

植物铵态氮含量试剂盒说明书

(货号: G0410W 微板法 96 样)

一、产品简介:

氮素是构成生物体的一种必需元素,自然界中的氮素循环包括许多转化作用。空气中的氮气被固氮微生物及植物与微生物的共生体固定成氨态氮,经过硝化微生物的作用转化成硝态氮,后者被植物或微生物同化成有机氮化物,植物组织氨氮含量可反映植物受胁迫的程度。

α -氨基酸与水合茚三酮溶液一起加热,经氧化脱氨变成相应的 α -酮酸,酮酸进一步脱羧变成醛,水合茚三酮则被还原,在弱酸环境中,还原型茚三酮,氨和另一分子水合茚三酮反应,缩合生成蓝紫色物质,在 570nm 处有特征吸收峰。

二、测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃ 保存	临用前加入 6mL 无水乙醇,盖紧后充分混匀,再加入 54mL 试剂一混匀,10 天内用完。
试剂三	粉剂×1 支	4℃ 保存	临用前加 4.5mL 蒸馏水,充分溶解。
标准品	液体×1 支	4℃ 保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

[注]: 粉剂量在 mg 级别,使用前用手甩几次或者进行离心,打开直接加入要求的试剂即可。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液枪、研钵、无水乙醇、冰和蒸馏水。

四、植物铵态氮含量的测定:

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:

称取约 0.1g 组织,加入 1mL 提取液,进行室温匀浆,12000rpm,4℃ 离心 10min,上清液置冰上待测。

[注]:也可按照组织质量(g)提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

2、上机检测:

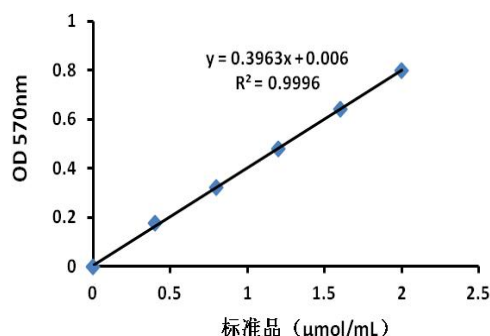
① 酶标仪预热 30 min, 调节波长到 570 nm。

② 在 EP 管中按照下表依次加入试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (只做一次)
蒸馏水		40
上清液	40	
反应 mix	560	560
试剂三	40	40
混匀,盖紧盖(可用封口膜缠绕,防止水分散失),置于沸水浴中 15 min,再冷水迅速冷却,		
95%乙醇	320	320
混匀,取 200μL 于 96 孔板中,在 570nm 读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.3963x + 0.006$ ； x 是标准品摩尔浓度($\mu\text{mol/mL}$)， y 是 ΔA 。



2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned}\text{氨基酸含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A - 0.006) \div 0.3963 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \\ &= 2.52 \times (\Delta A - 0.006) \div W\end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{氨基酸含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A - 0.006) \div 0.3963 \times V1] \div (V1 \div V \times \text{细胞数量}) \\ &= 2.52 \times (\Delta A - 0.006) \div \text{细胞数量}\end{aligned}$$

4、按照液体体积计算：

$$\text{氨基酸含量}(\mu\text{mol/mL}) = [(\Delta A - 0.006) \div 0.3963 \times V1] \div V1 = 2.52 \times (\Delta A - 0.006)$$

V---样品提取液总体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.04 mL；

W---样品质量，g。

附：标准曲线制作过程：

- 1 标准品母液 ($10\mu\text{mol/mL}$)；
- 2 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。