

CheKine™ 土壤丙酮酸 (S-PA) 含量检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB4061

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	土壤丙酮酸 (S-PA) 含量检测试剂盒 (微量法)		
REF	货号: KTB4061	LOT	批号: 见产品标签
	检测范围: 1.094-70 µg/mL		灵敏度: 0.5 µg/mL
	适用样本: 土壤		
	保质期: 4°C, 避光保存 6 个月		

原理

丙酮酸 (PA) 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。CheKine™ 土壤丙酮酸 (S-PA) 含量检测试剂盒 (微量法) 可检测土壤样品中的丙酮酸含量, 其原理是样品中丙酮酸与 2,4-二硝基苯肼反应, 生成丙酮酸-2,4-二硝基苯腙, 在碱性溶液中呈红色, 该红色化合物在 520 nm 处有最大吸收峰。在一定的浓度范围内, 丙酮酸含量与 520 nm 吸光度成线性关系, 根据标准曲线, 即可计算出样品中丙酮酸含量。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	70 mL	70 mL×2	4°C, 避光保存
Reagent I	1.8 mL	3.6 mL	4°C, 避光保存
Reagent II	8.8 mL	17.6 mL	4°C
Standard (1 mg/mL)	1 mL	1 mL	4°C

注意: 正式检测前, 建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计 (能检测 520 nm)
- 恒温箱、离心机、超声波清洗仪、30-50 目筛
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 去离子水

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 避光保存。

Reagent I：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

注意：**Extraction Buffer** 有毒，**Reagent I** 有刺激性气味，建议在通风橱进行实验。

Reagent II：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准品制备：

标准曲线设置：按下表所示用 **Extraction Buffer** 将 1 mg/mL 标准溶液稀释至 70、35、17.5、8.75、4.375、2.188、1.094 µg/mL 的标准液。

序号	标准品体积	Extraction Buffer (µL)	标准品浓度 (µg/mL)
Std.1	35 µL 1 mg/mL	465	70
Std.2	200 µL of Std.1 (70 µg/mL)	200	35
Std.3	200 µL of Std.2 (35 µg/mL)	200	17.5
Std.4	200 µL of Std.3 (17.5 µg/mL)	200	8.75
Std.5	200 µL of Std.4 (8.75 µg/mL)	200	4.375
Std.6	200 µL of Std.5 (4.375 µg/mL)	200	2.188
Std.7	200 µL of Std.6 (2.188 µg/mL)	200	1.094

注意：每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

注意：推荐使用新鲜土壤样本。

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。称取约 0.1 g 风干土样，加入 1 mL **Extraction Buffer** 混匀，置于超声波清洗仪室温超声 30 min，然后 12,000 g，室温离心 10 min，取上清液待测。

实验步骤

- 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 520 nm，可见分光光度计用去离子水调零；
- 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔 (µL)	标准孔 (µL)	测定孔 (µL)
待测样本	0	0	75
不同浓度的 Std.	0	75	0
Extraction Buffer	75	0	0
Reagent I	25	25	25
混匀后，室温静置 2 min			
Reagent II	125	125	125

- 混匀，在 520 nm 波长处测定各孔的吸光值 A。计算相对吸光值 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ 、 $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。（空白孔只需做一管）
- 注意**：空白孔和标准孔只需做 1-2 次。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 $\Delta A_{测定}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测定}$ 大于 70 µg/mL 的 $\Delta A_{标准}$ ，样本可用 **Extraction Buffer** 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

- 标准曲线的绘制



以标准溶液浓度为 x 轴， $\Delta A_{标准}$ 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 $\Delta A_{测定}$ 代入方程得到 x ($\mu\text{g/mL}$)。

2. S-PA 含量计算

$$\text{S-PA } (\mu\text{g/g 土壤}) = (x \times V_{样}) \div (W \times V_{样} \div V_{提取}) = x \div W$$

$V_{样}$: 加入的样本体积, 0.075 mL; $V_{提取}$: 加入 Extraction Buffer 体积, 1 mL; W: 样本质量, g。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

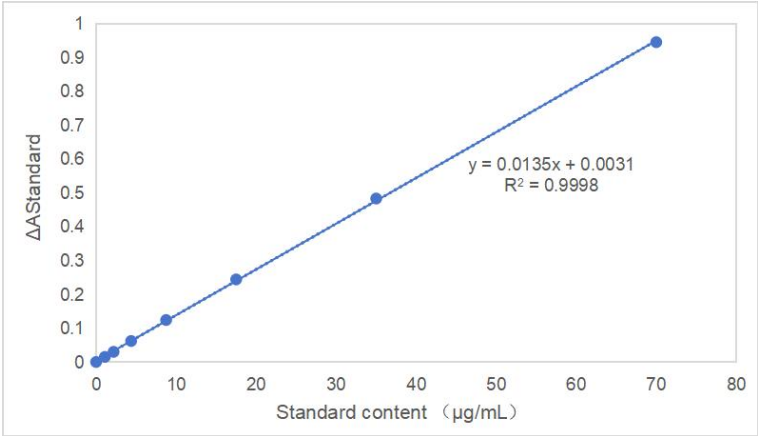


Figure 1. S-PA 含量标准曲线。

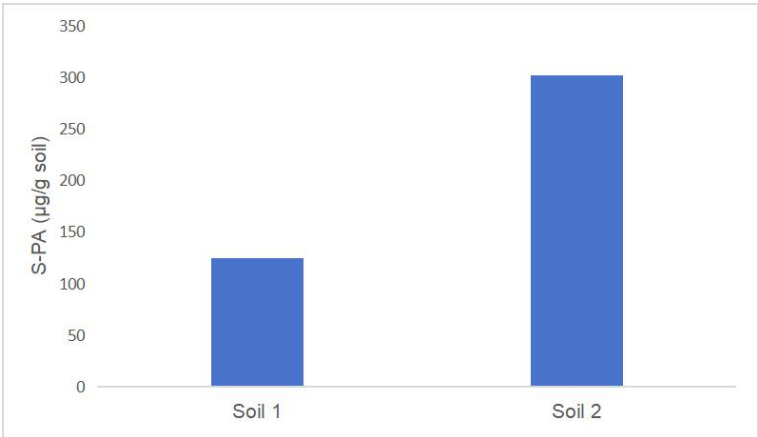


Figure 2. 试剂盒测定土壤样本中 S-PA 含量。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB4012	CheKine™ 土壤硝态氮含量检测试剂盒（微量法）
KTB4014	CheKine™ 土壤速效磷含量检测试剂盒（微量法）
KTB4041	CheKine™ 土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）活性检测试剂盒（微量法）
KTB4050	CheKine™ 土壤过氧化氢酶（S-CAT）活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

