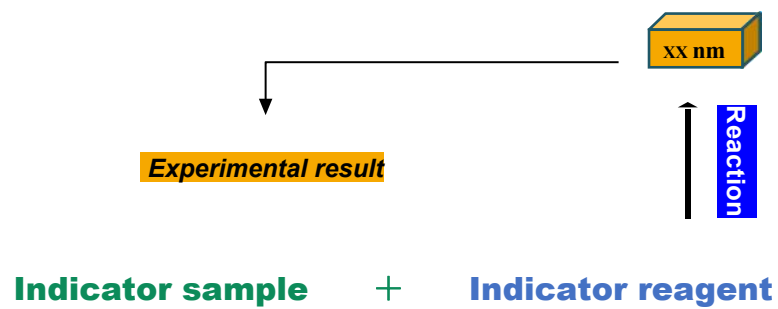


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

抗坏血酸 (AsA) 含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体120ml×1 瓶	4℃保存	—
试剂一	液体6ml×1 瓶	4℃保存	—
试剂二	液体5ml×1 瓶	4℃保存	—
试剂三	液体6ml×1 瓶	4℃保存	—
标准品	粉剂10mg×1 瓶 (避光)	4℃保存	称取1mg加入10ml提取液，即为100 μg/ml 标准品

试验中所需的仪器和试剂：

研钵、冰、低温离心机、酶标仪或可见分光光度计、96孔板或微量比色皿、可调式移液器和蒸馏水。

产品说明：

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。

抗坏血酸具有较强还原能力将Fe³⁺还原成Fe²⁺，邻二氮菲与Fe²⁺会形成红色螯合物，在534nm处具有强的吸收法，且吸光值与反应液中抗坏血酸含量呈正比。

操作步骤：

一、样品的前处理：

- (1) 组织：按照组织质量 (g)：提取液体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入1ml提取液）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)：提取液体积 (mL) 为500~1000：1 的比例（建议500 万细胞加入1ml提取液），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) 血清等液体可直接上样。

二、测定操作表：

- 1 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 534nm，提取液调零。
- 2 测定前将所有试剂 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 5min 以上。
- 3 标准曲线的绘制及样本测定（EP管中按顺序加入下列试剂）

	0 $\mu\text{g/ml}$	15 $\mu\text{g/ml}$	30 $\mu\text{g/ml}$	60 $\mu\text{g/ml}$	80 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	测定管
标准品 (μl)	0	6	12	24	32	40	0
样本 (μl)	0	0	0	0	0	0	40
提取液 (μl)	40	34	28	16	8	0	0
试剂一 (μl)	50	50	50	50	50	50	50
混合、摇匀							
试剂二 (μl)	25	25	25	25	25	25	25
试剂三 (μl)	50	50	50	50	50	50	50
蒸馏水 (μl)	50	50	50	50	50	50	50

充分混匀，室温静置 15min 后，取 200 μl 于 96 孔板或微量比色皿，534nm 处测定各管吸光值。（如底部有沉淀，离心后再取液读数）

三、抗坏血酸含量计算

根据标准曲线，将样品 ΔA 带入公式中 (x)，计算出样品浓度 y ($\mu\text{g/mL}$)。

1. 按蛋白浓度计算

$$\text{抗坏血酸 } (\mu\text{g} / \text{mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}})$$

2. 按样本鲜重计算

$$\text{抗坏血酸 } (\mu\text{g} / \text{g 鲜重}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W)$$

3. 按细胞数量计算

$$\text{抗坏血酸 } (\mu\text{g} / 10^4 \text{ cell}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量})$$

4. 按体积计算

$$\text{抗坏血酸 } (\mu\text{g} / \text{ml}) = y$$

V 样总：上清液总体积，1mL；V 样：加入反应体系中上清液体积；W：样品质量，g；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；细胞数量：以 10^4 为单位计量。

注意事项：

- 1、样品处理需匀浆完全，抗坏血酸易分解，需避光保存
- 2、标准品：现配现用。
- 3、若不确定样品中抗坏血酸 含量的高低，可稀释几个梯度后再进行测量。
- 4、因为提取液中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。