

# 植物铵态氮试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

**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

$\alpha$ -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  $\alpha$ -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、1 mL 玻璃比色皿、恒温水浴锅。

## 试剂组成和配制

提取液：液体 50mL×1 瓶，4℃保存。

试剂一：液体 15mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1 支，4℃避光保存。临用前加 0.5mL 蒸馏水充分溶解。

试剂三：液体 25mL×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（ $\mu\text{L}$ ）		200
蒸馏水（ $\mu\text{L}$ ）	200	
试剂一（ $\mu\text{L}$ ）	300	300
试剂二（ $\mu\text{L}$ ）	10	10
充分混匀，沸水浴 5min 后自然冷却 10min		
试剂三（ $\mu\text{L}$ ）	500	500
充分混匀，于 1mL 玻璃比色皿，蒸馏水调零，测定 580nm 处吸光值 A，分别记为 A 空白管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

**注意：** 空白管只需测定一次。

## 计算公式

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, 1.01mL;  $V_{\text{样}}$ : 反应体系中加入样本体积, 0.2mL;  $V_{\text{样总}}$ : 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 $\mu\text{g/g}$ 。