

酚-次氯酸钠显色法测定大鼠脑中游离氨-N 含量

董景明 赵天睿

(江西医学院生物化学教研组, 南昌)

本文介绍一种用酚-次氯酸钠试剂直接测定动物组织样品中游离氨-N 含量的方法, 此法简便、灵敏、省时, 最小检测量为 0.05 微克氨-N。

酚-亚硝基铁氰化钠试剂: 取酚 0.6 克、亚硝基铁氰化钠 5 毫克, 加水至 50 毫升, 放置 24—48 小时后使用。次氯酸钠试剂: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.79 克、 $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.9 克、氢氧化钠 0.5 克、次氯酸钠原液 1 毫升, 加水至 50 毫升, 贮于棕色瓶内。硫酸铵标准液 (1 毫升 = 0.05 毫克氨-N)、1N 硫酸、10% 钨酸钠、85% 乙醇。(以上药品均为 A. R., 试剂均用无氨重蒸水配制)。

实验用 160—250 克健康大鼠, 断头后分取大脑与脑干, 分别用 10 倍量预冷的 85% 乙醇制成匀浆, 离心, 取上清液备用。取小试管 3 支, 依次加入下列各液: 10% 钨酸钠 0.25 毫升, 组织上清液 0.05 毫升, 1N 硫酸 0.25 毫升; 空白管与标准管均以无氨重蒸水 0.25 毫升代替组织上清液; 在标准管中用微量进样器加入相当于 0.2 微克氨-N 的硫酸铵标准液 4 微升, 将各

管摇匀, 离心, 取相应上清液 0.5 毫升, 加酚-亚硝基铁氰化钠试剂与次氯酸钠试剂各 0.7 毫升, 摇匀, 37℃ 水浴保温 30 分钟, 取出后静置 10 分钟, 用 721 型分光光度计读取 OD_{630} , 并计算含量。

在测定过程中, 组织中部分谷氨酰胺的水解可使测定值偏高。为消除这一影响, 可在相同条件下测定谷氨酰胺标准液水解所释出的氨-N 量, 同时测定(用层析法)组织谷氨酰胺含量; 组织样品的游离氨-N 量等于实际测定值减去该样品所含谷氨酰胺的水解值。

用不同量的硫酸铵标准液按上法测定所制定的标准曲线显示, 测定量在 0.05—0.7 微克时, N 含量与光密度呈线性关系, 同时将硫酸铵标准液加于组织上清液内, 测定其回收率, 七次实验的平均回收率为 $101 \pm 9.8\%$ 。

用本法测定了 6 个健康大鼠的大脑和脑干中游离氨-N 的含量, 分别为 0.50 ± 0.13 毫克/100 克鲜脑和 0.65 ± 0.17 毫克/100 克脑干, 结果与文献报道一致。

[本文于 1982 年 11 月 26 日收到]

会议简讯

《第一次全国光生物学学术讨论会》征集论文的通知

中国生物物理学会订于今年 12 月在广西柳州召开第一次全国光生物学学术讨论会, 交流光生物学领域的基础和应用研究成果。特别欢迎联系农业增产、医疗诊断以及环境保护和生态等实际应用的研究工作在会上交流。

会议征集论文工作现已开始, 欲参加征文者, 请将一千字左右的论文摘要一份寄中国生物物理学会办公室(北京中关村生物物理研究所转)供审查之用。征文截止日期为 8 月 31 日。