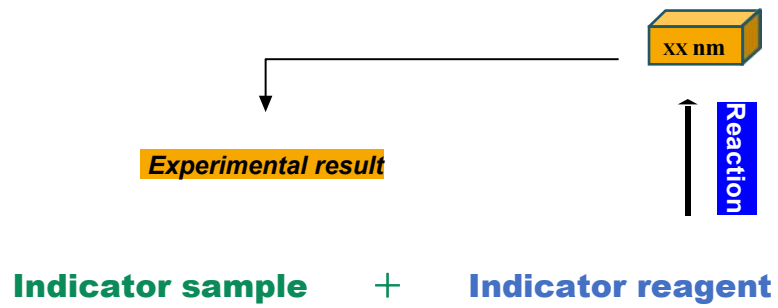


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

## 植物氨态氮含量检测试剂盒说明书 可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前将试剂三倒入使其充分溶解备用。该试剂溶解后10 天内有效。
试剂二	粉剂×2 瓶	4℃避光保存	临用前加 2mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	液体 45mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂×1 支	4℃避光保存	10mg 半胱氨酸，临用前加入 1.157mL 提取液，得到 1000 μg/mL 氮标准液。

产品说明：

氮素是构成生物体的一种必需元素。铵态氮进入植物细胞后形成氨基酸或酰胺，植物组织氨氮含量可反映植物受胁迫的程度。

氨基酸的 $\alpha$ -氨基可与水合茚三酮反应，产生蓝紫色化合物，在 570 nm 有特征吸收峰；通过测定 570 nm 吸光度，来计算氨基酸含量。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、无水乙醇、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

按照质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g，加入 1mL 提取液）加入提取液，室温匀浆后于 25℃，12000g 离心 10min，取上清待测。

二、测定步骤：

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 570nm，蒸馏水调零。

2、将 1000 μg/mL 氮标准液用提取液分别稀释为 200、100、50、25、12.5 μg/mL。

### 3、操作表：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	50	-	-
标准品	-	50	-
蒸馏水	-	-	50
试剂一	500	500	500
无水乙醇	500	500	500
试剂二	50	50	50

混匀后盖紧瓶盖封口膜封口（防止水分散失），置于沸水浴中保温 10 min，冷却后反复颠倒 EP 管数次，将测定管 8000rpm 离心 5min 后取上清，于 570nm 测定吸光值。显色后务必在 30min 内测完。计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

### 三、植物氨态氮含量计算：

#### 1、标准曲线的绘制

以各个氮标准为横坐标，其对应的  $\Delta A$  标准为纵坐标，建立标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A$  带入方程中，得到  $x$  ( $\mu\text{g/mL}$ )

#### 2、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量的计算

##### (1) 按样本鲜重计算

$$\text{NH}_3\text{-N 含量} (\mu\text{g/g FW}) = x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W。$$

##### (2) 按蛋白浓度计算

$$\text{NH}_3\text{-N 含量} (\mu\text{g/mg prot}) = x \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = x \div C_{\text{pr}}。 W: \text{样品质量, g}; C_{\text{pr}}: \text{蛋白浓度, mg/mL}; V_{\text{提取}}: \text{样品提取液总体积, 1mL}。$$

#### 注意事项：

为保证实验结果的准确性，需先取 1-2 个样做预实验，如果测定的吸光值过高（高于 1），用提取液稀释后再测定。