

丙酮酸测试盒

(货号: BC052 分光光度法 50 管/48 样)

一、测定原理:

丙酮酸与显色剂反应, 反应产物在碱性溶液中显红棕色, 颜色深浅与丙酮酸含量成正比, 通过比色可以测定出丙酮酸的含量。

二、试剂组成与配制: (试剂盒有效期 6 个月)

试剂一: 澄清剂 10mL×1 瓶; 室温保存;

试剂二: 显色剂 50mL×1 瓶; 室温避光保存;

试剂三: 碱溶液 70mL×2 瓶; 室温保存;

2 μ mol/mL 丙酮酸钠标准液 1mL×1 支; 4 $^{\circ}$ C 保存; 临用前用蒸馏水按 1:9 比例稀释成 0.2 μ mol/mL 丙酮酸钠标准液。

三、所需仪器及试剂:

可见光分光光度计及 1cm 光径比色皿 (或酶标仪 (505nm) 及 96 孔板), 涡旋混匀器, 37 $^{\circ}$ C 水浴锅 (或恒温箱), 蒸馏水。

四、液体样本中丙酮酸含量测定操作过程:

1、样本前处理:直接取样测定

2、操作表:

试剂 (mL)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.1		
0.2 μ mol/mL 丙酮酸标准		0.1	
血清 (浆)			0.1
试剂二	0.5	0.5	0.5
混匀后, 37 $^{\circ}$ C 水浴准确反应 10 分钟			
试剂三	2.5	2.5	2.5
室温放置 5 分钟, 于 505nm 处, 1cm 光径, 蒸馏水调零, 测各管吸光度值 A (或每管吸取 200 μ L 反应液加到 96 孔板中, 酶标仪 505nm 处读数)			

3、计算公式和举例:

①、计算公式:

$$\text{液体样本丙酮酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}}$$

$C_{\text{标准}}$: 标准液浓度, 0.2 μ mol/mL。

②、计算举例:

取大鼠血清, 按照操作表进行操作, 测得空白 OD 值为 0.008, 标准值 OD 值为 0.096, 测定 OD 值为 0.068, 按照公式进行计算得:

$$\begin{aligned} \text{大鼠血清丙酮酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) &= \frac{0.068 - 0.008}{0.096 - 0.008} \times 0.2 \\ &= 0.143 \mu\text{mol/mL} \end{aligned}$$

五、组织中丙酮酸含量测定操作过程:

1、样本前处理:

准确称取组织重量，按重量 (g) :体积 (mL) =1:9 的比例，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水浴条件下机械匀浆，2500 转/分，离心 10 分钟，取上清液测定。(取部分上清液测蛋白浓度，蛋白定量试剂盒本所有售)

2、操作表：

试剂 (mL)	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	0.1		
0.2μmol/mL 丙酮酸标准液		0.1	
10%组织匀浆上清			0.1
试剂一	0.1	0.1	0.1
试剂二	0.5	0.5	0.5
混匀后，37°C水浴准确反应 10 分钟			
试剂三	2.5	2.5	2.5
室温放置 5 分钟，于 505nm 处，1cm 光径，蒸馏水调零，测各管吸光度值 A (或每管吸取 200μL 反应液加到 96 孔板中，酶标仪 505nm 处读数)			

3、计算公式和举例：

①、计算公式：

$$\text{组织中丙酮酸含量} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{mgprot}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

或

$$\text{组织中丙酮酸含量} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{g组织}} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{W}{V_{\text{样总}}}$$

$C_{\text{标准}}$ ：标准液浓度，0.2μmol/mL。

C_{pr} ：组织匀浆蛋白浓度，mgprot/mL (prot 指蛋白)。

W ：组织样本重量，g。

$V_{\text{样总}}$ ：样本匀浆时所加的匀浆介质的总体积，mL。

②、计算举例：

例 1: 取大鼠肝组织制备成 10% 的匀浆，按照操作表进行操作，测得空白 OD 值为 0.033，标准 OD 值为 0.093，测定 OD 值为 0.170，10% 大鼠肝组织蛋白含量是 19.993mg/mL，按照公式进行计算得：

$$\begin{aligned} \text{大鼠肝丙酮酸含量} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{mgprot}} \right) &= \frac{0.170 - 0.033}{0.093 - 0.033} \times 0.2 \div 19.993 \\ &= 0.023 \mu\text{mol}/\text{mgprot} \end{aligned}$$

例 2: 取大鼠心组织制备成 10% 的匀浆，按照操作表进行操作，测得空白 OD 值为 0.033，标准 OD 值为 0.093，测定 OD 值为 0.092，10% 大鼠心组织蛋白浓度是 10.201mg/mL，按照公式进行计算得：

$$\begin{aligned} \text{大鼠心脏丙酮酸含量} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{mgprot}} \right) &= \frac{0.092 - 0.033}{0.093 - 0.033} \times 0.2 \div 10.201 \\ &= 0.019 \mu\text{mol}/\text{mgprot} \end{aligned}$$

例 3: 取大鼠脑组织制备成 10% 的匀浆，按照操作表进行操作，测得空白 OD 值为 0.037，标准 OD 为 0.099，测定 OD 为 0.079，10% 大鼠脑组织蛋白含量是 7.199mg/mL，按照公式进行计算得：

$$\begin{aligned} \text{大鼠脑丙酮酸含量} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{mgprot}} \right) &= \frac{0.079 - 0.037}{0.099 - 0.037} \times 0.2 \div 7.199 \\ &= 0.019 \mu\text{mol}/\text{mgprot} \end{aligned}$$