



总抗坏血酸(TAA)含量测定（2,4-二硝基苯肼法）

可见分光光度法

货号: R43856-48S

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, 该红色物质在520nm下有最大吸收峰, 进而计算得到总抗坏血酸(TAA) 含量。

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mg×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mg×1支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

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。

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:

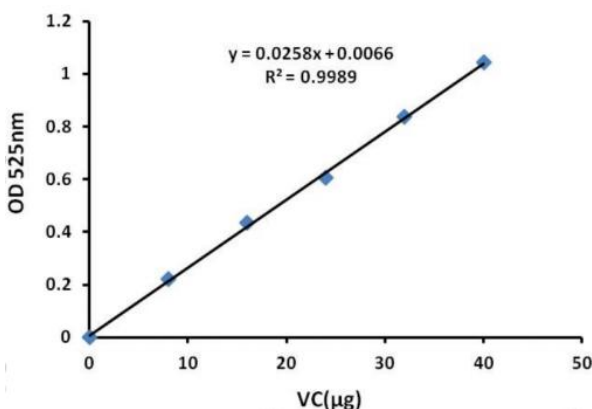
①可见分光光度计预热30 min, 调节波长到520 nm, 蒸馏水调零。

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, 若用96孔板, 则需用板子或保鲜膜遮盖, 防止水分蒸发), 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)		

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

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

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

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

$$=484.5 \times (\Delta A - 0.0066) \times D$$

V-----加入提取液体积, 1mL;

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。