

## 可滴定酸(TA)检测试剂盒(滴定法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 产品简介：

有机酸存在于多种生命体中，植物组织或果实中有机酸种类和数量因植物组织或果实种类和品种而异，进而影响果实的口味、酸糖比、耐储性，植物组织或果实中含有苹果酸、柠檬酸、酒石酸、草酸等多种有机酸。

可滴定酸(TA)检测试剂盒(滴定法)又称有机酸检测试剂盒，检测原理是根据酸碱中和原理进行的，即用已知浓度的氢氧化钠溶液滴定待测样品，根据氢氧化钠的消耗量计算待测样品中可滴定酸的含量，主要用于定量检测植物组织或果实中可滴定酸(如苹果酸、柠檬酸、酒石酸、草酸等)的含量，该 50T 试剂盒可以检测约 47~48 次样本。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成：

名称	规格	保存条件
可滴定酸(TA)检测试剂盒(滴定法)	50T	4℃避光
试剂(A):TALysisBuffer(10×)	250ml	RT
试剂(B):TA 滴定液(0.1mol/L)	2×250ml	RT
试剂(C):TA 标定液	120ml	4℃
试剂(D):酚酞指示剂	5ml	RT
使用说明书		1 份
有效期		6 个月

### 自备材料：

- 1、实验材料：桃子、李子、苹果、杏等果实或其他植物组织
- 2、研钵或匀浆器、滤纸或纱布
- 3、离心管或试管、三角瓶、滴定管、容量瓶
- 4、水浴锅、离心机
- 5、pH 计、蓝色石蕊试纸
- 6、滴定分析用蒸馏水（无 CO<sub>2</sub>，无 NH<sub>3</sub>）

### 操作步骤(仅供参考)：

- 1、配制 TALysisBuffer 工作液：取适量的 TALysisBuffer(10×)，按 TALysisBuffer(10×)：蒸馏

水=1: 9 的比例混合, 即为 TALysisBuffer 工作液。

2、准备样品: 取果实或其他植物组织, 洗净, 擦干, 称取剪碎的新鲜样品 5g, 置于研钵或匀浆器, 加入 10mlTALysisBuffer 工作液, 充分研磨或匀浆后转入三角瓶, 用少量

TALysisBuffer 工作液冲洗研钵或匀浆器, 一并转入三角瓶, 补加 TALysisBuffer 工作液约 30ml, 混匀, (置于 80℃ 恒温水浴锅)静置浸提 30min, 期间搅拌数次。(冷却后)用滤纸或纱布过滤(也可 4000r/min 离心 10min), 留取滤液(或上清液)转入 50ml 容量瓶中, 用 TALysisBuffer 工作液冲洗残渣 2~3 次, 合并滤液并定容至 50ml, 充分混匀, 即为可滴定酸提取液, 4℃ 保存待用。

3、标定 TA 滴定液: 取 20mlTA 标定液, 滴加 50 μl 酚酞指示剂, 用 TA 滴定液(0.1mol/L)滴定至溶液呈粉红色; 按如下公式计算 TA 滴定液准确浓度:

TA 滴定液准确浓度(nb,mol/L)=0.24/(TA 滴定液所用毫升数×0.2042)

4、滴定测定: 取 10ml 可滴定酸提取液加至三角瓶, 滴加 50 μl 酚酞指示剂, 用已经标定好的 TA 滴定液进行滴定至溶液初现粉红色并在 0.5min 内不褪色为终点, 记录 TA 滴定液的用量; 以 TALysisBuffer 工作液代替可滴定酸提取液进行滴定, 作为空白对照。

**计算:** 根据 TA 滴定液消耗量, 计算样品中可滴定酸含量, 以百分比表示。计算公式如下:

可滴定酸含量(%)={V×nb×f×(V1-V0)×100%}/(W×VS)

100g 样品鲜重中可滴定酸含量(g/100g)={V×nb×f×(V1-V0)×100}/(W×VS)

式中: V=样品提取液的总体积(ml)

nb=标定后的 TA 滴定液摩尔浓度(mol/L=mmol/mL)

V1=滴定提取液所用的 TA 滴定液的体积(ml)

V0=滴定蒸馏水所用的 TA 滴定液的体积(ml)

W=样品鲜重(g)

VS=滴定时所取滤液(可滴定酸提取液)的体积(ml), 本实验中 Vs=10mlf=折算系数(1mmolTA 滴定液换算为有机酸克数的系数, g/mmol)

### 几种常见有机酸的换算系数

有机酸名称	有机酸名称	常见果蔬和制品
苹果酸	0.067	苹果、梨、桃杏李、番茄、 莴苣 等仁果类、核果类水果
柠檬酸(一水)	0.070	柑橘类、浆果类水果
酒石酸	0.075	葡萄
草酸	0.045	菠菜
乳酸	0.090	盐渍、乳酸发酵制品
乙酸	0.060	醋渍制品

#### 注意事项:

- 1、实验材料应尽量新鲜，如取材后不立即使用，应存于-20℃。
- 2、实验用蒸馏水不能含有二氧化碳，可用新煮沸且冷却后的蒸馏水，并盖紧瓶口。
- 3、TA 滴定液为碱性溶液，有腐蚀性，请小心操作。
- 4、TA 标定液容易长菌，宜 4℃ 保存，一旦发现絮状物请弃用。
- 5、果实中含酸量较少时可将 TA 滴定液适当稀释后使用，可考虑用 0.01~0.05M TA 滴定液进行滴定。
- 6、TA 滴定液含量计算公式中，V0 最好为 3 次空白测定的平均值。
- 7、如果所测样品的浓度过高，应用 TALysisBuffer 工作液稀释样品后重新测定，并将稀释倍数带入公式。
- 8、如果样品颜色较深，滴定终点不易观察，应采用电位滴定法。

#### 附录:

如果提取液颜色影响滴定终点的确定，可在蓝色石蕊试纸上加 1 滴蒸馏水和 1 滴提取液，当试纸不再变红时为终点；除此之外还可用 pH 计测定，以避免提取液颜色对确定终点的影响；其方法如下：将 pH 计的电极进入提取液中，边搅拌边滴加 TA 滴定液，记录 pH 的变化，以滴加滴定液的体积为横坐标，pH 为纵坐标，制作酸碱滴定曲线，滴定曲线的两个“滴定拐点”间的中点即为滴定终点。

有些果蔬样品提取液滴定至近终点时出现黄褐色，这时可加入提取液体积的 1~2 倍热水稀释，加入酚酞指示剂 0.5~1ml，再继续滴定，使酚酞变色易于观察。