

## 还原型抗坏血酸 (AsA) / 维生素 C 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1030

保存: 4℃ 避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清、血浆、培养液等液体样本

### 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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法, 用于分析各种生物样品中 AsA 含量。其原理是在乙酸溶液中, 抗坏血酸与固蓝盐 B 反应生成黄色的草酰肼-2-羟基丁酰内酯衍生物, 在最大吸收波长 420 处测定吸光度, 即可计算出 AsA 含量。

### 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	2mL	4mL	4℃ 保存
试剂二	3mL	6mL	4℃ 保存
试剂三	粉剂 × 1 瓶	粉剂 × 2 瓶	4℃ 避光保存
标准品	粉剂 × 1 瓶	粉剂 × 1 瓶	4℃ 保存

### 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 420nm 处的吸光度)

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱或水浴锅、离心机、制冰机

去离子水

匀浆器 (如果是组织样本)

### 试剂准备

提取液: 即用型; 4℃ 保存。

试剂一: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃ 保存。

试剂二: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃ 保存。

试剂三: 临用前配制, 每瓶加入 7mL 去离子水充分溶解, 用不完的试剂 4℃ 下可保存 3 天。(注意: 微量粉剂可能肉眼看不见, 正常溶解即可)

工作液配制: 每孔配制 180μL 工作液, 现配现用。吸取 140μL 去离子水, 6μL 试剂一, 10μL 试剂二, 24μL 试剂三混匀。根据样本量计算需要工作液量。

标准品: 含 10mg AsA, 临用前配置, 加入 5.679mL 去离子水充分溶解, 即 10mmol/L AsA; 吸取 0.04mL 10mmol/L AsA, 加入 0.96mL 去离子水, 混匀, 即 400 μmol/L AsA。

### 样本制备

动植物组织: 称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液冰浴匀浆, 8,000g, 4℃ 离心 20min, 取上清液置冰上待测。

细胞或细菌: 收集 500 万细胞或细菌到离心管内, 用冷 PBS 清洗细胞, 离心后弃上清, 加入 1mL 提取液, 超

## 产品说明书

声波破碎细胞或细菌 5min (功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 重复 30 次), 8,000g, 4℃离心 20min, 取上清液置冰上待测。

血清(浆)或培养液等液体样本:直接测定,根据预实验确定稀释倍数。

**注意:推荐使用新鲜样本,如果不立即进行实验,样本可在-80℃保存1个月。提取液中含有可使蛋白质变性的成分,所以制备好的样本不能用于测定蛋白含量。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上,调节波长到 420nm,可见分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定:在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂

	标准 (μL)	空白 (μL)	测定 (μL)
样本	0	0	20
提取液	0	20	0
标准液	20	0	0
工作液	180	180	180

混匀,25℃静置 20min,测定 420nm 处的吸光值 A。计算  $\Delta A_{测}=A_{测定}-A_{空白}$ 、 $\Delta A_{标}=A_{标准}-A_{空白}$ 。空白和标准只需测一次。

**注意:1. 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  $\Delta A_{测}$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{测}$  大于 1.5,样本可用提取液进一步稀释,计算结果乘以稀释倍数。**

### 结果计算

1. 按样本质量计算

AsA 含量(nmol/g 质量)= $C_{标} \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总})=400 \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \div W$

2. 按液体样本体积计算

AsA 含量(nmol/mL)= $C_{标} \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{样} \div V_{样}=400 \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标})$

3. 按细菌或细胞数量计算

AsA 含量(nmol/ $10^4$  cell)= $C_{标} \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{样} \div (500 \times V_{样} \div V_{样总})=0.8 \times (\Delta A_{测} \div \Delta A_{标})$

$C_{标}$ :标准液的浓度,400 μmol/L=400nmol/mL;  $V_{样}$ :加入样本体积,0.02mL;  $V_{样总}$ :加入提取液体积,1mL;  $W$ :样本质量, g; 500:细胞或细菌总数,500 万。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验,尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究,如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途,我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用,并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用;否则,可能导致结果异常。
5. 勤换吸头,避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品:

PMK1241 维生素 E 检测试剂盒(微量法)

PMK1242 维生素 B1 检测试剂盒(微量法)

PMK1243 维生素 B6 检测试剂盒(微量法)

更多产品详情了解,请关注公众号:

