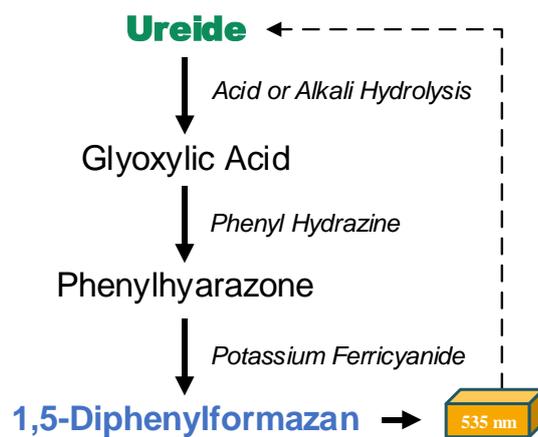




植物中酰胺含量检测试剂盒  
Plant Ureide Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 植物中酰胺含量检测试剂盒

### Plant Ureide Content Assay Kit

#### 一、产品描述

酰胺（尿囊素和尿囊酸）是豆科植物根瘤菌共生固氮中最初输出的氮代谢产物，是氮素贮藏和运输的主要形式，在豆科植物氮代谢中起着重要作用。选育高固氮活性豆科植物品种是提高豆科植物固氮能力的有效途径，酰胺含量可作为植物固氮能力的重要评估指标。

尿囊素在过酸或碱条件下水解产生乙醛酸，乙醛酸能够与苯肼和强酸条件下生成红色络合物，产物在 535 nm 处具有特殊吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测植物中酰胺的含量。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 4 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 4 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 4 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂五	粉剂×2 瓶	-20°C避光保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存一周, 避免反复冻融)
试剂六	液体 10 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 尿囊素)	4°C避光保存	使用前加入 632.5 μL 蒸馏水充分溶解 (即为 100 μmol/mL 酰胺标准液)
<b>标准稀释液的制备:</b> 使用前将100 μmol/mL酰胺标准液使用蒸馏水稀释至12、6、3、1.5、0.75 nmol/mL即为标准稀释液。			

需自备试剂: 无水乙醇 (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O, MW = 46.07, CAS: 64-17-5);

浓盐酸 (HCl, MW = 36.46, CAS: 7647-01-0)

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、烘箱、20-40 目筛、恒温水浴/培养箱、无水乙醇和浓盐酸。

## 1.植物中酰胺的提取（可根据预实验结果适当调整样本量）

①植物样本在 65°C 鼓风烘箱中烘干，研磨至粉状后过 20-40 目筛；

②按样本质量 (g)：无水乙醇 (mL)：提取液体积 (mL) = 1: (10-20): (10-20) 的比例（建议称取 0.1 g 烘干样本，依次加入 1 mL 无水乙醇和 1 mL 提取液）处理样本，充分振荡混匀；

③80°C 水浴提取 5 min（密封以防止水分散失），4000 rpm 常温离心 15 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

## 2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min，调至波长至 535 nm，蒸馏水调零。

②试验前将浓盐酸与试剂六置于冰水浴中预冷 30 min 以上，置于冰上待用。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	对照管 ( $\mu\text{L}$ )	测定管 1 ( $\mu\text{L}$ )	测定管 2 ( $\mu\text{L}$ )	标准管 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 ( $\mu\text{L}$ )
待测样本	400	400	400	-	-
标准稀释液	-	-	-	400	-
蒸馏水	-	-	-	-	400
试剂一	50	-	50	50	50
试剂三	-	100	-	-	-
-			沸水浴处理 7 min，冷却至室温		
试剂二	50	-	50	50	50
-			沸水浴处理 6 min，冷却至室温		
试剂四	100	100	100	100	100
试剂五	100	100	100	100	100
充分混匀，室温静置 6 min，冰水浴冷却至 4°C					
浓盐酸	500	500	500	500	500
试剂六	100	100	100	100	100
充分混匀，室温静置 15 min					

注：对照管不进行沸水浴处理，测定管 1 只需进行第二次沸水浴处理，沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：吸取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 535 nm 处吸光值，记为 A 测定 1、A 测定 2、A 对照、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A$  测定 1 = A 测定 1 - A 对照， $\Delta A$  测定 2 = A 测定 2 - A 对照， $\Delta A$  标准 = A 标准 - A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样本均需设一个对照管。

### 3.植物中酰胺含量计算

#### 3.1 标准曲线的建立

以 12、6、3、1.5、0.75 nmol/mL 为横坐标 (x)，以其对应的  $\Delta A$  标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A$  测定 1 和  $\Delta A$  测定 2 带入公式中得到  $x_1$  和  $x_2$  (nmol/mL)。

#### 3.2 酰胺含量的计算

$$\text{尿酸含量 (nmol/g)} = \frac{x_1 \times V_{\text{提}}}{W} = \frac{2 \times x_1}{W}$$

$$\text{酰胺含量 (nmol/g)} = \frac{x_2 \times V_{\text{提}}}{W} = \frac{2 \times x_2}{W}$$

注释：V 提：提取后总体积，2 mL；W：样本质量，0.1 g。

#### 四、注意事项

①若  $\Delta A$  测定超出标准线性吸光值范围，建议适当调整样本量或将提取液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

