

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-M48	植物总游离氨基酸含量检测试剂盒	48T	微量法
PYHB6-M96		96T	

一、测定意义：

游离氨基酸作为植物体内氮代谢的关键中间产物，其总量变化可反映氮素吸收、同化及分配效率，为评估植物氮营养状况提供直接依据，为植物生理机制研究、栽培措施优化及抗逆品种选育提供关键数据支撑。

二、测定原理：

在酸性条件下，茚三酮与氨基酸发生氧化脱氨反应，还原为还原型茚三酮；还原型茚三酮进一步缩合生成蓝紫色的茚三酮-氨基酸复合物。该复合物在 580nm 波长处具有特征吸收峰，通过测定特定波长下的吸光度，可定量计算样品中总游离氨基酸的含量。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 18mL×1 瓶	液体 36mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
试剂三的配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 5mL，混匀充分溶解，现用现配。			
标准品	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	2-8℃保存
标准品稀释液	液体 20mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
含氮量 50μg/mL 标准品的配制： 每支标准品粉剂加 10ml 标准品稀释液，充分溶解，现用现配。			
含氮量 5 μg/mL 标准品的配制： 将含氮量 50 μg/mL 标准品：试剂一=1:9 稀释，即 0.1mL 含氮量 50 μg/mL 标准品加入 0.9mL 试剂一，混合均匀，现用现配。			

四、操作步骤：

样本前处理

- 1.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。
- 2.按照上清（ml）:提取液(mL)为 1:9 的比例放入离心管中，在水浴锅中沸水煮 15min，冷却，5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清备用。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 580nm。
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将含氮量 5μg/mL 标准品用试剂一依次稀释至 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1μg/mL，备用；
- 4、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管	标准管
样品（μL）	200	-	-
标准品（μL）	-	-	200
试剂一（μL）	-	200	-
试剂二（μL）	300	300	300
试剂三（μL）	10	10	10
沸水浴 15min，自然冷却后取 200μl，于 96 孔板/酶标板读数，空白管调零，于波长 580nm 测定各管吸光度，分别记为 $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{标准}}$ ， $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。			

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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 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

氨基态氮含量($\mu\text{g/g}$)= $y \times V_{\text{样总}} \times 10 \div W \div 1000 = y \times V_{\text{样总}} \div W \div 100$

$V_{\text{样总}}$: 样品提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; 10: 上清液加试剂一的系数倍数; 1000: 单位换算。

六、注意事项:

1、试剂二对皮肤、眼睛和黏膜有刺激性, 可能引起过敏反应。操作

时需佩戴一次性手套、护目镜和实验服, 避免试剂直接接触身体。

2、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;

3、沸水浴时将离心管封口, 防止温度过高出现爆管现象, 导致试剂

挥发, 影响最终结果。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日