

植物脯氨酸（PRO）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
PYFA2-M48	植物脯氨酸（PRO）含量测定试剂盒	48T	微量法
PYFA2-M96		96T	

一、测定意义：

脯氨酸（Pro）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，逆境条件下，植物体内 Pro 含量显著增加。Pro 增加量在一定程度上反映了抗逆性，抗旱性强的品种往往积累较多的脯氨酸。因此，脯氨酸增加量可以作为抗逆育种的生理指标之一。

二、测定原理：

当磺基水杨酸提取植物样品时脯氨酸便游离于磺基水杨酸溶液中，用酸性茚三酮加热处理后，溶液即为红色，在 520nm 测定吸光度，其颜色深浅即表示脯氨酸含量的高低。

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	冰乙酸 10mL（自备）	冰乙酸 20mL（自备）	室温保存
试剂二	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品（10mg）	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
10mg/mL 标准品配制：临用前取一支粉剂加入 1 mL 蒸馏水，充分混匀使其溶解。			

四、操作步骤：

样本前处理

植物组织提取液的制备：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 样本，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 520nm，用蒸馏水调零。
- 2、标准品的处理：将 10mg/mL 标准品用蒸馏水稀释为 40、20、10、8、4、2、1、0.5μg/mL。
- 3、操作表：

试剂名称	测定管	标准管	空白管
样本（mL）	0.15	-	-
标准品（mL）	-	0.15	-
蒸馏水（mL）	-	-	0.15

试剂一（mL）	0.15	0.15	0.15
试剂二（mL）	0.15	0.15	0.15
混匀后盖紧盖子，缠好封口膜，置于沸水浴中保温 30min，每 10min 振荡一次，冷却后取 200μL 溶液在 520nm 波长处比色，记录吸光值 $A_{\text{测定管}}$ 、 $A_{\text{标准管}}$ 、 $A_{\text{空白管}}$ ，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管只需做 1-2 次。			

五、Pro 含量计算

以标准溶液浓度为横坐标， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 代入方程得到 x （ $\mu\text{g/mL}$ ）。

$$\text{Pro 含量}(\mu\text{g/g 鲜样}) = x \times V_{\text{提}} \div W = x \div W$$

$V_{\text{提}}$ ：加入提取液体积，1mL；

W ：样本质量，g；

六、注意事项：

- 1、提取液中含有蛋白沉淀剂，提取的上清液不能用于蛋白浓度的测定。
- 2、如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。