



柠檬酸 (CA) 含量检测试剂盒
Citric Acid (CA) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



柠檬酸 (CA) 含量检测试剂盒

Citric Acid (CA) Content Assay Kit

一、产品描述

柠檬酸 (CA) 作为三羧酸循环第一步反应产物可参与光合作用、呼吸作用以及氨基酸、芳香物质、酯类和酚类物质的合成过程，其含量对于分析代谢过程具有重要意义，柠檬酸及其盐独特的分子结构使其具有各种优良的性质，可作为风味剂、稳定剂、抗氧化剂、抗凝血剂、缓蚀剂等，在食品加工、化妆品、畜牧业和医药领域具有广泛应用。

柠檬酸能够在酸性条件下将 Cr^{6+} 还原为 Cr^{3+} ，并生成柠檬酸铬螯合物，产物在 545 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测柠檬酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 12 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 120 μL ×1 支	-20°C避光保存	-
试剂四	粉剂×1 支	RT 避光保存	使用前加入 8 mL 试剂一充分溶解 (配制后 4°C可保存一周)
试剂五	液体 8 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 柠檬酸标准液
标准稀释液的制备： 将 10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 柠檬酸标准液使用蒸馏水稀释至 4.0、3.0、2.0、1.0、0.5、0.25 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$)	10	10	10	2.0	1.0	0.5
标准液体积 (μL)	200	150	100	200	200	200
蒸馏水体积 (μL)	300	350	400	200	200	200
稀释后浓度 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$)	4.0	3.0	2.0	1.0	0.5	0.25

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 柠檬酸的提取（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①液体样本：吸取 0.1 mL 液体样本加入 0.9 mL 试剂一充分混匀，4°C 11000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②组织样本：按照组织质量 (g)：试剂一体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 11000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③线粒体中柠檬酸的提取：按照组织质量 (g)：试剂一体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 600 g 离心 5 min；取上清至新的离心管中，4°C 11000 g 离心 10 min，弃上清（此上清液可用于细胞质 CA 含量测定）；向沉淀中加入 200 μ L 试剂二和 2 μ L 试剂三，充分悬浮溶解，4°C 11000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

④细菌、真菌中柠檬酸的提取：离心收集细菌或细胞到离心管内，按照细菌或细胞数量 (10^4 个)：试剂一体积 (mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 11000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

2. 测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 545 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一 30°C 预热 30 min 以上。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
待测样本	100	-	-
标准稀释液	-	100	-
蒸馏水	-	-	100
试剂一	700	700	700
试剂四	100	100	100
试剂五	100	100	100
充分混匀，室温显色 30 min			

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 545 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 空白， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 4.0、3.0、2.0、1.0、0.5、0.25 μ mol/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x (μ mol/mL)。

3.柠檬酸（CA）含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{柠檬酸含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W} = \frac{x}{W}$$

②按液体样本体积计算

$$\text{柠檬酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{液}}} = 10 \times x$$

③按线粒体蛋白含量计算

$$\text{柠檬酸含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

④按细菌或细胞数量计算

$$\text{柠檬酸含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释： V 样总：待测样本总体积，1 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

- ①待测样本需置于冰上放置，且柠檬酸提取过程需在冰上进行；
- ②若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量重新提取后再进行测定，计算时相应修改；
- ③试剂五为易致癌物质，实验过程中需佩戴手套并做好防护，避免皮肤接触；
- ④柠檬酸提取液不能用于蛋白含量测定，如需测定蛋白含量，应另取组织进行测定；
- ⑤若显色 30 min 后出现明显黑色颗粒，属于正常现象，需将待测样本适当稀释后重新进行测定；
- ⑥为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

