植物氨态氮含量检测试剂盒（分光光度计法）
（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0316	植物氨态氮含量检测试剂盒	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 120mL ×1 瓶	4℃
试剂一	粉剂×1 瓶：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。	4℃
试剂二	粉剂×2 支：临用前加 1mL 蒸馏水充分溶解。	4℃，避光
试剂三	液体 22mL ×1 瓶	4℃
标准品	粉剂×1 瓶：10mg 半胱氨酸，临用前加入 1.157mL 提取液，得到 1000μg/mL 氮标准液。	4℃，避光

一、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α-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。

二、自备材料

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。

三、样品制备

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。

四、操作步骤

正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

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

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

3、操作表：

试剂名称（μL）	测定管	标准管	空白管
样本	15		
标准溶液		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 200μL 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△A=A 测定管-A 空白管，△A 标准=A 标准管-A 空白管。

五、含量的计算

1、标准曲线的绘制：以各个氮标准液为横坐标，其对应的△A 标准为纵坐标，建立标准曲线，得到标准方程 y=kx+b， 将△A 带入方程中，得到 x (μg/mL)。

2、按照样本蛋白浓度计算：

NH_3-N 含量（μg /mg prot）=x × V 提取÷（Cpr × V 提取）= x÷Cpr。

3、按照样本鲜重计算：

NH_3-N 含量（μg /g FW）=x × V 提取÷W= x÷W。

W：样品质量，g；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；V 提取：样品提取液总体积，1mL。

六、注意事项

1、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 0.6），用提取液稀释后再测定。