

## 乙酸 (acetic acid) 含量测定试剂盒 (紫外分光光度法)

产品货号: BA2873

产品规格: 24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<sup>+</sup>,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50mL×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:

紫外分光光度计、1mL石英比色皿(光径1cm)、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。

(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。



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: zzybio@126.com

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) 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

(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 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中加入：

| 试剂名称（ $\mu$ L）                                                               | 测定管 |
|------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 样本                                                                           | 60  |
| 提取液                                                                          | 400 |
| 试剂一                                                                          | 100 |
| 试剂二                                                                          | 40  |
| 试剂三                                                                          | 20  |
| 试剂四                                                                          | 20  |
| 试剂五                                                                          | 20  |
| 试剂六                                                                          | 20  |
| 混匀，于室温(25°C)下孵育5min后于340nm处读取A1值。                                            |     |
| 试剂七                                                                          | 20  |
| 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：

$$\text{乙酸含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\xi \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr] \div (W \times V1 \div V) \times D = 112.6 \times \Delta A \div W \times D$$

$$\text{乙酸含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\xi \times d) \times V2 \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) \times D = 1.88 \times \Delta A \div W \times D$$

2. 按照液体体积计算：

$$\text{乙酸含量}(\mu\text{g/mL}) = [\Delta A \div (\xi \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr] \div V1 \times D = 112.6 \times \Delta A \times D$$

3. 按细菌/细胞密度计算：

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

$\xi$ ---NADH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；

d---96孔板光径，1cm；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.06mL；

V2---反应总体积，0.7mL= $7 \times 10^{-4} \text{ L}$ ；

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

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