

尿囊酸含量试剂盒说明书

酶标法 48 样

一、产品说明

酰胺是含氮有机化合物，是大多数生物体内嘌呤碱代谢的中间产物或者最终产物。酰胺主要以尿囊素和尿囊素形式存在，酰胺在一些植物中，作为贮存物质，秋季贮存于茎跟地下器官，春季再输送到生长锥，作为氮源，一些研究表明，尿囊酸对尿囊素的合成有反馈抑制作用。

尿囊酸属于乙醛酸的衍生物，通过酸水解产生的乙醛酸，先与盐酸苯胍结合转化成苯胍，苯胍在浓盐酸条件下，被铁氰化钾氧化，生成红色化合物，在 535nm 下有最大吸收峰。

二、需自备的仪器和用品

天平、烘箱、粉碎仪、筛子，酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、研钵和蒸馏水，浓盐酸。

三、试剂的组成和配制

试剂名称	规格	保存温度	配置方法	备注
提取液一	液体 30mL×1 瓶	4°C 保存		
提取液二	液体 30mL×1 瓶	4°C 保存		
试剂一	液体 2mL×1 支	4°C 保存		
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4°C 保存		
试剂三	粉剂×2 瓶	4°C 保存	临用前每瓶加入 3mL 蒸馏水溶解	超声溶解；现配现用
试剂四	浓盐酸		将试剂四置于冰水浴中预冷 30min 以上并置于冰水浴中待用	自备
试剂五	粉剂×2 瓶	4°C 保存	临用前每瓶加入 3mL 蒸馏水溶解	现配现用

四、样本制备

建议正式实验前取 2 个样本做预测定，了解本批样本含量情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

将样本烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛之后，称取约 0.05g，加入 0.5mL 提取液一与 0.5mL 提取液二，（禁止将提取液一与提取液二混匀待用）涡旋混匀，80°C 水浴锅中提取 10min，冷却至室温（25°C）后，8000g，25°C，离心 10min，取上清待测。

五、测定步骤

1、酶标仪预热调节波长至 535nm

2、操作表（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称（ μL ）	测定管	对照管
上清液	160	160
试剂一	40	-
	混匀，95°C 水浴 10min，冷却至室温	-
蒸馏水	-	40
试剂二	40	40
试剂三	40	40
混匀后放置于冰水浴中 10min		
试剂四	200	200
试剂五	40	40
混匀，室温静置 15min，取 200 μL 反应液于 96 孔板中测定各管 535nm 处吸光值 A；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$		

注：每一个测定需设置一个对照；若 ΔA 大于 1，可将上清液用蒸馏水稀释适当倍数后重新测定

六、计算公式

1、标准曲线： $y = 0.0386x + 0.0247$ ， $R^2 = 0.9999$ ； x 为标准品浓度($\mu\text{g/mL}$)， y 为 ΔA

2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{尿酸含量 } (\mu\text{g/g}) &= (\Delta A - 0.0247) \div 0.0386 \times V1 \div W \times \text{稀释倍数} \\ &= 25.91 \times (\Delta A - 0.0247) \times \text{稀释倍数} \end{aligned}$$

$V1$ ：提取液体积，1mL； W ：样本质量，g。

