



抗坏血酸 (AsA) 含量检测试剂盒
Ascorbic Acid (AsA) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



抗坏血酸 (AsA) 含量检测试剂盒

Ascorbic Acid (AsA) Content Assay Kit

一、产品描述

抗坏血酸 (AsA) 又称维生素 C (Vitamin C)，是一种具有烯醇式己糖内脂立体结构的酸性己糖内酯化合物，是生物有机体代谢过程中一类非常重要的营养元素，可作为辅酶、抗氧化剂、自由基清除剂、电子供体/受体和生物合成底物等，在生物代谢过程中发挥着重要作用。

抗坏血酸氧化酶 (Ascorbate Oxidase) 可催化抗坏血酸氧化生成脱氧抗坏血酸 (Dehydroascorbate)，抗坏血酸在 265 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化速率即可定量检测抗坏血酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 30 μ L×1 支	4°C 保存	按照试剂二：试剂一 = 1:75 的体积比配制 (根据使用量现用现配，配制后 4°C 可保存 2 天)
标准品	粉剂×1 瓶	4°C 避光保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mmol/L AsA 标准液)
标准应用液的制备：将 10 mmol/L AsA 标准液使用蒸馏水稀释至 500 μ mol/L 即为标准应用液。 (50 μ L 10 mmol/L AsA 标准液加入 950 μ L 蒸馏水充分混匀)			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样品处理 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液) 处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量 (10^4 个)：提取液体积 (mL) 为 (500-1000)：1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品，冰浴超声破碎 (功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min)，4°C 8000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本：直接检测或使用提取液适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 265 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将试剂一 25℃预热 30 min 以上。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	标准组 (μL)
待测样本	20	-
标准应用液	-	20
试剂一	160	160
试剂二	20	20

吸光值测定：①加入试剂二即开始计时，测定 30 s（总时间）时 265 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 标准；②准确反应 120 s 后，测定 150 s（总时间）时 265 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 标准；③计算 ΔA 测定 = A1 测定 - A2 测定， ΔA 标准 = A1 标准 - A2 标准。

3.抗坏血酸（ASA）含量计算

- ①按组织蛋白浓度计算

$$\text{AsA (nmol/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}} = \frac{500 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

- ②按组织样本质量计算

$$\text{AsA (nmol/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times W} = \frac{500 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

$$\text{AsA (nmol/10}^4 \text{ cell)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量}} = \frac{500 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

- ④按液体样本体积计算

$$\text{AsA (nmol/mL)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}} = \frac{500 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

注释： C 标：标准应用液浓度，500 μmol/L = 500 nmol/mL；V 样总：待测样本总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.02 mL；Cpr：样本蛋白含量，mg/mL；W：样品质量，g；细菌或细胞数量：以万计；D：液体样本稀释倍数。

四、注意事项

①若同时测定多个样本，可根据样本量按试剂一：试剂二 = 8:1 的体积比配制为检测工作液（现用现配，严禁一次性全部配制储存使用）；96 孔 UV 板中加入 20 μ L 待测样本（或 20 μ L 标准应用液），再加入 180 μ L 检测工作液，充分混匀并立即开始计时；

②准确在 30 s 和 150 s 处完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；

③若 A1 测定大于 1.4，建议将待测样本使用提取液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

