

## 植物总游离氨基酸含量检测试剂盒说明书

| 产品货号      | 产品名称            | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|-----------------|------|------|
| PYHB6-C24 | 植物总游离氨基酸含量检测试剂盒 | 24T  | 常量法  |
| PYHB6-C48 |                 | 48T  |      |

### 一、测定意义：

氨基酸是组成蛋白质的基本单位，也是蛋白质的分解产物植物根系吸收、同化的氮素主要以氨基酸和酰胺的形式进行运输，所以测定植物组织中不同时期、不同部位游离氨基酸的含量，对于研究根系生理、氮素代谢等有一定的意义。

### 二、测定原理：

氨基酸的游离氨基与水合茚三酮作用后产生二酮茚-二酮茚胺的取代盐等蓝紫色化合物，在一定范围内颜色的深浅与氨基酸的含量成正比。

### 三、试剂组成：

| 试剂名称                                                                              | 试剂装量(24T)    | 试剂装量(48T)   | 保存条件   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------|-------------|--------|
| 提取液                                                                               | 液体 30mL×1 瓶  | 液体 60mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一                                                                               | 液体 120mL×1 瓶 | 液体 75mL×2 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二                                                                               | 液体 35mL×1 瓶  | 液体 70mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂三                                                                               | 粉剂 ×1 支      | 粉剂 ×2 支     | 2-8℃保存 |
| 每瓶加 2ml 蒸馏水，现用现配。                                                                 |              |             |        |
| 含氮量 50mg/L 标准品                                                                    | 粉剂 ×1 瓶      | 粉剂 ×2 瓶     | 2-8℃保存 |
| 含氮量 50mg/L 标准品配制：每瓶加 50ml 10%异丙醇（自备），现用现配。                                        |              |             |        |
| 10%异丙醇的配制：将异丙醇：试剂一=1:9 配制，即 5ml 异丙醇加入 45ml 试剂一。                                   |              |             |        |
| 含氮量 5mg/L 标准品的配制：将含氮量 50mg/L 标准品：试剂一=1:9 稀释，即 5ml 含氮量 50mg/L 标准品加入 45ml 试剂一，现用现配。 |              |             |        |

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

- 按照组织质量（g）:提取液（mL）为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清。
- 按照上清（ml）:试剂一（mL）为 1:9 的比例放入离心管中，在水浴锅中沸水煮15min，目的是沉淀样品中的蛋白质和氧化抗坏血酸，然后冷却备用。

#### 测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至580nm，蒸馏水调零。
2. 测定前将试剂恢复至常温；
3. 将含氮量5μg/mL标准品用提取液依次稀释至0、0.5、1、1.5、2、2.5μg/mL，备用；
4. 操作表：

|                                                                                                                            | 空白管 | 标准管 | 测定管 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 样品（μL）                                                                                                                     | -   | -   | 600 |
| 标准品（μL）                                                                                                                    | -   | 600 | -   |
| 水（μL）                                                                                                                      | 600 | -   | -   |
| 试剂二（μL）                                                                                                                    | 900 | 900 | 900 |
| 试剂三（μL）                                                                                                                    | 30  | 30  | 30  |
| 沸水浴 15min，自然冷却后于 580nm 读数。测定 580nm 处吸光值，别记为 A <sub>空白</sub> 、A <sub>测定</sub> 。 $\Delta A = A_{测定} - A_{空白}$ 。（空白管只做 1-2 管） |     |     |     |

## 五、植物总游离氨基酸含量计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线  $y=kx+b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度（μg/mL）。根据标准曲线，将  $\Delta A$  带入公式计算出样本浓度（y，μg/mL）；

2、植物总游离氨基酸含量计算

计算：每 g 样品所含的 μg 氨态氮。

$$\text{氨基态氮含量}(\mu\text{g/g 质量}) = y \times V \times F \div V_{\text{提取}} \div W$$

**V：** 样品提取液体积，1mL；

**V<sub>提取</sub>：** 样品取液体积，0.6mL；

**W：** 样本质量，g；

**F：** 样品稀释倍数；

## 六、注意事项：

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。