

柠檬酸(CA)含量试剂盒(酶法) (微板法)

产品货号: BA2729

产品规格: 48样/96样

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,也是三酸循环第步反应的产物。

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。

测试盒组成和配制:

试剂名称	48样	96样	保存温度	备注
提取液	液体60mL×1瓶	液体120mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×2支	粉剂mg×4支	-20℃	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部,每支再加0.3mL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	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下或离心,使试剂落入底部,再加1.1mL蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体12.5mL×1瓶	液体25mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	粉剂mg×1支	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下或离心,使试剂落入底部,再加0.55mL蒸馏水溶解备用。

所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、低温离心机、可调式移液器、研钵和蒸馏水。

柠檬酸含量检测:

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(10⁴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) 酶标仪预热30min,调节波长到340nm。
(2) 所有试剂解冻至室温(25℃)。
(3) 在96孔板中依次加入:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
蒸馏水		10
试剂一	10	10
试剂二	10	10
试剂三	165	165
混匀, 室温 (25℃) 下, 反应10min后于340nm处读取A1。		
试剂四	5	5
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。		

【注】1. 检测是否反应完全, 在反应20min后要读值的时候, 可改用时间扫描:3min, 间隔1min, 依此判读反应是否完全。然后再读取各测定管的A2值。

2. 若A1值超过1.5, 可以减少试剂一的量(如6μL), 则试剂三相应增加; 或减少样本量(如5μL), 则试剂三相应增加; 则改变后的V1需代入公司重新计算。

3. 若ΔA的差值较小, 可增加样本量(如20μL), 则试剂三相应减少。则改变后的V1需代入公司重新计算。若ΔA差值大于0.4, 需将样本稀释, 稀释倍数D需代入计算公式计算。

结果计算:

1. 按组织质量计算:

$$\text{柠檬酸含量(mg/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times Mr \div (W \times V1 \div V) = 1.23 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞数量计算:

$$\text{柠檬酸含量(mg/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times Mr \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V) = 1.23 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

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, 0.5cm; V---提取液体积, 1mL; V1---样本体积, 10μL=0.01mL; V2---反应总体积, 200μL= $2 \times 10^{-4} \text{ L}$; Mr---柠檬酸分子量, 192.1; W---样本质量, g; 最低检测线---5mg/L。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com