

## 柠檬酸含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHD4-M48	柠檬酸含量检测试剂盒	48T	微量法
AYHD4-M96		96T	

### 一、测定意义：

柠檬酸是一种重要的有机酸，广泛存在于自然界（如柑橘类水果）中，同时也是食品、医药、化工等领域的重要原料。柠檬酸含量测定在食品、医药、化工、环境监测和科学研究等领域具有重要意义。通过测定柠檬酸含量，可以确保产品质量、优化生产工艺、保障食品安全，并为科学研究提供重要数据支持。

### 二、测定原理：

在酸性条件下，重铬酸钾（KCrO<sub>7</sub>）与柠檬酸发生氧化还原反应，重铬酸钾被还原为三价铬（Cr<sup>3+</sup>），溶液颜色由橙黄色变为绿色。通过测定反应前后溶液在 545nm 的波长下的吸光度变化，可以间接计算出柠檬酸的含量。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 9mL×1 瓶	液体 18mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	2~8℃保存
<b>试剂二的配制：</b> 用时每瓶粉剂加入 2mL 蒸馏水，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂三	液体 1.5mL×1 支	液体 1.5mL×2 支	2~8℃保存
标准品 (10mg/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2~8℃保存

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

1、组织：按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL) 为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm,

4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10<sup>4</sup> 个：提取液体积 (mL) 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm, 4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、液体样本：（如血清）直接测定。

#### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 545nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至室温；
- 3、将 10mg/mL 标准品用提取液依次稀释至 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1mg/mL，备用；

#### 4、操作表（在 96 孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	标准管	空白管
样品 (μL)	20	-	-
双蒸水 (μL)	-	-	20
不同浓度标准品 (μL)	-	20	-
试剂一 (μL)	140	140	140
试剂二 (μL)	20	20	20
试剂三 (μL)	20	20	20

静置 30min，显色稳定后于 545nm 读数。测定 545nm 处吸光值，别记为 A<sub>空白</sub>、A<sub>测定</sub>、A<sub>标准</sub>。ΔA<sub>标准</sub> = A<sub>标准</sub> - A<sub>空白</sub>，ΔA<sub>测定</sub> = A<sub>测定</sub> - A<sub>空白</sub>。（空白管只做 1-2 管）

### 五、柠檬酸含量测定：

- 1、标准曲线绘制：以ΔA<sub>标准</sub> 为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线。根据标准曲线，将ΔA<sub>测定</sub> 带入公式计算出样本浓度(y, mg/mL)；
- 2、按液体样本体积计算

**计算公式：** 柠檬酸 (mg/mL) = y

- 3、按样本蛋白浓度计算

**计算公式：**柠檬酸 (mg/mg prot) =  $y \div (V_{\text{样总}} \div C_{\text{pr}}) = y \times C_{\text{pr}}$

#### 4、按样本鲜重计算

**计算公式：**柠檬酸 (mg/g) =  $y \div (V_{\text{样总}} \div W) = y \times W$

#### 5、按照细菌或细胞数量计算

**计算公式：**柠檬酸 (mg / $10^4$  cell) =  $y \div (V_{\text{样总}} \div N) = y \times N$

$V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ :

样本质量, g;  $N$ : 细菌或细胞总数, 以万计。

### 六、注意事项:

1、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；

2、反应 30min 后有明显的黑色小颗粒, 建议将样本稀释后再测。

### 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

### 【售后微信】



### 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日