

Citric Acid Content Assay Kit

柠檬酸（CA）含量测定试剂盒说明书（磺基水杨酸法）

货号：BN72397 | 方法：微板法 | 规格：96 样

一、产品简介：

柠檬酸广泛用于食品、医药与工业中。同时柠檬酸(CA)也是三羧酸循环第一步反应的产物，参与呼吸代谢等生理代谢活动。

铁(III)-磺基水杨酸生成紫红色络合物，柠檬酸可使该络合物颜色褪至橙红。于 470nm 波长下，其吸光度的减小与柠檬酸含量在一定条件下呈正比，从而可求得样品中柠檬酸含量

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	4℃保存	临用前每支甩几下或离心使试剂落入底部，再分别加 1mL 蒸馏水溶解备用，现配现用。
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 5mL 蒸馏水溶解备用。
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、低温离心机、可调式移液枪、研钵、冰和蒸馏水。

四、柠檬酸（CA）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、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

【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）；12000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌或细胞数量（10⁴ 个）：提取液体积（mL）为 1000~5000：1 的比例进行提取

③ 液体样本：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 30 min，调节波长到 470 nm。

② 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
试剂一	10	10

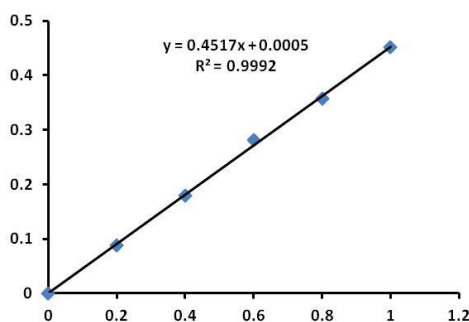
试剂二	40	40
提取液	40	40
样本	10	
蒸馏水	100	110
混匀，室温（25℃）条件下孵育 20min，于 470nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.4517x + 0.0005$ ；x 是标准品浓度（mg/mL），y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按组织质量计算：

$$\begin{aligned} \text{柠檬酸含量(mg/g 鲜重)} &= [(\Delta A - 0.0005) \div 0.4517 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 2.2 \times (\Delta A - 0.0005) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{柠檬酸含量(mg/10}^4 \text{ cell)} &= [(\Delta A - 0.0005) \div 0.4517 \times V1] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.0044 \times (\Delta A - 0.0005) \times D \end{aligned}$$

4、按液体体积计算：

$$\text{柠檬酸含量(mg/mL)} = [(\Delta A - 0.0005) \div 0.4517 \times V1] \div V1 \times D = 2.2 \times (\Delta A - 0.0005) \times D$$

V---加入提取液体积，1 mL；

W---样本质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

V1---加入样本体积，0.01mL；

500---细胞或细菌总数；500 万；