

## 钾(K)含量检测试剂盒说明书

(货号: G08100W48 微板法 48 样)

### 一、产品简介:

通过钾依赖性丙酮酸激酶催化底物磷酸烯醇式丙酮酸 (PEP) 的酶动力学反应检测钾, 其产物丙酮酸盐在乳酸脱氢酶 (LDH) 作用下与 NADH 反应生成辅酶 I (NAD<sup>+</sup>), 其在 340nm 的吸光值下降与钾浓度呈比例。

### 二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 8mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	4°C保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4°C保存	浓度为6.4mmol/L。

### 三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、去离子水。

### 四、钾(K)含量检测:

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

#### 1、样本制备:

- ① 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。
- ② 组织样本: 取约 0.1g 组织样本, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4°C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 的比例提取。

- ③ 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 离心 10min, 取上清待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10<sup>4</sup>): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

#### 2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min, 设定波长到 340nm。
- ② 所有试剂解冻至室温, 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)
样本	5	
标准品		5
试剂一	150	150
37°C条件下, 孵育 5min。		
试剂二	50	50
混匀, 37°C条件下, 30s 时于 340nm 处读取吸光值 A1, 5min30s 时读取 A2。ΔA=A1-A2。		

## 五、结果计算：

### 1、按照体积计算：

$$\text{钾(K) (mmol/L)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div V_1 \times D = 6.4 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times D$$

$$\text{钾(K) (mg/dL)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div V_1 \times 3.9 \times D = 25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times D$$

### 2、按样本鲜重计算：

$$\text{钾}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (W \times V_1 \div V) \times D = 6.4 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times D$$

$$\text{钾}(\mu\text{g/g 鲜重}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times 39 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (W \times V_1 \div V) \times D = 249.6 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times D$$

### 3、按细胞数量计算：

$$\text{钾}(\mu\text{mol}/10^6\text{cell}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (5 \times V_1 \div V) \times D = 6.4 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 5 \times D$$

$$\text{钾}(\mu\text{g}/10^6\text{cell}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times 39 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (5 \times V_1 \div V) \times D = 249.6 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 5 \times D$$

C 标准---标品浓度，6.4mmol/L=6.4μmol/mL；

V1---加入样本体积，0.005mL；

W---质量，g；

5---细胞数量，百万；

V---提取液提取液体积，1 mL；

V2---加入标准品体积，0.005mL；

39---钾的分子量；

D---稀释倍数，未稀释即为1。