

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
BL878B	还原型抗坏血酸(AsA)/维生素C含量测定试剂盒	96T

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 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二 A	液体×1 支	4°C保存	试剂二 mix: 临用前取 0.047mL 试剂二 A 至 B 空瓶中，再加 9.953mL 无水乙醇，混匀备用。
试剂二 B	空瓶	4°C保存	
试剂三	粉末×1 瓶	4°C保存	用前甩几下使粉体落入底部，再加 13mL 无水乙醇混匀溶解（该试剂难溶，可超声溶解）。
试剂四	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 5mg/mL，再用试剂一稀释 500 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:

- 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；
- 12000rpm 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:

- 收集细菌或细胞到离心管内，离心弃上清；

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。



- (b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 强度 20% 或 200W, 超声 3S, 间隔 10S, 重复 30 次);
- (c) 12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。
3. 液体样本准备:
直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30 min, 调节波长至 534nm。
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 20 μ L 样本, 试剂一增加为 280 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	200	-	-
标准液	-	200	-
提取液	-	-	200
试剂一	100	100	100
无水乙醇	100	100	100
试剂二 mix	50	50	50
试剂三	100	100	100
试剂四	50	50	50

混匀, 于 30°C 反应 60min 后, 立即取 200 μ L 澄清液体 (若有沉淀需 8000g, 室温离心 5min, 取上清液) 至 96 孔板中, 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 200 μ L 样本+100 μ L 试剂一+50 μ L 试剂二 mix+250 μ L 无水乙醇, 30°C 反应 60min 后, 剩余步骤同测定管, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ 。
2. 若测定管大于 1.5, 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。

三、结果计算

1. 按样本质量计算

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

$$= 0.01 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

2. 按液体体积计算

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

$$= 0.01 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

3. 按细菌/细胞计算

$$\text{AsA}(\mu\text{g}/10^4\text{cell}) = [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \times 10^3 \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

$$= 10 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 500 \times D$$

V---加入提取液体积, 1 mL

V 标准---加入标准液体积, 0.2mL

W---样品质量, g

500---细胞数量, 万

V1---加入反应体系中上清液体积, 0.2mL

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。

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。





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°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。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

