

锌(Zn)含量检测试剂盒说明书

(货号: G08103W 微板法 96 样)

一、产品简介:

硝基-PAPS 在碱性溶液中与 Zn 反应, 生成紫色的复合物, 在 570nm处有最大的吸收峰。Cu 和铁离子的干扰可以通过调节pH值和添加螯合物完全消除。

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 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 16mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 4mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃保存	

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、锌(Zn)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℃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 (10⁴): 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 570nm。
- 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)	空白管 (仅做一次)
样本	40		
蒸馏水			40
标准品		40	
试剂一	160	160	160
混匀, 37℃孵育 5min			
试剂二	40	40	40
混匀, 37℃孵育 10min 后于 570nm 处读取吸光值 A。			

【注】: 1. 若 A 测定值大于 1.5, 可用生理盐水或蒸馏水对样本进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 A 测定-A 空白值小于 0.01, 可增加加样体积 V1 (如由 40μL 增至 60μL, 空白管由 40μL 增至 60μL, 标准管是 40μL 标准品和 20μL 蒸馏水; 其他试剂均保持不变)。则改变后的 V1 代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\text{锌(Zn)}(\mu\text{mol/L}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D = 36.7 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

$$\text{锌(Zn)}(\mu\text{g/dL}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_1 \times 6.51 \times D = 238.9 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{锌(Zn)}(\text{nmol/g}) &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 36.7 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{锌(Zn)}(\mu\text{g/g}) &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times 65.38 \div 1000 \times D \\ &= 2.4 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{锌(Zn)}(\text{nmol}/10^6\text{cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (5 \times V_1 \div V) \times D \\ &= 36.7 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 5 \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{锌(Zn)}(\mu\text{g}/10^6\text{cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (5 \times V_1 \div V) \times 65.38 \div 1000 \times D \\ &= 2.4 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 5 \times D \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，36.7μmol/L=36.7nmol/mL；

V---提取液提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

V2---加入标准品体积，0.04mL；

65.38---锌的分子量；

W---质量，g；

5---细胞数量，百万；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。