

总抗坏血酸(TAA)含量试剂盒-红菲咯啉法(分光法)

产品货号: BA3410

产品规格: 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。

产品内容:

产品名称	规格	保存条件	注意事项
提取液	液体60mL×1瓶	2-8°C	
试剂A	液体2.5mL×1瓶	2-8°C, 避光	
试剂B	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂C	液体5mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	A: 液体×1支 试剂瓶 B(空瓶)	2-8°C	试剂二B液配制: 1. 临用前取0.024mL A液至试剂瓶B中, 再加4.976mL无水乙醇, 混匀备用; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同
试剂三	粉体1瓶	2-8°C, 避光	1. 开盖前注意使粉体落入底部(可手动甩一甩); 2. 加入10mL无水乙醇混匀溶解(该试剂难溶, 可超声溶解); 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂四	液体5mL×1瓶	2-8°C, 避光	1. 溶液为淡黄色; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准品	粉剂2支	2-8°C	每支: 1. 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5mg/mL; 2. 再用试剂一稀释500倍(1:499)为0.01mg/mL溶液即为标准液(现配现用); 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。

实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、1ml比色皿、离心管、分光光度计、无水乙醇、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

指标测定:

建议先选取1-3个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1. 样本提取:

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, 室温静置10min后, 12000rpm, 4°C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。



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

扫一扫 加微信

② 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2. 检测步骤：

① 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°C）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：

试剂组分 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
TAA 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

【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°C 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。
3. 若 A 测定-A 空白的差值小于 0.01，可增加样本加样量 V1（如增至 0.45mL，则试剂一减至 0mL；或增至 0.6mL，则试剂一和无水乙醇均减至 0mL），或增加样本取样质量 W（如由 0.1g 增至 0.2g 或更多）。则改变后的 V1 和 W 需代入公式重新计算。

结果计算：

1. 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{TAA (mg/g 鲜重)} &= [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \div (W \times V_1 \div V) \times 6.5 \times D \\ &= 0.01 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

2. 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{TAA (mg/mL)} &= [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \div V_1 \times 6.5 \times D \\ &= 0.01 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

3. 按蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{TAA (mg/mg prot)} &= [(A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标准}}) \div (C_{\text{蛋白}} \times V_1 \div V) \times 6.5 \times D \\ &= 0.01 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div C_{\text{蛋白}} \times D \end{aligned}$$

V---加入提取液体积，1mL；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；

C_{蛋白}---蛋白浓度 (mg/mL)；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。



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

扫一扫 加微信