

柠檬酸(CA)含量试剂盒(酶法)（紫外分光光度法）

产品货号：BA2730

产品规格：24样/48样

产品简介：

柠檬酸是一种重要的有机酸，是重要的食品风味物质。同时，也是三酸循环第步反应的产物。

本试剂盒提供一种特异性酶法检测柠檬酸含量，利用柠檬酸裂解酶分解柠檬酸生成草酰乙酸，苹果酸脱氢酶催化草酰乙酸生成乳酸，同时使NADH转化为NAD⁺，通过测定NADH在340nm处吸光值的减少量，进而计算出样品中柠檬酸含量。

测试盒组成和配制：

试剂名称	24样	48样	保存温度	备注
提取液	液体30mL×1瓶	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×2支	粉剂mg×4支	-20℃	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部，每支再加0.55mL蒸馏水溶解备用，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，三天内用完。
试剂二	粉剂mg×1支	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下或离心，使试剂落入底部，再加1.1mL蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体20mL×1瓶	液体50mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	粉剂mg×1支	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下或离心，使试剂落入底部，再加0.55mL蒸馏水溶解备用。

所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL石英比色皿（光径1cm）、低温离心机、可调式移液器、研钵和蒸馏水。

柠檬酸含量检测：

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. 样本提取：

- (1) 组织样本：0.1g组织样本(水分充足的样本建议取0.2g左右)，加1mL的提取液研磨，粗提液全部转移到EP管中，12000rpm，常温离心10min，上清液待测。

【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的比例提取。

(2) 细菌/真菌样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入1mL提取液；冰浴超声波破碎细菌或细胞(功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min)；12000rpm，常温离心10min，取上清置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/真菌数量(10⁴个):提取液体积(mL)为500~1000:1的比例提取。

- (3) 液体样品：澄清液体样本可直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2. 上机检测：

- (1) 紫外分光光度计预热30min，调节波长到340nm，蒸馏水调零。
- (2) 所有试剂解冻至室温(25℃)。
- (3) 在1mL石英比色皿(光径1cm)中依次加入：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	30	
蒸馏水		30
试剂一	40	40
试剂二	20	20
试剂三	620	620
混匀, 室温 (25°C) 下, 反应10min后于340nm处读取A1		
试剂四	10	10
混匀, 室温(25°C)下, 反应20min于340nm处读取各管的A2值(若A值继续减少, 需延长反应时间, 直至2分钟内的吸光值保持不变), $\Delta A = (A1 - A2)$ 测定 $-(A1 - A2)$ 空白。		

【注】1. 检测是否反应完全, 在反应20min后要读值的时候, 可改用时间扫描:3min, 间隔1min, 依此判读反应是否完全。然后再读取各测定管的A2值。

2. 若A1值超过1.5, 可以减少试剂一的量(如20μL), 则试剂三相应增加; 或减少样本量(如20μL), 则试剂三相应增加; 则改变后的V1需代入公司重新计算。

3. 若ΔA的差值较小, 可增加样本量(如50μL), 则试剂三相应减少。则改变后的V1需代入公司重新计算。若ΔA差值大于0.4, 需将样本稀释, 稀释倍数D需代入计算公式计算。

结果计算:

1. 按组织质量计算:

$$\text{柠檬酸含量(mg/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times Mr \div (W \times V1 \div V) = 0.732 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞数量计算:

$$\text{柠檬酸含量(mg/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times Mr \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V) = 0.732 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

3. 按液体样品的体积计算:

$$\text{柠檬酸含量(mg/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times Mr \div V1 = 1.23 \times \Delta A$$

ϵ ---NADH的摩尔吸光系数为 $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d---光径距离, 1cm; V---提取液体积, 1mL; V1---样本体积, 30μL=0.03mL; V2---反应总体积, 720μL= $7.2 \times 10^{-4} \text{ L}$; Mr---柠檬酸分子量, 192.1; W---样本质量, g; 最低检测线---5mg/L。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com