

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0479

Size: 100T/96S

## 植物铵态氮检测试剂盒说明书

### 微量法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义:

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, 植物组织氮含量可反映植物受胁迫的程度。

#### 二、测定原理:

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。

#### 三、需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、无水乙醇、冰和蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂一	粉剂 × 1 瓶	4°C 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 支	4°C 避光保存	临用前加 1mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	液体 22mL × 1 瓶	4°C 保存	
标准品	粉剂 × 1 支	4°C 避光保存	10mg 半胱氨酸, 临用前加入 1.157mL 提取液, 得到 1000 $\mu$ g/mL 氮标准液

## 五、操作步骤：

### 1. 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°C, 12000g 离心 10min, 取上清待测。

### 2. 测定步骤：

1) 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 570nm, 分光光度计蒸馏水调零。

2) 将 1000  $\mu\text{g/mL}$  氮标准液用提取液分别稀释为 200、100、50、25、12.5  $\mu\text{g/mL}$

### 3) 操作表：

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	测定管	标准管	空白管
样本	15	-	-
标准品	-	15	-
蒸馏水	-	-	15
试剂一	150	150	150
无水乙醇	150	150	150
试剂二	15	15	15

充分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, 吸取 200  $\mu\text{L}$  于微量玻璃比色皿或者 96 孔板中, 于 570nm 测定吸光值。显色后务必在 30min 内测完。计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

## 六、植物氨态氮含量计算：

### 1、标准曲线的绘制

以各个氮标准液为横坐标, 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 ( $\mu\text{g/mg prot}$ ) =  $x \times V_{\text{提取}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{提取}}) = x \div \text{Cpr}$ 。

W: 样品质量, g; Cpr: 蛋白浓度, mg/mL;  $V_{\text{提取}}$ : 样品提取液总体积, 1mL。

## 七、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 (0.6) 用提取液稀释后再测定。