

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: G0864F | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 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 60mL×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 1.5mL 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 10mL 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:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、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 (10^4 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 可见分光光度计预热 30 min, 调节波长到 470 nm, 蒸馏水调零。

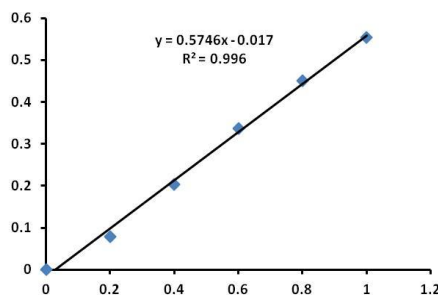
② 在 1mL 玻璃比色皿中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
试剂一	40	40
试剂二	160	160
提取液	160	160
样本	40	
蒸馏水	400	440
混匀, 室温 (25°C) 条件下孵育 20min, 于 470nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 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: $y = 0.5746x - 0.017$; 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:

$$\begin{aligned} \text{柠檬酸含量 (mg/g 鲜重)} &= [(\Delta A + 0.017) \div 0.5746 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 1.74 \times (\Delta A + 0.017) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算:

$$\begin{aligned} \text{柠檬酸含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} &= [(\Delta A + 0.017) \div 0.5746 \times V1] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.0035 \times (\Delta A + 0.017) \times D \end{aligned}$$

4、按液体体积计算:

$$\text{柠檬酸含量 (mg/mL)} = [(\Delta A + 0.017) \div 0.5746 \times V1] \div V1 \times D = 1.74 \times (\Delta A + 0.017) \times D$$

V---加入提取液体积, 1 mL;

V1---加入样本体积, 0.04mL;

W---样本质量, g;

500---细胞或细菌总数; 500 万;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。