

总抗坏血酸(TAA)含量测定试剂盒(红菲咯啉法)

分光法 48 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°C保存	
试剂 a	液体 2.5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂 b	液体 20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂 c	液体 5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	A: 液体×1 支	4°C保存	试剂二 B 液 配制: 临用前取 0.024mLA 液至试剂瓶 B 中, 再加 4.976mL 无水乙醇, 混匀备用。
	试剂瓶 B(空瓶)		
试剂三	粉体 mg×1 瓶	4°C保存	用前甩几下使粉体落入底部, 再加 10mL 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	4°C保存	溶液为淡黄色。

标准品	粉剂×2支	4℃保存	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）
-----	-------	------	-----------------------------------------------------------------------------------

所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿（光径1cm）、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。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30min，调节波长到534nm，蒸馏水调零。

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 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
AA 待检液	300		
标准液		300	
提取液			300
试剂一	150	150	150
无水乙醇	150	150	150
试剂二 B 液	75	75	75
试剂三	150	150	150
试剂四	75	75	75
混匀，于 30℃ 反应 60min 后，立即取全部澄清液体（若有沉淀需 8000rpm，室温离心 5min，取上清液）至 1mL 玻璃比色皿中，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 300μL 样本+200μL 试剂一+200μL 无水乙醇+100μL 试剂二 B 液+300μL 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 1.8，可对样本进行稀释 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：

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

$V) \times 6.5 \times D$

$= 0.01 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$

2、按液体体积计算：

$TAA \text{ (mg/mL)} = [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \div V_1 \times 6.5 \times D$

$= 0.01 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$

V---加入提取液体积，1 mL； V1--- TAA 待检液体积，0.3mL；

V 标准---加入标准液体积，0.3mL； C 标准---标准液浓度，0.01mg/mL；

W---样品质量 (g)； D---稀释倍数，若没有稀释即为 1。