



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

还原型抗坏血酸(AsA)/维生素 C 含量测定试剂盒-可见显色法 分光法

货号: R32737

规格: 48T

保存温度: 2-8℃保存, 有效期 3 个月。

产品简介:

抗坏血酸 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。在氧化还原代谢反应中起调节作用, 抗坏血酸 (AsA) 与脱氢抗坏血酸 (DHA) 的比值 (AsA/ DHA) 是反映细胞氧化状态的另一个重要指标。

还原型抗坏血酸 (AsA) 把三价铁离子还原成二价铁离子, 二价铁离子与菲咯啉反应生成红色络合物, 在 534nm 处有特征吸收峰, 颜色深浅与还原型抗坏血酸含量成正比。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂二 A	液体×1 支	2-8℃保存	试剂二 mix 配制: 临用前取 0.024mL 试剂二 A 至 B 空瓶中, 再加 4.976mL 无水乙醇, 混匀备用。
试剂二 B	空瓶	2-8℃保存	
试剂三	粉末×1 瓶	2-8℃保存	用前甩几下使粉体落入底部, 再加 10mL 无水乙醇混匀溶解 (该试剂难溶, 可超声溶解)。
试剂四	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存	溶液为淡黄色。
标准品	粉末×2 支	2-8℃保存	临用前: 每支用前甩几下标准品管, 使粉体落入底部, 再加入 1mL 试剂一混匀溶解, 即得 5mg/mL, 再用试剂一稀释 500 倍, 0.01mg/mL 溶液即为标准液 (现配现用)。



使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费。

一、样本准备

1. 组织样本:

(a) 称取约 0.1g 组织(水分充足的果实样本取约 0.5g 组织或更多), 加入 1mL 预先预冷的提取液, 进行冰浴匀浆, 室温静提 10min 后;

(b) 12000rpm 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 根据研究需求, 可按组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 10 的比例进行提取。

2. 细菌/细胞样本:

(a) 收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清;

(b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 强度 20% 或 200W, 超声 3S, 间隔 10S, 重复 30 次);

(c) 12000rpm, 4℃ 离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

3. 液体样本准备: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 可见分光光度计预热 30 min, 调节波长至 534nm, 蒸馏水调零。

2. 叶片类样本直接检测即可, 果肉类样本一般需先稀释 10 倍再检测 (可按照加样表操作时加入 30μL 样本, 试剂一增加为 420μL)。

3. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	300	-	-
标准液	-	300	-
提取液	-	-	300
试剂一	150	150	150
无水乙醇	150	150	150
试剂二 mix	75	75	75
试剂三	150	150	150



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

试剂四	75	75	75
混匀，于 30℃ 反应 60min 后，立即取全部澄清液体（若有沉淀需 8000rpm，室温离心 5min，取上清液）至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，立即于 534nm 处读取各管吸光值 A。			

【注】：1.若提取完的样本上清液有较强的背景色（如粉色，红色等），需增设一个样本自身对照：即对照管为 300μL 样本+150μL 试剂一+75μL 试剂二 mix+375μL 无水乙醇，30℃ 反应 60min 后，剩余步骤同测定管， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 空白。

2. 若测定管大于 1.8，可对样本进行稀释 D，或降低样本量 V1 则试剂一相应增加。则稀释倍数 D 或改变后的样本体积 V1 需代入公司重新计算。

3. 若 A 测定-A 空白的差值小于 0.01，可增加样本加样量 V1（如增至 0.45mL，则试剂一减至 0mL；或增至 0.6mL，则试剂一和无水乙醇减至 0mL），或增加取样质量 W（如由 0.1 增至 0.2g 或更多）。则改变后的 V1 和 W 需带入公式重新计算。

三、结果计算

1. 按样本质量计算

$$AsA(\text{mg/g 鲜重}) = [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \div (W \times V1 \div V) \times D = 0.01 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

2. 按液体体积计算

$$AsA(\text{mg/mL}) = [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \div V1 \times D = 0.01 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

3. 按细菌/细胞数量计算：

$$AsA(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \times 10^3 \div (500 \times V1 \div V) \times D = 10 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 500 \times D$$

V---加入提取液体积，1 mL

V1---加入反应体系中上清液体积，0.3mL

V 标准---加入标准液体积，0.3mL

C 标准---标准液浓度，0.01mg/mL

W---样品质量，g



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

D---稀释倍数, 若没有稀释即为 1

500---细胞数量, 万

注意事项:

1. 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。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

