

## 抗坏血酸 (AsA) 含量测定试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1184

产品规格: 100管/96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:

| 试剂名称 | 规格         | 保存条件 |
|------|------------|------|
| 试剂一  | 液体100mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂二  | 液体20mL×1瓶  | 2-8℃ |
| 试剂三  | 液体10μL×1瓶  | 2-8℃ |
| 标准品  | 粉剂×1瓶      | 2-8℃ |

### 溶液的配制:

1. 试剂三: 液体置于试剂瓶内EP管中。临用前根据用量按照试剂三:试剂二为1:250的体积比例充分混匀, 现用现配;
2. 标准品: 临用前配置, 加入5.679mL蒸馏水充分溶解, 即10mmol/L AsA; 吸取0.04mL上述溶液, 加入0.96mL蒸馏水, 混匀, 即400μmol/L AsA。

### 技术指标:

最低检出限: 0.7539μmol/L

线性范围: 6.25-1400μmol/L

**注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 需自备的仪器和用品:

研钵/匀浆器、冰、低温离心机、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板 (UV板)、可调式移液器、蒸馏水。

### 操作步骤:

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、细胞: 按照细胞数量 (10<sup>4</sup>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、测定操作:

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min, 调节波长到265nm, 蒸馏水调零。



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. 试剂二在25℃水浴锅中预热30min以上。
3. 标准管：依次在微量石英比色皿/96孔板中加入20 μL标准液、160 μL试剂二和20 μL试剂三，迅速混匀后于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：依次在微量石英比色皿/96孔板中加入20 μL上清液、160 μL试剂二和20 μL试剂三，迅速混匀后于265nm测定，记录30s和150s的吸光值A3和A4。ΔA测定管=A3-A4。

**注意：**如果样本数量较大。可将试剂二与试剂三按照8:1的体积比混匀配成工作液使用，根据样本所需现配现用，禁止一次性配完。加样顺序为180 μL工作液、20 μL上清液（或标准液），加入上清液（或标准液）即开始计时。（标准管只需测定1-2次）。

### 三、AsA含量计算公式：

#### (1) 按蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{AsA (nmol/mg prot)} &= (\text{C标准液} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \times \text{V样}) \div (\text{Cpr} \times \text{V样}) \\ &= 400 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

#### (2) 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{AsA (nmol/g 质量)} &= (\text{C标准液} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \times \text{V样}) \div (\text{W} \times \text{V样} \div \text{V样总}) \\ &= 400 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \div \text{W} \end{aligned}$$

#### (3) 按细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{AsA (nmol/10}^4\text{cell)} &= (\text{C标准液} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \times \text{V样}) \div (\text{细胞数量} \times \text{V样} \div \text{V样总}) \\ &= 400 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

#### (4) 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{AsA (nmol/mL)} &= (\text{C标准液} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \times \text{V样}) \div \text{V样} \\ &= 400 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \end{aligned}$$

C标准液：标准液的浓度，400 μmol/L=400 nmol/mL；V样总：上清液总体积，1.0 mL；V样：加入反应体系中上清液体积，0.02 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞数量：以10<sup>4</sup>为单位计量，万。

### 注意事项：

1. 试剂三和标准品现配现用，配制好的4℃保存，3天内使用完。
2. 如果样本初始吸光值大于1.4，建议将样本用试剂一稀释后进行测定。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com