

植物氨态氮含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC1520

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	4℃保存
试剂三	液体 45 mL×1 瓶	4℃保存
标准品	粉剂×1 支	4℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：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。
- 2、试剂二：临用前加 2 mL 蒸馏水充分溶解。
- 3、标准品：10 mg 半胱氨酸，临用前加入 1.157 mL 提取液，得到 1000 µg/mL 氮标准液。

产品说明：

氮素是构成生物体的一种必需元素。氨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570nm有特征吸收峰；通过测定570nm吸光度，来计算氨基酸含量。

技术指标：

最低检出限：5.5847 µg/mL

线性范围：25-300 µg/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、无水乙醇、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热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300、200、100、50、25µg/mL。

3. 操作表:

试剂名称 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	50	-	-
标准品	-	50	-
提取液	-	-	50
试剂一	500	500	500
无水乙醇	500	500	500
试剂二	50	50	50

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 10min，冷却后反复颠倒 EP 管数次，将测定管 8000rpm 离心 5min 后取上清，于 570nm 测定吸光值。显色后务必在 30min 内测完。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

三、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 ΔA 标准为纵坐标，建立标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 带入方程中，得到 x （ $\mu\text{g/mL}$ ）。

2. $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量的计算:

(1) 按样本质量计算： $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量（ $\mu\text{g/g}$ 质量）= $x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$

(2) 按蛋白浓度计算： $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量（ $\mu\text{g/mg prot}$ ）= $x \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = x \div C_{\text{pr}}$

W: 样本质量, g; Cpr: 蛋白浓度, mg/mL; V提取: 样本提取液总体积, 1mL。

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，如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

相关发表文献:

[1] Fuyuan Zhu, Moxian Chen, Wailung Chan, et al. SWATH-MS quantitative proteomic investigation of nitrogen starvation in Arabidopsis reveals new aspects of plant nitrogen stress responses. Journal of Proteomics. September 2018; (IF3.537)

相关系列产品:

BC0080/BC0085 硝酸还原酶（NR）活性检测试剂盒

BC1450/BC1455 谷氨酰胺酶（GLS）活性检测试剂盒

BC1460/BC1465 谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒