

使用说明书

Instruction Manual

抗坏血酸(AsA)含量检测试剂盒（紫外分光光度法）

Ascorbic Acid Assay Kit (UV Spectrophotometry)

产品描述

抗坏血酸 (Ascorbic Acid, 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。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。

检测原理

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。

产品组成及储存条件

50T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0029UV-A	50mL×1 瓶	4°C 保存
CB0029UV-B	50mL×1 瓶	4°C 保存
CB0029UV-C	液体×1 瓶	4°C 保存
CB0029UV-Standard	粉剂 x1 支	4°C 保存

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

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。

二、试剂预配制：

CB0029UV-C：临用前加入 6.25mL CB0029UV-B 混匀备用。

CB0029UV-标准品：临用前配制，加入 5.679 mL 蒸馏水充分溶解；吸取 0.04 mL 上述溶液，加入 0.96 mL 蒸馏水，混匀，即 400μmol/L AsA。

三、AsA 提取：

- 组织：按照组织质量(g):CB0029UV-A 体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL CB0029UV-A) 进行冰浴匀浆；8000g, 4°C 离心 20min, 取上清置冰上待测。
- 细菌、真菌：按照细胞数量 (10⁴ 个): CB0029UV-A 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL CB0029UV-A)，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°C 离心 20min, 取上清液置冰上混匀待测。
- 血清等液体：直接测定。

四、检测步骤：

- 紫外分光光度计预热 30min，调节波长到 265 nm，蒸馏水调零。
- CB0029UV-B 置于 25°C 水浴中预热 30min。
- 按顺序加入下列试剂：

试剂名称	标准管 (μL)	测定管 (μL)
标准液	100	
上清液		100
CB0029UV-B	800	800
CB0029UV-C	100	100
分别迅速混匀，在 265nm 测定，记录 30s 和 150s 的吸光值 A 标 1、A 标 2 和 A 标 3、A 标 4， ΔA 标准管 = A 标 1-A 标 2， ΔA 测定管 = A 标 3-A 标 4。		

注：标准管只需要测定 1-2 次。

五、计算公式：

1. 按蛋白浓度计算

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

2. 按样本质量计算

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

3. 按细胞数量计算

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

4. 按液体体积计算

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

注：C 标准液：400μmol/L=400nmol/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，0.1mL；

Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量（g）；细胞数量：10⁴ 为单位计量，万。

注意事项

- CB0029UV-C 和标准品现配现用，配制好的 4°C 保存，3 天内使用完。
- 如果样本初始吸光值大于 1.4，建议将样本用 CB0029UV-A 稀释后进行测定。
- 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
- 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，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

