

## 总抗坏血酸(TAA)含量测定(红菲咯啉法)(微板法)

产品货号: BA3185

产品规格: 96样

### 产品简介:

总抗坏血酸(TAA)包括还原型和脱氢型抗坏血酸,其中脱氢抗坏血酸被还原为还原型抗坏血酸,接着还原型抗坏血酸把三价铁离子还原成二价铁离子,二价铁离子与红菲咯啉反应生成红色络合物,在534nm处有特征吸收峰,颜色深浅与还原型抗坏血酸含量成正比,继而计算得出总抗坏血酸的含量。

### 试剂盒组分与配制:

| 试剂名称 | 规格                   | 保存要求 | 备注                                                                                  |
|------|----------------------|------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 提取液  | 液体100mL×1瓶           | 2-8℃ |                                                                                     |
| 试剂a  | 液体5mL×1瓶             | 2-8℃ | 用前甩几下或4℃离心使试剂落入试管底部,再加入15ml的25%硫酸,混匀,4℃保存。                                          |
| 试剂b  | 液体40mL×1瓶            | 2-8℃ |                                                                                     |
| 试剂c  | 液体10mL×1瓶            | 2-8℃ |                                                                                     |
| 试剂一  | 液体30mL×1瓶            | 2-8℃ |                                                                                     |
| 试剂二  | A: 液体×1支<br>试剂瓶B(空瓶) | 2-8℃ | 试剂二B液配制: 临用前取出0.047mLA液至试剂瓶B中,再加9.953mL 无水乙醇,混匀备用。                                  |
| 试剂三  | 粉体mg×1瓶              | 2-8℃ | 用前甩几下使粉体落入底部,再加13mL无水乙醇混匀溶解(该试剂难溶,可超声溶解)。                                           |
| 试剂四  | 液体5mL×1瓶             | 2-8℃ | 溶液为淡黄色。                                                                             |
| 标准品  | 粉剂×2支                | 2-8℃ | 临用前: 每支用前甩几下标准品管,使粉剂落入底部,再加入1mL试剂一混匀溶解,即得1mg/mL,再用试剂一稀释100倍为0.01mg/mL溶液即为标准液(现配现用)。 |

### 所需仪器和用品:

酶标仪、96孔板、研钵、冰、低温离心机、无水乙醇、可调式移液器和蒸馏水。

### 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0.1g组织(水分充足的果实样本取约0.5g组织或更多),加入1mL预先预冷的提取液,进行冰浴匀浆,室温静提10min后,12000rpm,4℃离心10min,取上清,置冰上待检。

[注]:若增加样本量,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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

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 酶标仪预热30min，调节波长到534nm。

② 取0.1mL上清液至新EP管中，加入0.05mL试剂a混匀，接着加入0.4mL试剂b混匀，（此时整体液体为中性：PH为7-8），室温（25℃）下反应10min，之后再加0.1mL试剂C混匀（此时整体液体为酸性：PH为1-2），此混合液为TAA待检液。

③ 依次在EP管中依次加入：

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 标准管<br>（仅做一次） | 空白管<br>（仅做一次） |
|----------|-----|---------------|---------------|
| TAA待检液   | 200 |               |               |
| 标准液      |     | 200           |               |
| 提取液      |     |               | 200           |
| 试剂一      | 100 | 100           | 100           |
| 无水乙醇     | 100 | 100           | 100           |
| 试剂二B液    | 50  | 50            | 50            |
| 试剂三      | 100 | 100           | 100           |
| 试剂四      | 50  | 50            | 50            |

混匀，于30℃反应60min后，立即取出200 μL澄清液体（若有沉淀需8000rpm，室温离心5min，取上清液）至96孔板中，立即于534nm处读取各管吸光值A。

【注】：1.若提取完的样本上清液有较强的背景色（如粉色，红色等），需增设一个样本自身对照：即对照管为200μL样本+100μL试剂一+100μL无水乙醇+50μL试剂二B液+150μL无水乙醇，30℃反应60min后，剩余步骤同测定管， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

2.若测定管大于1.5，可对样本用试剂一进行稀释D，或降低样本量则试剂一相应增加。则稀释倍数D或改变后的样本体积V1需代入公式重新计算。

结果计算：

1. 按样本质量计算：

$$\text{TAA (mg/g 鲜重)} = [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \div (W \times V1 \div V) \times 6.5 \times D \\ = 0.01 \times 6.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D。$$

2. 按液体体积计算：

$$\text{TAA (mg/mL)} = [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \div V1 \times 6.5 \times D \\ = 0.01 \times 6.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

V---加入提取液体积，1mL； V1---TAA待检液体积，0.2mL；

V标准---加入标准液体积，0.2mL； C标准---标准液浓度，0.01mg/mL；

W---样品质量（g）； 6.5---样本上清液的稀释倍数；

D---稀释倍数，若没有稀释即为1。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com