

植物根系活力试剂盒说明书

(分光法 48 样)

一、产品简介:

植物根系的测定,传统方法是用氯化三苯基四氮唑(TTC)作为脱氢酶的氢受体,但生成的有色物质甲臜是不溶于水以至操作麻烦,且灵敏度低;本试剂盒提供一种简单,灵敏,快速的测定方法,利用改性的氮四唑盐作为氢受体,其生成的有色甲臜物质易溶于水,于460nm测定其吸光值,即得脱氢酶活性。

二、试剂盒组分与配制:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 |
|------|--------------|------|
| 试剂一 | 液体 1.3mL×2 支 | 4℃保存 |
| 试剂二 | 液体 43mL×1 瓶 | 4℃保存 |

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、天平、恒温培养箱或水浴锅、可调式移液器、离心机。

四、植物根系活力测定:

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:

先用蒸馏水把根系(尤其是带泥巴的根系)冲洗干净,再用吸水纸吸干水分,称约 0.06g 根系组织,可预先用剪刀剪成小段,放入 EP 管后按照加样表操作(确保根系样本完全被试剂浸没)。

2、上机检测:

- ① 可见分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 460nm,蒸馏水调零。
- ② 在 EP 管中依次加入:

| 试剂名称(μL) | 测定管 | 空白管(仅做一次) |
|---|-------|-----------|
| 样本(g) | 0.06g | |
| 试剂一 | 50 | 50 |
| 试剂二 | 850 | 850 |
| 充分混匀,37℃避光培养 3h,立即于室温(25℃) 10000rpm,离心 10min,全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿中,于 460nm 处读取吸光值 A,ΔA=A 测定-A 空白。 | | |

- 【注】1. 随着反应的进行,液体会呈现黄色现象,酶活性越大,颜色越深。
2. 若ΔA 差值在零附近徘徊,可以加大样本取样量(如增至 0.12g),或延长避光培养时间(如增至 6 h 或更长),则改变后的样本 W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

1、按照样本质量计算:

酶活单位定义:在 37℃时,每克样本每小时催化产生 1μg 甲臜物质为一个酶活单位。

根系活力(μg/h/g 鲜重) = $(\Delta A \div \epsilon \div d \times V \times 10^6 \times Mr) \div W \div T = 6.04 \times \Delta A \div W$

ε---甲臜物质的摩尔消光系数, 3.1×10^4 L/mol/cm; d---光径, 1cm;

V---反应体系总体积, 900μL = 9×10^{-4} L;

T---培养时间, 3h;

W---样品质量, g;

Mr---甲臜物质的分子量, 624.47。

