

乙酸 (acetic acid) 含量测定试剂盒 (微板法)

产品货号: BA2872

产品规格: 48样

产品简介:

乙酸(Acetic acid)在食品、饮料和其他材料中的普遍存在, 是重要的检测指标之一。

乙酸(Acetic acid)在乙酸激酶和磷酸转乙酰酶的相继作用下, 使乙酸和ATP转变成乙酰辅酶A和ADP, 继而在丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶依次催化NADH氧化生成NAD⁺, 通过检测340nm下NADH的下降量, 进而计算得到乙酸含量的多少。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×1瓶	2-8℃	用前甩几下使试剂落入底部, 再加3mL的蒸馏水溶解备用。
试剂二	粉剂mg×2支	-20℃	每支临用前甩几下使试剂落入底部, 再加0.6mL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。
试剂三	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加0.6mL的蒸馏水溶解备用, 可分装冻存, 禁止反复冻融。
试剂四	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加0.6mL的蒸馏水溶解备用, 可分装冻存, 禁止反复冻融。
试剂五	液体μL×1支	-20℃	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加0.6mL的蒸馏水溶解备用, 可分装冻存, 禁止反复冻融。
试剂六	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加0.6mL的蒸馏水溶解备用。
试剂七	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加0.6mL的蒸馏水溶解备用, 可分装冻存, 禁止反复冻融。
标准品	液体mL×1支	2-8℃	仅用来鉴定试剂盒中试剂是否正常(不参与结果计算)。使用方法: 该标准品(乙酸)浓度为24μmol/mL, 用前再用蒸馏水稀释24倍成1μmol/mL备用; 按照加样表中的测定管操作(样本更换成备用浓度的标准品)。

所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、低温台式离心机、恒温培养箱、可调式移液器、研钵、水浴锅、冰。

乙酸含量测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1. 样本制备:

(1) 生物组织样本: 称取约 0.1g 组织(水分充足的果实样本取约 0.5g 组织或更多), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。可于 80℃ 条件下孵育 20min(可使组织样本中干扰测定的酶蛋白变性失活)。取出冷却至室温后, 再于 12000rpm, 室温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若是非生物组织样本如食品等, 可冰浴匀浆后, 直接于12000rpm, 室温离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【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的比例进行提取。



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

(2) 液体样品:

- a. 近似中性的液体可直接取 1mL 至 EP 管中: 12000rpm, 离心 10min, 上清液待测。
- b. 酸性液体(PH<5)样本, 则需先用 KOH(2M)调溶液的 PH 值至约 7.5, 并在室温下孵育 30 分钟。取 1mL 转移到 EP 管中: 12000rpm, 离心 10min, 上清液待测。
- c. 若蛋白浓度比较高的样本如牛乳等, 可直接取 1mL 牛乳液体样本至 EP 管中, 于 80°C 条件下孵育 20min(可使部分蛋白变形沉淀析出)。取出冷却至室温后, 再于 12000rpm, 室温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

(3) 细胞/细菌样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清; 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(冰浴, 功率20%或200W, 超声3S, 间隔10S, 重复30次); 12000rpm, 4°C离心10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 也可按照细菌或细胞数量(10^4 个): 提取液体积(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

2. 上机检测:

- (1) 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm。
- (2) 试剂解冻至室温(25°C), 或可放在 25°C 条件下水浴 5-15min。
- (3) 依次在 96 孔板中加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20
提取液	70
试剂一	40
试剂二	20
试剂三	10
试剂四	10
试剂五	10
试剂六	10
混匀, 于室温(25°C)下孵育5min后于340nm处读取A1值。	
试剂七	10
混匀, 于室温(25°C)下孵育10min后于340nm处读取A2(直到2min内A2值变化小于0.02), $\Delta A = A1 - A2$ 。	

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

结果计算:

1. 按样本重量计算:

$$\text{乙酸含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr] \div (W \times V1 \div V) \times D = 193.1 \times \Delta A \div W \times D$$

$$\text{乙酸含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) \times D = 3.22 \times \Delta A \div W \times D$$

2. 按照液体体积计算:

$$\text{乙酸含量}(\mu\text{g/mL}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr] \div V1 \times D = 193.1 \times \Delta A \times D$$

3. 按细菌/细胞密度计算:

$$\text{乙酸含量}(\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 112.6 \times \Delta A \div 500 \times D$$

ε ---NADH摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$; d ---96孔板光径, 0.5cm;

V ---加入提取液体积, 1mL;

$V1$ ---加入样本体积, 0.02mL;

$V2$ ---反应总体积, 0.2mL= $2 \times 10^{-4} \text{L}$;

Mr ---乙酸分子量: 60.05;

500---细胞数量, 万;

W ---样本质量, g。



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