

总抗坏血酸（TAA）含量测定试剂盒说明书

（货号：ADS-F-VC008-48 分光法 48 样）

一、产品简介：

总抗坏血酸（TAA）包括还原型和脱氢型抗坏血酸，其中还原型抗坏血酸易被氧化为脱氢型抗坏血酸，后者与 2, 4-二硝基苯肼作用生成可溶于硫酸的红色脎，该红色物质在 520nm 下有最大吸收峰，进而计算得到总总抗坏血酸（TAA）含量。

二、试剂盒的组成和配制：

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|-------------|-------|--|
| 提取液 | 液体 60mL×1 瓶 | 4℃ 保存 | |
| 试剂一 | 粉剂 1 瓶 | 4℃ 保存 | 用前甩几下或 4℃ 离心使试剂落入试管底部，再加入 25ml 的 25%硫酸，混匀，4℃ 保存。 |
| 标准品 | 粉剂 1 支 | 4℃ 保存 | 若重新做标曲，则用到该试剂。 |

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、浓硫酸、研钵冰、低温离心机、可调式移液器。

四、总抗坏血酸（TAA）含量测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.3g 组织(水分充足的样本取约 0.5g 组织)，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm, 4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

② 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

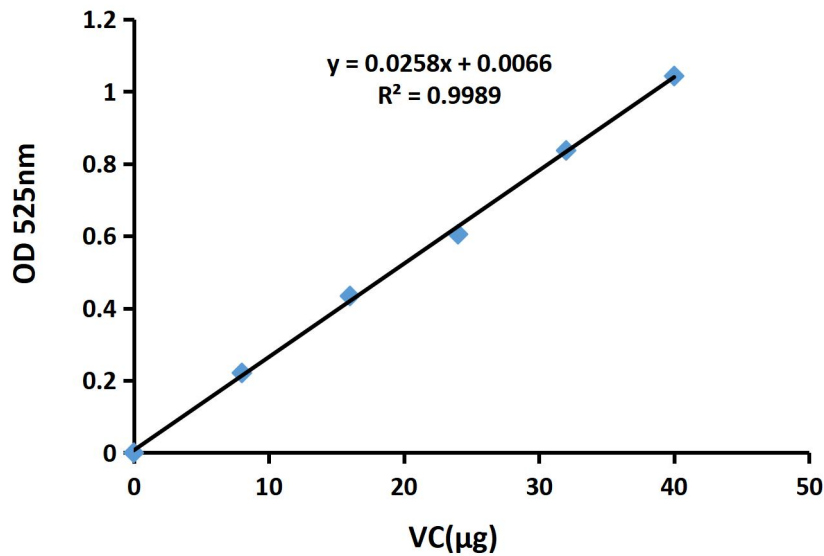
① 可见分光光度计预热 30 min，调节波长到 520 nm，蒸馏水调零。

② 依次在 EP 管中依次加入：

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 对照管 |
|--|-----|-----|
| 样本 | 80 | 80 |
| 试剂一 | 240 | |
| 38℃（恒温培养箱或水浴锅），孵育 3 小时 | | |
| 试剂一 | | 240 |
| 85%硫酸 (务必在冰上缓慢加入) | 560 | 560 |
| 混匀，室温 25℃静置 20min（准确时间）。液体全部转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 520nm 处分别读取 A 值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个测定管需要一个对照管） | | |

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0258x + 0.0066$ ，x 是标准品 VC 质量（μg），y 是 ΔA 。



2、按蛋白浓度计算

$$\text{TAA } (\mu\text{g}/\text{mg prot}) = [(\Delta A - 0.0066) \div 0.0258] \div (\text{Cpr} \times V1) \times D = 484.5 \times (\Delta A - 0.0066) \div \text{Cpr} \times D$$

3、按样本质量计算

$$\text{TAA } (\mu\text{g} / \text{g 鲜重}) = [(\Delta A - 0.0066) \div 0.0258] \div (W \times V1 \div V) \times D = 484.5 \times (\Delta A - 0.0066) \div W \times D$$

4、按液体体积计算

$$\text{TAA } (\mu\text{g} / \text{mL}) = [(\Delta A - 0.0066) \div 0.0258] \div V1 \times D = 484.5 \times (\Delta A - 0.0066) \times D$$

V----加入提取液体积， 1 mL；

V1----加入反应体系中上清液体积， 0.02mL；

W----样品质量（g）；

D----稀释倍数，若没有稀释即为 1；

Cpr----上清液蛋白质浓度， mg/mL； 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（0.5mg/mL）：向标准品中加入 2mL 蒸馏水，充分溶解，（母液需在两天内用且-20℃保存）。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管 1 的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。