

Ammonia Content Kit

氨含量测定试剂盒说明书

货号: BN72142 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

氨可由微生物蛋白质分解代谢产生, 此外肝脏疾病也会影响氨水平。

本试剂盒利用氨在强碱的环境下与次氯酸盐和苯酚作用, 生成水溶性染料靛酚蓝, 溶液颜色稳定。其在 630nm 处有特征吸收峰, 吸光值与氨含量成正比。

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 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 3mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	A: 液体 1.7mL×4 支 B: 液体 0.1mL×1 支	4°C保存	临用前取 15μL 的 B 液进一瓶 A 液中, 混匀后作为试剂三使用。混匀后的试剂三一周内用完。
标准管	液体 2mL×1 支	4°C保存	标品浓度为 10μg/mL 的氨

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、氨含量检测:

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, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 液体样品: 澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。
- ② 组织样本: 取约 0.1g 组织样本, 加 1mL 的提取液研磨, 粗提液全部转移到 EP 管中, 12000rpm, 常温离心 10min, 上清液待测。

【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 的比例进行提取。

- 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 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【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 比例进行提取。

2、上机检测:

- ① 打开酶标仪, 设定波长到 630nm。
- 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	15		
标准品		15	
蒸馏水	45	45	60
试剂一	60	60	60
试剂二	30	30	30
试剂三	60	60	60

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

混匀，37 度放置 20min,于 630nm 处读取 A,
 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按液体体积计算：

$$\begin{aligned}\text{氨含量}(\mu\text{g/mL}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times D \\ &= 10 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \\ \text{氨含量}(\mu\text{mol/L}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times D \times 10^3 \div Mr \\ &= 555.6 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned}\text{氨含量}(\mu\text{g/g}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 10 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D\end{aligned}$$

3、按细菌/细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{氨含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.02 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的氨；

V1---加入样本体积，0.015mL；

W---取样质量；

Mr---氨分子量，18；

V_标---标准品加样体积，，0.015mL；

V---提取液体积，1mL；

500---细胞数量，百万；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。