



柠檬酸(CA)含量试剂盒(酶法)

紫外分光光度法

货号: R45027-24S/48S

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, 也是三羧酸循环第一步反应的产物。

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。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	R45027-24S	保存要求	备注
提取液	液体30mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂mg×2支	-20℃保存	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	-20℃保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加0.55mL蒸馏水溶解备用
试剂三	20mL液体×1瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂mg×1支	-20℃保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加0.28mL蒸馏水溶解备用

试剂名称	R45027-48S	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂mg×4支	-20℃保存	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	-20℃保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加1.1mL蒸馏水溶解备用



试剂三	50mL液体×1瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂mg×1支	-20℃保存	临用前甩几下或离心，使粉剂落入底部，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、可调式移液枪、研钵和蒸馏水。

柠檬酸含量测定:

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(10^4 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340 nm，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:



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℃)下, 反应10min后于340nm处读取A1。		
试剂四	10	10
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。		

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, 30 μL = 0.03mL;

V2--- 反应总体积, 720 μL = $7.2 \times 10^{-4} \text{ L}$;

Mr--- 柠檬酸分子量, 192.1;



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

W--- 样本质量, g;

最低检测线---5mg/L。



源叶