

土壤丙酮酸 (S-PA) 含量检测试剂盒 (酶法)

(可见分光光度法)

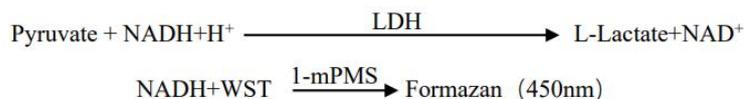
产品货号: BA2205

产品规格: 50T/24S

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60mL×1瓶	2-8°C
试剂二	粉剂×1瓶	-20°C
试剂三	液体40μL×1支	2-8°C
试剂四	液体8mL×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=10μL: 1mL (共1.01mL,约13T)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、离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、1mL玻璃比色皿、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. 可见分光光度计预热30min以上,调节波长至450nm。蒸馏水调零。
2. 试剂一37°C至少预热20min以上。
3. 标准品的制备: 将20μmol/mL丙酮酸钠标准液用蒸馏水稀释得到0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125μmol/mL标准溶液备用。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

4. 标准品稀释表:

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	500	500	0.5
3	0.5	500	500	0.25
4	0.25	500	500	0.125
5	0.125	500	500	0.0625
6	0.0625	500	500	0.03125

实验中每个标准管需 100μL 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	100	100	-	-
标准品			100	
蒸馏水				100
试剂一	775	900	775	775
试剂二	50	-	50	50
试剂三	75	-	75	75
混匀后 37°C 反应 30min				
试剂四	100	100	100	100
混匀后 37°C 避光反应 30min。于 1mL 玻璃比色皿, 测定 450nm 下的吸光度, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{标准}}$ 。(标准曲线和空白管只需测 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:

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

$V_{\text{样}}$: 加入的样本体积, 0.1mL; $V_{\text{提}}$: 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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com