

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_7 ）与柠檬酸发生氧化还原反应，重铬酸钾被还原为三价铬（ Cr^{3+} ），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
试剂二的配制：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 10^4 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

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 545nm，蒸馏水调零；
- 测定前将试剂恢复至室温；
- 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；
- 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 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 。 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）			

五、柠檬酸含量测定：

- 标准曲线绘制：以 $\Delta A_{\text{标准}}$ 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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度（y, mg/mL）；
- 按液体样本体积计算

计算公式：柠檬酸（mg/mL）= y

- 按样本蛋白浓度计算

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

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；Cpr：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