

## 抗坏血酸(AsA)含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHF8-M48	抗坏血酸(AsA)试剂盒	48T	微量法
PMHF8-M96		96T	

### 一、测定意义：

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。

### 二、测定原理：

Fe<sup>3+</sup>与抗坏血酸迅速作用生成 Fe<sup>2+</sup>，后者再与啡罗啉显色反应，可以测定样本中维生素 C 的含量。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	液体 110 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 16 mL×1 瓶	液体 20 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	液体 6 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂三	液体 6 mL×1 瓶	液体 12 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	液体 3 mL×1 瓶	液体 6 mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品 (10mg)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2~8℃保存

**标准液的配制：**临用前在每支粉剂中加入 10mL 试剂一配制 1mg/mL 的标准液备用。

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴

提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 500nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将配制好的 1mg/mL 标准液用试剂一稀释成 50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625μg/mL 的标准液待用；
- 3、取 100μL 样本于离心管中，加入 100μL 试剂一，重复混匀，10000g，4℃离心 10min，取上清液待测；
- 4、操作表（在 96 孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管	标准管
样本 (μL)	20	-	-
试剂一 (μL)	-	20	-
不同浓度标准液 (μL)	-	-	20
试剂二 (μL)	50	50	50
试剂三 (μL)	100	100	100
试剂四 (μL)	50	50	50

充分混匀，37℃水浴 20min，后在波长 500nm 处读取吸光度值，分别记为 A<sub>测定</sub>、A<sub>标准</sub>、A<sub>空白</sub>，计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ ，  
 $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注意：空白管和标准管只需做 1-2 次。

#### 五、抗坏血酸(AsA)含量计算：

##### 1、标准曲线绘制：

以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线  $y = kx + b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度浓度 (μg/mL)。根据标准曲线，将  $\Delta A_{测定}$  带入公式计算出样本浓度 (y, μg/mL)；

##### 2、按样本质量计算：

$$AsA(\mu\text{g}/\text{mL}) = y \div (V_{\text{样总}} \div W) = y \div W$$

##### 3、按蛋白浓度计算：

$$AsA(\mu\text{g}/\text{mL}) = y \div C_{pr}$$

$V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W:

样本质量, g。

#### 六、注意事项:

1、不同样本抗化血酸含量相差较大, 若 $\Delta A$  大于 0.4 时, 建议将样

本稀释后测定; 如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过小时, 可以适当加大样本量后重新测  
定, 注意同步修改公式;

2、96 孔板混匀一定要充分;

3、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。

#### 【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

#### 【售后微信】



#### 【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日