

抗坏血酸 (AsA) 含量测定试剂盒 (紫外分光光度法)

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1183

产品规格：50管/48样

产品简介：

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。

抗坏血酸氧化酶 (AAO) 催化AsA氧化生成DHA，通过测定AsA的氧化速率，即可计算出AsA含量。

产品内容：

试剂一：液体50ml×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体50ml×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体×1瓶，4℃保存。临用前加入5mL试剂二，混匀。

标准品：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前配制，加入5.679 mL蒸馏水充分溶解；吸取0.05 mL上述溶液，加入0.95 mL蒸馏水，混匀，即500μmol/L AsA。

需自备的仪器和用品：

研钵、冰、低温离心机、紫外分光光度计、1mL石英比色皿、可调式移液器和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品中AsA提取：

1、组织：按照组织质量 (g)：试剂一体积(mL)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一）进行冰浴匀浆。8000g，4℃离心20min，取上清置冰上待测。

2、细菌、真菌：按照细胞数量 (10⁴个)：试剂一体积 (mL) 为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL试剂一），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、血清等液体：直接测定。

二、AsA测定操作：

1、分光光度计预热30min，调节波长到265nm，蒸馏水调零。

2、试剂二在25℃水浴锅中预热30 min。

3、标准管：依次在比色皿中加入100μL标准液、800μL试剂二和100μL试剂三，迅速混匀，在265nm测定，记录30s和150s的吸光值A1和A2， ΔA 标准管= A1 - A2。

4、测定管：依次在比色皿中加入100μL上清液、800μL试剂二和100μL试剂三，迅速混匀，在265nm测定，记录30s和150s的吸光值A3和A4， ΔA 测定管= A3 - A4。

注意：标准管只需测定一次。

三、AsA含量计算公式：

(1) 按蛋白浓度计算

$$\text{AsA (nmol/mg prot)} = [\text{C标准液} \times \Delta A \text{测定管} \div \Delta A \text{标准管} \times V \text{标准}] \div (\text{Cpr} \times V \text{样}) \\ = 100 \times \Delta A \text{测定管} \div \Delta A \text{标准管} \div \text{Cpr}$$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

(2) 按样本质量计算

$$\text{AsA}(\text{nmol/g}) = [\text{C标准液} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \times \text{V标准}] \div (\text{W} \times \text{V样} \div \text{V样总}) \\ = 100 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \div \text{W}$$

(3) 按细胞数量计算

$$\text{AsA}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) = [\text{C标准液} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \times \text{V标准}] \div (\text{细胞数量} \times \text{V样} \div \text{V样总}) \\ = 100 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \div \text{细胞数量}$$

(4) 按液体体积计算

$$\text{AsA}(\text{nmol/mL}) = [\text{C标准液} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \times \text{V标准}] \div \text{V样} \\ = 100 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管}$$

C标准液：100 $\mu\text{mol/L}$ ；V标准：标准液体积，0.1mL；V样总：上清液总体积，1.0 mL=0.001 L；V样：加入反应体系中上清液体积，0.1mL；Cpr：蛋白含量，mg/mL；W：样品质量，g。

注意事项：

- 1、试剂三和标准品现配现用，配制好的4 $^{\circ}\text{C}$ 保存，3天内使用完。
- 2、最低检出限为10 $\mu\text{mol/L}$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com