

钠(Na)含量检测试剂盒说明书

(货号: G0899W48 微板法 48 样)

一、产品简介:

通过钠依赖性 β -半乳糖苷酶催化底物ONPG (O-硝基酚- β -D-吡喃半乳糖) 的酶动力学反应检测钠, 其产物O-硝基苯酚在405nm 的吸光值与钠浓度成正比。

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℃保存	
试剂一	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃保存	浓度为160mmol/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、钠(Na)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 (10^4): 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 405nm。
- ② 所有试剂解冻至室温, 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	5		
蒸馏水			5
标准品		5	
试剂一	150	150	150
37℃条件下, 孵育 5min。			
试剂二	50	50	50
混匀, 37℃条件下, 30s 时于 405nm 处读取吸光值 A1, 4min30s 时读取 A2。 $\Delta A = A2 - A1$ 。			

【注】: 1. 当钠和钾同时测时将钠放在钾前检测。若 $A2 > 1.5$, 用生理盐水或水或提取液对样本稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 ΔA 值小于 0.01, 可增加加样体积 V_1 (如由 $5\mu\text{L}$ 增至 $20\mu\text{L}$, 空白管由 $5\mu\text{L}$ 增至 $20\mu\text{L}$, 标准管是 $5\mu\text{L}$ 标准品和 $15\mu\text{L}$ 蒸馏水; 其他试剂均保持不变)。则改变后的 V_1 代入公式重新计算。或者测定管和标准管和空白管均增加至 10min30s 时读取 A_2 值, 则重新计算 ΔA 并代入计算。

五、结果计算:

1、按照体积计算:

$$\begin{aligned}\text{钠}(\text{Na})(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D \\ &= 160 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算:

$$\begin{aligned}\text{钠}(\text{Na})(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\text{C 标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 160 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{钠}(\text{Na})(\mu\text{g/g 鲜重}) &= (\text{C 标准} \times V_2) \times 23 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 3680 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D\end{aligned}$$

3、按细胞数量计算:

$$\begin{aligned}\text{钠}(\text{Na})(\mu\text{mol}/10^6\text{cell}) &= (\text{C 标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times V_1 \div V) \times D \\ &= 160 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times D\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{钠}(\text{Na})(\mu\text{g}/10^6\text{cell}) &= (\text{C 标准} \times V_2) \times 23 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times V_1 \div V) \times D \\ &= 3680 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times D\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度, $160\text{mmol/L}=160\mu\text{mol/mL}$;

V_1 ---加入样本体积, 0.005mL ;

23---钠的分子量;

5---细胞数量, 百万;

V ---提取液提取液体积, 1mL ;

V_2 ---加入标准品体积, 0.005mL

W ---质量, g ;

D ---稀释倍数, 未稀释即为 1。