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

铵态氮在强碱性介质中与次氯酸盐和苯酚作用，生成水溶性染料靛酚蓝，在 625nm 处有特征吸收峰，吸光值与铵态氮含量成正比。

自备实验用品及仪器

天平、常温离心机、酶标仪、96 孔板、蒸馏水。

试剂组成和配制

提取液：液体 100mL×1 瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×2 瓶，4℃避光保存。临用前根据用量每瓶加 15mL 蒸馏水溶解，现配现用。

试剂二：液体 30mL×1 瓶，4℃避光保存。

样本处理

1、**组织样本：**按照样本质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 新鲜样本，加入 1mL 提取液）室温匀浆后，12000g ，4℃离心 10min，取上清液待测。

2、**液体样本**：直接检测。

测定操作表

1、酶标仪预热 30min，调节波长至 625nm。

2、操作表

	空白管	测定管
样本（μL）		10
提取液（μL）	10	
试剂一（μL）	245	245
试剂二（μL）	245	245
充分混匀，25℃静置 20min		
充分混匀，吸取 200μL 于 96 孔板中，测定 625nm 处吸光值 A，分别记为 A 空白和 A 测定，△A=A 测定-A 空白。		

计算公式

标准曲线：y = 0.0187x - 0.0623，R^2 = 0.9989；x 为标准品（NH_4^+）浓度 μg/mL，y 为吸光值△A。

1、组织样本：NH_4^+—N 含量（μg/g 鲜重）=（△A+0.0623）÷ 0.0187÷W×14÷18

= 41.6×（△A+0.0623）÷W

2、液体样本：NH_4^+—N 含量（μg/mL）=（△A+0.0623）÷ 0.0187×14÷18

= 41.6×（△A+0.0623）

W：样本质量，g；14：N 的分子质量；18：NH_4^+的分子质量。

注意事项

1. 试剂一必须避光低温保存，配制好的试剂一 4℃保存不能超过 20 天。
2. 提取好的待测液尽快测定，低温保存不得超过 24 小时。