



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 丙酮酸检测试剂盒(二硝基苯肼比色法)

### 简介:

丙酮酸(Pyruvic acid, PA)又称 2-氧代丙酸, 是参与整个生物体基本代谢的中间产物之一, 可通过乙酰辅酶 A 和三羧酸循环实现体内糖、脂肪和氨基酸间的互相转化, 丙酮酸在三大营养物质的代谢联系中起着重要的枢纽作用, 丙酮酸是糖无氧代谢的产物, 科研工作者常将丙酮酸和乳酸一起研究, 并用二者的比值推算循环衰竭的程度。丙酮酸检测可采用乳酸脱氢酶催化法或二硝基苯肼比色法。

源叶生物丙酮酸检测试剂盒(二硝基苯肼比色法)检测原理是在酸性条件下, 丙酮酸与二硝基苯肼反应, 生成丙酮酸-二硝基苯腙复合物, 后者经氧化呈棕红色, 通过分光光度比色法测定 520nm 处吸光度, 据此通过与标准曲线对比可以计算出 PA 水平, 该试剂盒可用于检测植物、细胞或组织、血清等样品中内源性的丙酮酸含量, 尤其适用植物样品丙酮酸含量的检测。该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

### 组成:

名称 \ 编号	R21659 50T	Storage
剂(A): 丙酮酸标准(6mg/ml)	1ml	4℃ 避光
试剂(B): 组织匀浆液(3×)	2×100ml	RT 避光
试剂(C): 苯肼显色液	30ml	4℃ 避光
试剂(D): PA Assay Buffer (1.5×)	100ml	RT
使用说明书	1 份	

### 自备材料:

- 1、离心管或小试管



2、蒸馏水

3、分光光度计、比色杯

### 操作步骤(仅供参考):

1、配制组织匀浆液(1×): 取 10ml 组织匀浆液(3×)加入 20ml 蒸馏水即成。

2、配制 PA Assay Buffer (1×): 取 10ml PA Assay Buffer (1.5×)加入 5ml 蒸馏水即成。

3、准备样品:

①血清、尿液及其他体液样品: 血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定, 尿液通常也可以直接用于测定, -20℃冻存。

②组织样品: 称取 2g 组织样品置于匀浆器中, 再加入 2ml 组织匀浆液(1×)仔细研磨, 振摇提取, 静置 30min, 取上清液 4000rpm 离心 10min, 取上清液, 用组织匀浆液(1×)定容至 4ml, -20℃冻存, 用于 PA 的检测。

③植物材料: 称取 2g 植物材料置于匀浆器中, 再加入 2ml 组织匀浆液(1×)仔细研磨, 振摇提取, 静置 30min, 取上清液 4000rpm 离心 10min, 取上清液, 用组织匀浆液(1×)定容至 4ml, -20℃冻存, 用于 PA 的检测。

④高浓度样品: 如果样品中含有较高浓度的 PA, 可以使用原有的裂解液或 PBS 等进行稀释, 如鸡血清可稀释 5~10 倍后检测。

4、配制标准品工作液: 如果检测血清、尿液等样品, 按取丙酮酸标准(6mg/ml): 蒸馏水=1: 99 的比例配制, 使浓度达到 60μg/ml; 如果检测组织样品, 按丙酮酸标准(6mg/ml): 组织匀浆液(1×)=1: 99 的比例配制, 使浓度达到 60μg/ml。

a、检测血清、尿液等样品时, 按下表操作:



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6
丙酮酸标准(60 $\mu$ g/ml,蒸馏水配制)	0.03	0.07	0.1	0.2	0.4	0.6
蒸馏水	0.87	0.98	0.9	0.8	0.6	0.4
丙酮酸浓度( $\mu$ g/ml)	2	4	6	12	24	36

b、检测组织样品时, 用 96 孔板按下表操作:

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6
丙酮酸标准(60 $\mu$ g/m,匀浆液配制)	0.03	0.07	0.1	0.2	0.4	0.6
组织匀浆液(1 $\times$ )	0.87	0.98	0.9	0.8	0.6	0.4
丙酮酸浓度( $\mu$ g/ml)	2	4	6	12	24	36

5、PA 加样: 按照下表设置空白管、标准管、测定管, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的 PA 浓度过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置平行管。

a、检测血清、尿液等样品时, 按下表操作:

加入物(ml)	空白管(血清等)	标准管	测定管
蒸馏水	0.9	—	—
蒸馏水稀释后的各丙酮酸标准	—	0.9	—
待测样品	—	—	0.9
苯肼显色液	0.3	0.3	0.3
充分混匀			
PA Assay Buffer	1.5	1.5	1.5

b、检测组织样品时, 按下表操作:

加入物(ml)	空白管(组织等)	标准管	测定管
组织匀浆液(1 $\times$ )	0.9	—	—
匀浆液稀释后的各丙酮酸标准	—	0.9	—
待测样品	—	—	0.9
苯肼显色液	0.3	0.3	0.3
充分混匀			
PA Assay Buffer	1.5	1.5	1.5



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

6、PA 检测: 混匀静置 10min, 其中空白管呈淡黄色, 标准孔依次呈不同程度的棕红色。用分光光度计 520nm, 以空白管调零, 比色杯光径 1cm, 读取标准管、测定管的吸光度(记为  $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ )。

### 计算:

以各丙酮酸标准浓度(1~6 号)为横坐标, 以对应各丙酮酸标准  $A_{\text{标准}}$  为纵坐标, 绘制丙酮酸标准曲线, 血清、尿液等的丙酮酸含量直接根据标准曲线求得。

$$\text{组织丙酮酸}(\mu\text{g/g}) = A \times N/m$$

$$\text{血清丙酮酸}(\mu\text{g/ml}) = A \times N$$

式中:  $A$ =通过标准曲线计算样品的丙酮酸浓度( $\mu\text{g/ml}$ )

$N$ =稀释倍数

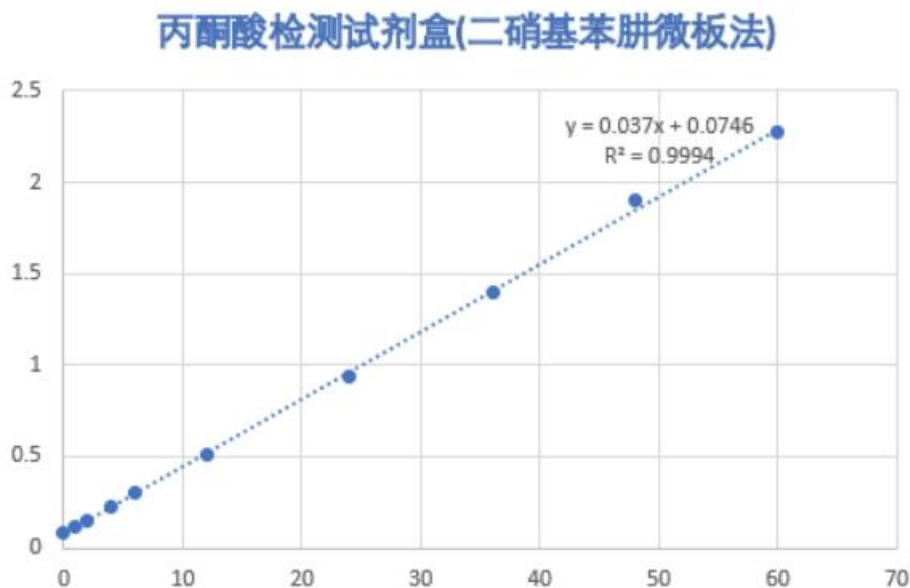
$m$ =样品的质量(g)数

### 注意事项:

- 1、所加试剂顺序不可颠倒, 先加丙酮酸标准液或待测液, 再加组织匀浆液(1×), 最后加 PA Assay Buffer(1×)。
- 2、配制的丙酮酸标准( $60\mu\text{g/m}$ )应 4℃ 避光保存, 24h 有效。
- 3、组织匀浆液有腐蚀性, 应小心操作。
- 4、健康成年人空腹静脉全血丙酮酸含量为 3~9 $\mu\text{g/ml}$ 。
- 5、如果没有分光光度计, 也可以使用酶标仪测定, 检测样品量会相应增加。
- 6、标准曲线的各点应分布均匀, 范围适中。
- 7、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期:** 6 个月有效。4℃ 运输, 4℃ 保存。

**附录：** 参考标准曲线范围：源叶生物在室温条件下通过酶标仪 520nm 测定丙酮酸标准在 1~60 $\mu$ g/ml 时，其吸光度多在 0.10~2.40 之间。根据源叶生物测定丙酮酸标准在 1、2、4、6、12、24、36、48、60 $\mu$ g/ml 时的吸光度，作出标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算丙酮酸含量的，可以采用多点标准曲线重复测定；根据源叶生物测定经验显示，标准品浓度在 1 $\mu$ g/ml 以下，标准品浓度在 60 $\mu$ g/ml 以上，标准曲线会有偏差。