

## 抗坏血酸氧化酶（AAO）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHB8-C24	抗坏血酸氧化酶（AAO）活性检测试剂盒	24T	常量法
PYHB8-C48		48T	

### 一、测定意义：

抗坏血酸氧化酶是调控抗坏血酸（AsA）代谢的关键酶，核心功能是催化 AsA 氧化为脱氢抗坏血酸，维持细胞内 AsA 的氧化还原稳态，同时参与植物抗氧化防御、细胞生长分化及果实成熟进程。测定该酶活性可评估干旱、高温、病虫害等胁迫对植物抗氧化能力的影响，也能监测果实贮藏期的品质变化，为筛选抗逆品种、优化果实保鲜技术提供关键指标。

### 二、测定原理：

抗坏血酸氧化酶（AAO）可特异性催化底物抗坏血酸（AsA）氧化生成脱氢抗坏血酸，由于 AsA 在 265nm 波长下具有特征吸收峰，而其氧化产物无此吸收，反应体系中 AsA 的氧化量会直接表现为该波长下吸光度值的降低。通过监测吸光度的下降速率可计算出 AsA 的氧化速率，进而推算出 AAO 的活性高低。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	2~8℃保存

**试剂一的配制：**每瓶粉剂加 10ml 蒸馏水，配好的试剂用蒸馏水 100 倍稀释，即按照体积比试剂一（mL）：蒸馏水(mL)=1：99，现用现配。

### 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）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

#### 测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 265nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将工作液平衡至常温；
- 3、样本测定（在玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	100	-
蒸馏水（μL）	-	100
试剂一（μL）	1000	1000

记录 265nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）

#### 五、抗坏血酸氧化酶（AAO）活性测定：

- 1、按样本蛋白浓度计算

**单位定义：**每 mg 蛋白每分钟氧化 1μmol ASA 的量为一个活力单位。

**计算公式：**AAO (U/mg prot) =  $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.041 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

- 2、按样本质量计算

**单位定义：**每 g 鲜重样每分钟氧化 1μmol ASA 的量为一个活力单位。

**计算公式：**AAO (U/g 质量) =  $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \times V_{\text{样}} \times W) \div T = 0.041 \times \Delta A \div W$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， $1.1 \times 10^{-3}$  L； $\varepsilon$ ：ASA 在 265nm 处的消光系数， $5.42 \times 10^4$  L/mol/cm； $d$ ：比色皿光径，1cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $T$ ：反应时间，5min； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $10^6$ ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^6 \mu\text{mol}$ ； $W$ ：样本质量，g。

**六、 注意事项：**

1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本，稀释成不同浓度进行预试，以选取最佳取样浓度；

2、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。

**【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