

Plant Ammonium Nitrogen Content Assay Kit

植物铵态氮含量测定试剂盒 微板法

| | | |
|---------|------------------|-----|
| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
| BL1072B | 植物铵态氮含量测定试剂盒 微板法 | 96T |

产品简介:

氮素是构成生物体的一种必需元素，植物吸收空气、土壤中的氮，通过固氮微生物及植物与微生物的共同作用，进而将这些无机氮同化成植物体内的氨态氮，再经硝化微生物的作用转化为硝态氮，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。

α -氨基酸与水合茛三酮溶液一起加热，经氧化脱氨变成相应的 α -酮酸，酮酸进一步脱羧变成醛，水合茛三酮则被还原，在弱酸环境中，还原型茛三酮，氨和另一分子水合茛三酮反应，缩合生成蓝紫色物质，在 570nm 处有特征吸收峰。

产品组成:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|--------------|-------|---|
| 提取液 | 液体 110mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 试剂一 | 液体 60mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 试剂二 | 粉末×4 瓶 | 4°C保存 | 临用前每瓶加入 1.5mL 无水乙醇，盖紧后充分混匀，再加入 13.5mL 试剂一混匀，10 天内用完。 |
| 试剂三 | 粉末×3 支 | 4°C保存 | 用前 4°C离心使试剂落入试管底部，每支加 1.5 mL 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂分装后-20°C保存(可保存一个月)，禁止反复冻融，解冻后可 4°C保存并一周内使用完。 |
| 标准品 | 液体×1 支 | 4°C保存 | 若重新做标曲，则用到该试剂。 |

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费！

一、样本准备:

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行室温匀浆；
- (b) 10000-12000g，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：根据研究需求，可按组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 10 的比例进行提取。

2. 细菌/细胞样本:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- (b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；
- (c) 10000-12000g，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞数量加入 1mL 提取液的比例进行提取。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



3. 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

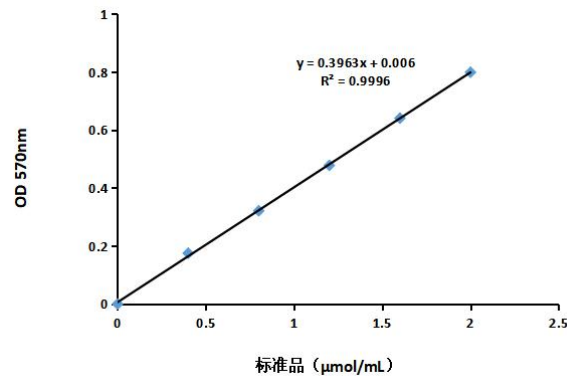
二、样品测定：

1. 酶标仪预热 30min，设定波长到 570nm。
2. 在离心管中依次加入：

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 空白管 (仅做一次) |
|---|-----|------------|
| 蒸馏水 | - | 40 |
| 上清液 | 40 | - |
| 试剂二 | 560 | 560 |
| 试剂三 | 40 | 40 |
| 混匀，盖紧盖（可用封口膜缠绕，防止水分散失），置于沸水浴中 15 min，再冷水迅速冷却， | | |
| 95%乙醇 | 320 | 320 |
| 混匀，取 200μL 澄清液体（若浑浊可 8000rpm 室温离心 5min）于 96 孔板中，在 570nm 读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。 | | |

三、结果计算

1. 标准曲线方程： $y = 0.3963x + 0.006$ ；x 是标准品摩尔浓度 (μmol/mL)，y 是 ΔA 。



2. 按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{铵态氮含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A - 0.006) \div 0.3963 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \\ &= 2.52 \times (\Delta A - 0.006) \div W \end{aligned}$$

3. 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{铵态氮含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A - 0.006) \div 0.3963 \times V1] \div (V1 \div V \times 500) \\ &= 2.52 \times (\Delta A - 0.006) \div 500 \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算：

$$\begin{aligned} \text{铵态氮含量}(\mu\text{mol/mL}) &= [(\Delta A - 0.006) \div 0.3963 \times V1] \div V1 \\ &= 2.52 \times (\Delta A - 0.006) \end{aligned}$$

V--提取液体积，1 mL

V1--加入样本体积，0.04mL

细胞数量---500 万

W--样本质量，g

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液 (10μmol/mL) ；
2. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2. μmol/mL。也可根据

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



实际样本来调整标准品浓度。

3. 依据测定管的加样顺序操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项:

- 1、 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

4°C保存三个月。

