

柠檬酸(CA)含量试剂盒(酶法)（微板法）

产品货号：BA2729

产品规格：48样/96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	48样	96样	保存温度	备注
提取液	液体60mL×1瓶	液体120mL×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0.3mL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12.5mL×1瓶	液体25mL×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：

酶标仪、96孔板、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) 酶标仪预热30min，调节波长到340nm。
- (2) 所有试剂解冻至室温(25℃)。
- (3) 在96孔板中依次加入：



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	10	
蒸馏水		10
试剂一	10	10
试剂二	10	10
试剂三	165	165
混匀，室温（25℃）下，反应10min后于340nm处读取A1。		
试剂四	5	5
混匀，室温(25℃)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6μL)，则试剂三相应增加；或减少样本量(如5μL)，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20μL)，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：

- 按组织质量计算：

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

- 按细胞数量计算：

$$\text{柠檬酸含量(mg/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times Mr \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V) = 1.23 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

- 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，0.5cm；V---提取液体积，1mL；V1---样本体积，10μL=0.01mL；V2---反应总体积，200μL= $2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ；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