

植物色氨酸含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHD5-M48	植物色氨酸含量检测试剂盒	48T	微量法
PYHD5-M96		96T	

一、测定意义：

色氨酸（Tryptophan, Trp）是一种参与多种生物合成过程的必需氨基酸，它不仅参与多种蛋白质的合成，还是许多具有生物活性物质的前体。

二、测定原理：

在 H_2SO_4 中，L-色氨酸与对二甲基苯甲醛发生缩合反应，生成希夫碱对二甲氨基苯甲醛缩色氨酸为蓝色，该产物在 600nm 处有吸收峰。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃避光保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	2-8℃保存
试剂二的配制： 使用前每瓶加入 1 mL 蒸馏水充分溶解，现配现用。			
标准品 (10mg)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃保存
标准品的配制： 临用前加入 1 mL 蒸馏水混匀溶解，配制成 10 mg/mL 标准液备用，4℃可保存 2 周。			

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）处理样品，旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎机冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 600nm，蒸馏水调零；
- 2、不同浓度标准液配制：将 10 mg/mL 标准液用蒸馏水稀释至 0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625、0.0078125mg/mL 备用；

- 3、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	标准管	空白管
上清液（μL）	50	-	-
不同浓度标准液（μL）	-	50	-
蒸馏水（μL）	-	-	50
试剂一（μL）	450	450	450
充分混匀，沸水浴 2 min，冷却至室温			
试剂二（μL）	5	5	5
充分混匀，沸水浴 3 min（密封以防止水分散失），立即冷却至室温。混匀，吸取 200μL 于 96 孔板中，测定 600 nm 处吸光值，记为 $A_{测定}$ 、 $A_{标准}$ 和 $A_{空白}$ ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注：标准管和空白管只需测定 1-2 次。			

五、植物色氨酸含量计算：

- 1、标准曲线的建立：根据标准管的浓度（y，mg/mL）和吸光度 $\Delta A_{标准}$ （x， $\Delta A_{标准}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ （x， $\Delta A_{测定}$ ）带入公式计算样本浓度（y，mg/mL）。

- 2、按样本质量计算：

$$\text{色氨酸含量(mg/g 质量)} = y \times V_{\text{样总}} \div W \times F = y \div W \times F$$

- 3、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{色氨酸含量 (mg/mg prot)} = y \times V_{\text{样总}} \div (Cpr \times V_{\text{样总}}) \times F = y \div Cpr \times F$$

$V_{\text{样总}}$ ：样本提取总体积，1 mL； Cpr ：样本蛋白浓度，mg/mL； W ：样本质量，g； F ：样本稀释倍数。

六、注意事项：

- 1、如果测定吸光值超过线性范围吸光值，请将样品用提取液进行适当的稀释再测定，并在计算公式中乘以稀释倍数；
- 2、提取过程会使蛋白变性，若使用蛋白浓度计算，需单独使用 PBS 提取后再测定蛋白浓度；
- 3、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。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】**【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日