

柠檬酸（CA）含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1233

产品规格：100管/96样

产品说明：

CA是生物体内常见的有机酸，是重要的食品风味物质。此外，CA是三羧酸循环第一步反应的产物。酸性条件下，柠檬酸还原 Cr^{6+} 生成 Cr^{3+} ，在545nm处有特征吸收峰；通过测定545nm吸光值的增加，即可计算出样本中柠檬酸含量。

产品组成：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|------------|------|
| 试剂一 | 液体60mL×2瓶 | 4℃ |
| 试剂二 | 液体20mL×1瓶 | 4℃ |
| 试剂三 | 液体0.2mL×1支 | -20℃ |
| 试剂四 | 粉剂×1瓶 | 常温 |
| 试剂五 | 液体2mL×1支 | 4℃ |
| 标准品 | 液体1mL×1支 | 4℃ |

溶液的配制：

1. 试剂四：临用前配制，加入2mL试剂一，充分溶解。
2. 标准品：1 mmol/L柠檬酸标准液，临用前用蒸馏水稀释成250 $\mu\text{mol/L}$ 柠檬酸标准液。

技术指标：

最低检出限：52.09 $\mu\text{mol/L}$

线性范围：62.5-6000 $\mu\text{mol/L}$

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

低温离心机、水浴锅、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 液体样本中柠檬酸提取：取0.1mL液体加试剂一0.9mL，充分混匀，11000g/min 4℃离心10min，取上清液，待测。
2. 组织中柠檬酸提取：称约0.1g组织，加入1mL试剂一，冰上充分研磨，11000g/min 4℃离心10min，取上清液，待测。
3. 线粒体中柠檬酸提取：称约0.1g组织，加入1mL试剂一，冰上充分研磨，600g/min，4℃离心5min；取上清至另一EP管中，11000g/min，4℃离心10min，弃上清（此上清液可用于细胞质CA含量测定）；向沉淀中加试



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

剂二200 μ L，以及试剂三2 μ L，充分悬浮溶解，11000g/min，4 $^{\circ}$ C离心10min，取上清液，待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长到545nm，蒸馏水调零。
2. 试剂一置于30 $^{\circ}$ C水浴中预热30min以上。
3. 操作表：（按下表在1.5mLEP管/96孔板管中加入相应试剂）：

| 试剂名称 (μ L) | 空白管 | 测定管 | 标准管 |
|--|-----|-----|-----|
| 蒸馏水 | 20 | | |
| 上清液 | | 20 | |
| 标准品 | | | 20 |
| 试剂一 | | 140 | |
| 试剂四 | | 20 | |
| 试剂五 | | 20 | |
| 充分混匀后室温静置30min，于545nm测定吸光度，记为A空白管、A测定管、A标准管。 | | | |

三、柠檬酸含量计算

1. 按液体样本的体积计算

$$\text{柠檬酸含量 (mmol/L)} = [\text{C标准液} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times \text{F}$$

$$= 2.5 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})$$

C标准液：标准品的浓度，250 μ mol/L=0.25mmol/L；F：样本稀释倍数，（0.1mL样本+0.9mL试剂一） \div 0.1mL样本=10。

2. 按组织质量计算

$$\text{柠檬酸含量 (\mu mol/g 质量)} = [\text{C标准液} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times \text{V总} \div \text{W}$$

$$= 0.25 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{W}$$

C标准液：标准品的浓度，250 μ mol/L；V总：上清液总体积，1.0mL=0.001L；W：样本质量，g。

3. 按线粒体蛋白浓度计算

$$\text{柠檬酸含量 (\mu mol/mg prot)} = [\text{C标准液} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times \text{V样} \div (\text{Cpr} \times \text{V样})$$

$$= 0.25 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{Cpr}$$

C标准液：标准品的浓度，250 μ mol/L=0.25 μ mol/mL；V样：加入的样本体积，20 μ L=0.02mL；Cpr：上清液蛋白浓度，mg/mL。

注意事项：

1. 样本处理等过程均需要在冰上进行。
2. 试剂五为易致癌物质，实验过程中，需佩戴手套，避免试剂五溅到皮肤上。
3. 柠檬酸提取液不能用于蛋白含量测定，如需测定蛋白含量，需另取组织进行测定。
4. 若反应30min后有明显的黑色小颗粒，属于正常现象，需将样本稀释后再测。
5. 如果样本吸光值大于0.7，建议将样本用试剂一稀释后进行测定。



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