

CheKine™ 维生素 C (VC) /抗坏血酸 (AsA) 含量检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB3092

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 6.25-2000 μmol/L		灵敏度: 6.25 μmol/L
	适用样本: 动植物组织、细胞、血清等液体		
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月		

01 背景与原理

抗坏血酸 (AsA) 又称维生素 C, 是辅酶、自由基清除剂、电子供体/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。

本试剂盒检测原理是抗坏血酸氧化酶 (AAO) 催化 AsA 氧化生成脱氢抗坏血酸 (DHA), 通过测定 AsA 的氧化速率, 即可计算出 AsA 含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60 mL×2	4℃
Reagent I	11 mL	22 mL	4℃
Reagent II	5 μL	10 μL	-20℃, 避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 265 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS (pH 7.4)	清洗样本用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、冰盒、低温离心机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 **2-3** 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。Extraction Buffer 中含有使蛋白变性的成分，若按蛋白浓度计算时，需要重新提取蛋白进行测定。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent II	临用前配制，根据用量按照 Reagent II : Reagent I = 1:250 的体积比例充分混匀，现用现配	实验过程中冰上放置；4℃保存
400 nmol/mL AsA Standard	临用前配制，加入 5.679 mL 去离子水充分溶解，即为 10 μmol/mL AsA；吸取 40 μL 上述溶液，加入 960 μL 去离子水，混匀，即 400 nmol/mL AsA	配制好的 10 μmol/mL AsA 4℃避光保存，3 天内使用完。

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 -80℃ 保存 1 个月。

- 动物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 20 min，取上清液，置冰上待测。
- 植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，冰浴超声破碎 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 8000 g，4℃离心 20 min，取上清液，置冰上待测。

- **细胞样本**：收集 5×10^6 个细胞，用冷的 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min 后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 8000 g，4℃ 离心 20 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清等液体样本**：直接测定。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 265 nm。
2. **Reagent I 置于 25℃ 孵育 30 min。**
3. **标准孔的检测**：96 孔 UV 板中加入 20 μ L 400 nmol/mL AsA Standard，160 μ L Reagent I，20 μ L Working Reagent II，迅速混匀，用酶标仪在 265 nm 下测定 10 s 时的吸光值 $A_{1\text{标准}}$ 和 2 min 10 s 后的吸光值 $A_{2\text{标准}}$ 。
4. **测定孔的检测**：96 孔 UV 板中加入 20 μ L 样本，160 μ L Reagent I，20 μ L Working Reagent II，迅速混匀，用酶标仪在 265 nm 下测定 10 s 时的吸光值 $A_{1\text{测定}}$ 和 2 min 10 s 后的吸光值 $A_{2\text{测定}}$ 。

注意：（1）如果样本数量较大，可将 Reagent I 与 Working Reagent II 按照 8:1 的体积比混匀配成工作液使用，根据样本所需现配现用，禁止一次性配完。加样顺序为 180 μ L 工作液、20 μ L 样本（或 400 nmol/mL AsA Standard），加入样本（或 400 nmol/mL AsA Standard）即开始计时（标准管只需测定 1-2 次）。（2）因是根据反应速率计算含量，为保证每个样本的反应时间尽量一致，不推荐同时检测过多样本。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网 [\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) 进入“技术中心”查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{1\text{标准}} - A_{2\text{标准}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{1\text{测定}} - A_{2\text{测定}}$ 。

2. 样本 ASA 含量计算

● 按样本质量计算

$$\text{AsA (nmol/g)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样总}} \div W \times n = 400 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times n$$

● 按细胞数量计算：

$$\text{AsA (nmol/10}^4 \text{ cell)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{样总}} \div N \times n = 400 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times n$$

● 按液体体积计算

$$\text{AsA (nmol/mL)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times n = 400 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times n$$

● 按蛋白浓度数量计算

$$\text{AsA (nmol/mg prot)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \div \text{Cpr} \times n = 400 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{Cpr} \times n$$

$C_{\text{标准}}$ ：AsA 浓度，400 nmol/mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g；N：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ，N=500）；n：样本稀释倍数。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 小鼠肝脏, 按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{1\text{标准}} - A_{2\text{标准}} = 0.269 - 0.048 = 0.221$, $\Delta A_{\text{测定}} = A_{1\text{测定}} - A_{2\text{测定}} = 0.415 - 0.373 = 0.042$ 。按样本质量计算得: $\text{AsA (nmol/g)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{测定}} \div W \times n = 400 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times n = 760.18 \text{ nmol/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 1.0$, 则说明样本 AsA 含量太高, 需用 Extraction Buffer 适当稀释 (计算公式中乘以相应稀释倍数)。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.001$, 可提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB3090	CheKine™ 脱氢抗坏血酸 (DHA) 含量检测试剂盒 (微量法)
KTB3091	CheKine™ 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 维生素C（VC）/抗坏血酸（AsA）含量检测流程示意图

(Abbkinne 货号：KTB3092)

