------|--|
| 提取液 | 液体 60mL×1 瓶 | 4°C 保存 | |
| 试剂一 | 液体 15mL×1 瓶 | 4°C 保存 | |
| 试剂二 | 液体×1 支 | 4°C 保存 | 试剂三配制：临用前取 0.024mL 试剂二至试剂瓶（空瓶）中，再加 4.976mL 无水乙醇，混匀备用。 |
| 试剂三 | 试剂瓶(空瓶) | 4°C 保存 | |
| 试剂四 | 粉末×1 瓶 | 4°C 保存 | 用前甩几下使粉体落入底部，再加 10mL 无水乙醇混匀溶解（该试剂难溶，可超声溶解）。 |
| 试剂五 | 液体 5mL×1 瓶 | 4°C 保存 | 溶液为淡黄色。 |
| 标准品 | 粉末×2 支 | 4°C 保存 | 临用前：每支用前甩几下标准品管，使粉剂落入底部，再加入 1mL 试剂一混匀溶解，即得 1mg/mL，再用试剂一稀释 100 倍，0.01mg/mL 溶液即为标准液（现配现用）。 |

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织(水分充足的果实样本取约 0.5g 组织或更多)，加入 1mL 预先预冷的提取液，进行冰浴匀浆，室温静提 10min 后；
- (b) 10000~12000g 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：根据研究需求，可按组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 10 的比例进行提取。

2. 细菌/细胞样本:

直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



二、样品测定:

1. 可见分光光度计预热 30 min, 调节波长至 534nm, 蒸馏水调零。
2. 叶片类样本直接检测即可, 果肉类样本一般需先稀释 10 倍再检测 (可按照加样表操作时加入 30 μ L 样本, 试剂一增加为 420 μ L)。
3. 在离心管中依次加入:

| 试剂名称 (μ L) | 测定管 | 标准管 (仅做一次) | 空白管 (仅做一次) |
|-----------------|-----|---------------|---------------|
| 样本 | 300 | - | - |
| 标准液 | - | 300 | - |
| 提取液 | - | - | 300 |
| 试剂一 | 150 | 150 | 150 |
| 无水乙醇 | 150 | 150 | 150 |
| 试剂三 | 75 | 75 | 75 |
| 试剂四 | 150 | 150 | 150 |
| 试剂五 | 75 | 75 | 75 |

混匀, 于 30 $^{\circ}$ C 反应 60min 后, 立即取全部澄清液体 (若有沉淀需 8000g, 室温离心 5min, 取上清液) 至 1mL 玻璃比色皿中, 立即于 534nm 处读取各管吸光值 A。

- 【注】:** 1. 若提取完的样本上清液有较强的背景色 (如粉色, 红色等), 需增设一个样本自身对照: 即对照管为 300 μ L 样本+150 μ L 试剂一+75 μ L 试剂二 B 液+375 μ L 无水乙醇, 30 $^{\circ}$ C 反应 60min 后, 剩余步骤同测定管, $\Delta A = A_{测定} - A_{对照} - A_{空白}$ 。
2. 若测定管大于 1.8, 可对样本进行稀释 D, 或降低样本量 V1 则试剂一相应增加。则稀释倍数 D 或改变后的样本体积 V1 需代入公司重新计算。

结果计算

1. 按样本质量计算

$$AsA(\text{mg/g 鲜重}) = [(A_{测定} - A_{空白}) \div (A_{标准} - A_{空白})] \times (C_{标准} \times V_{标准}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ = 0.01 \times (A_{测定} - A_{空白}) \div (A_{标准} - A_{空白}) \div W \times D$$

2. 按液体体积计算

$$AsA(\text{mg/mL}) = [(A_{测定} - A_{空白}) \div (A_{标准} - A_{空白})] \times (C_{标准} \times V_{标准}) \div V1 \times D \\ = 0.01 \times (A_{测定} - A_{空白}) \div (A_{标准} - A_{空白}) \times D$$

V---加入提取液体积, 1 mL

V 标准---加入标准液体积, 0.3mL

W---样品质量, g

V1---加入反应体系中上清液体积, 0.3mL

C 标准---标准液浓度, 0.01mg/mL

D---稀释倍数, 若没有稀释即为 1

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

4 $^{\circ}$ C 保存三个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

