

植物铵态氮试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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。

测定意义：

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。

测定原理：

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 580nm 处有特征吸收峰。

自备实验用品及仪器：

天平、研钵、常温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、恒温水浴锅。

试剂组成和配制：

提取液：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 9mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃ 避光保存。临用前加 1.5mL 蒸馏水充分溶解。

试剂三：液体 15mL×1 瓶，4℃ 保存。

样本处理：

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。

测定操作表：

	空白管	测定管
样本 (μL)		60
蒸馏水 (μL)	60	
试剂一 (μL)	90	90
试剂二 (μL)	15	15
充分混匀，沸水浴 5min 后自然冷却 10min		
试剂三 (μL)	150	150
充分混匀，取 200μL 于微量石英比色皿/96 孔板中测定 580nm 处吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

注意：空白管只需测定一次。

计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y=0.1535x-0.0279$, $R^2=0.9993$

$$\begin{aligned} \text{NH}_4^+-\text{N 含量 } (\mu\text{g/g 鲜重}) &= (\Delta A+0.0279) \div 0.1535 \times V \text{ 反总} \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \\ &= 32.9 \times (\Delta A+0.0279) \div W \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.315mL; V 样: 反应体系中加入样本体积, 0.06mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL, W: 样本质量, g

a. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y=0.0768x-0.0279$, $R^2=0.9993$

$$\begin{aligned} \text{NH}_4^+-\text{N 含量 } (\mu\text{g/g 鲜重}) &= (\Delta A+0.0279) \div 0.0768 \times V \text{ 反总} \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \\ &= 65.8 \times (\Delta A+0.0279) \div W \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.315mL; V 样: 反应体系中加入样本体积, 0.06mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL, W: 样本质量, g

注意事项:

1. 提取好的待测液尽快测定, 低温保存不得超过 24 小时。
2. 沸水浴时间不宜过长, 否则会对测定结果有影响。
3. 显色后 20min 内完成测定。
4. 最低检出限为 18 $\mu\text{g/g}$ 。