

锌(Zn)含量检测试剂盒说明书

(货号: G08103W48 微板法 48 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 60mL×1 瓶 | 4°C 保存 | |
| 试剂一 | 液体 8mL×1 瓶 | 4°C 保存 | |
| 试剂二 | 液体 2mL×1 瓶 | 4°C 保存 | |
| 标准管 | 液体 0.2mL×1 支 | 4°C 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°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 (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°C 孵育 5min | | | |
| 试剂二 | 40 | 40 | 40 |
| 混匀, 37°C 孵育 10min 后于 570nm 处读取吸光值 A。 | | | |

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:

$$\text{锌(Zn)}(\text{nmol/g})=(C \text{ 标准} \times V_2) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D$$

$$= 36.7 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

$$\text{锌(Zn)}(\mu\text{g/g})=(C \text{ 标准} \times V_2) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times 65.38 \div 1000 \times D$$

$$= 2.4 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

3、按细胞数量计算:

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

$$= 36.7 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 5 \times D$$

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

$$= 2.4 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div 5 \times D$$

C 标准---标品浓度, 36.7 $\mu\text{mol/L}$ =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。