

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°C保存。

试剂一：液体9mL×1瓶，4°C保存。

试剂二：粉剂×1瓶，4°C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°C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°C，12000g离心10min，取上清待测。

测定操作表

	空白管	测定管
样本（ μ L）		60
蒸馏水（ μ L）	60	
试剂一（ μ L）	90	90
试剂二（ μ L）	15	15
充分混匀，沸水浴5min后自然冷却10min		
试剂三（ μ L）	150	150

充分混匀，取200 μ L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： $y=0.1535x-0.0279$ ， $R^2=0.9993$

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

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

b. 用96孔板测定的计算公式如下

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

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

$V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.315mL； $V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入样本体积，0.06mL； $V_{\text{样总}}$ ：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 μ g/g。