

## 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<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 405nm。
- 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	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。ΔA=A2-A1。			

## 五、结果计算：

### 1、按照体积计算：

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)}(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 160 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times \text{D}\end{aligned}$$

### 2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 160 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div \text{W} \times \text{D}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times 23 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 3680 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div \text{W} \times \text{D}\end{aligned}$$

### 3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)}(\mu\text{mol}/10^6\text{cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 160 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times \text{D}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{钠(Na)}(\mu\text{g}/10^6\text{cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times 23 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (5 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 3680 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div 5 \times \text{D}\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，160mmol/L=160μmol/mL；

V1---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，1 mL；

V2---加入标准品体积，0.005mL

W---质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为1。