

土壤丙酮酸 (S-PA) 含量检测试剂盒 (酶法) (微量法)

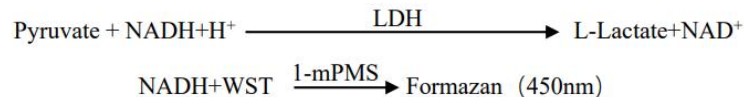
产品货号: BA2206

产品规格: 100T/48S

产品简介:

丙酮酸通过乙酰CoA连接葡萄糖、脂肪酸和氨基酸三大代谢,起着重要的枢纽作用。

在pH=7.5时,丙酮酸在LDH的催化作用下与NADH反应,生成NAD⁺和乳酸。在1-mPMS作用下,WST-1可与NADH反应,产生水溶性Formazan。通过检测450nm条件下吸光值,可以计算出丙酮酸含量。



注意: 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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体25mL×1瓶	2-8°C
试剂二	粉剂×1支	-20°C
试剂三	液体13μL×1支	2-8°C
试剂四	液体4mL×1瓶	2-8°C
标准品	液体1mL×1支	2-8°C

溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前加入3.6mL蒸馏水充分溶解,分装保存,-20°C可以保存4周,避免反复冻融。
2. 试剂三: 临用前按试剂三: 蒸馏水=1μL: 100μL (共101μL,约6T)的比例进行稀释,现用现配。
3. 标准品: 20μmol/mL丙酮酸钠标准液。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、超声清洗仪、30-50目筛和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

1. 新鲜土样自然风干或37°C烘箱风干,过30~50目筛。
2. 称取风干混匀土样约0.1g,加入1mL蒸馏水混匀;然后置于超声清洗仪常温超声30min。然后12000g,常温离心10min,取上清液待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上,调节波长至450nm。分光光度计用蒸馏水调零。
2. 试剂一37°C至少预热20min。
3. 标准溶液的稀释: 将20μmol/mL丙酮酸钠标准液用蒸馏水稀释得到0.625、0.5、0.3125、0.25、0.15625、0.125μmol/mL标准溶液备用。
4. 标准品稀释表:



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

序号	稀释前浓度 (μmol/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (μmol/mL)
1	20	50	950	1
2	1	625	375	0.625
3	0.625	800	200	0.5
4	0.5	625	375	0.3125
5	0.3125	800	200	0.25
6	0.25	625	375	0.15625
7	0.15625	800	200	0.125

实验中每个标准管需 20μL 标准溶液。

5. 操作表:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
上清液	20	20	-	-
标准品			20	
蒸馏水				20
试剂一	155	180	155	155
试剂二	10	-	10	10
试剂三	15	-	15	15
混匀后 37°C 反应 30min				
试剂四	20	20	20	20
混匀后 37°C 避光反应 30min。吸取 200 μL 于微量玻璃比色皿或者 96 孔板中，测定 450nm 下的吸光度，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = (A_{\text{空白1}} - A_{\text{空白2}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{空白1}} - A_{\text{标准}}$ 。（标准曲线、空白管 1、空白管 2 只需测 1-2 次即可）。				

三、土壤丙酮酸含量计算

1. 标准曲线绘制:

根据标准管的浓度 (x, μmol/mL) 和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y, $\Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 x (μmol/mL)。

2. 土壤丙酮酸含量计算:

$$\text{土壤丙酮酸含量} (\mu\text{mol/g 质量}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{提}} \times W) = x \div W$$

V 样: 加入的样本体积, 0.02mL; V 提: 前处理中加入蒸馏水的体积, 1mL; W: 样本质量, g。

注意事项:

- 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者用蒸馏水稀释样本后再进行测定。



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