

植物硝态氮试剂盒说明书

(货号: G0409W 微板法 96 样)

一、产品简介:

硝态氮是植物最主要的氮源。植物体内硝态氮含量反映了土壤中硝态氮的供应情况,可作为土壤氮肥的指标。测定植物体内的硝态氮含量,不仅能够反映出植物的氮营养情况,而且对鉴定蔬菜和以植物为原料的加工制品的品质也有重要的意义。

在浓酸条件下, NO_3^- 与水杨酸反应,生成硝基水杨酸,硝基水杨酸在强碱条件下呈黄色,该黄色物质在 410nm 处有最大光吸收,通过比色测定进而计算得植物硝态氮含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂×4 支	4°C 保存	用前甩几下或 4°C 离心使试剂落入试管底部,每支再加 1.3mL 浓硫酸充分溶解,4°C 避光保存 1 周。
试剂二	液体 100mL×1 瓶	4°C 保存	
标准品	自备		若重新做标曲,则用到该试剂。

【注】: 粉剂量在 mg 级别,使用前用手甩几次或者进行离心,打开直接加入要求的试剂即可。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、常温离心机、水浴锅、可调式移液器、浓硫酸。

四、植物硝态氮含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本: 称取约 0.1g, 加入 1mL 蒸馏水, 室温匀浆后, 置于沸水浴中浸提 30min (期间不断晃动), 待冷却后于 25°C, 12000rpm 离心 15min, 取上清待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 蒸馏水体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本: 先收集细菌/细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水; 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 置于沸水浴中浸提 30min (期间不断晃动), 待冷却后于 25°C, 12000rpm 离心 15min, 取上清待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 比例提取。

③ 液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 打开酶标仪, 调节波长至 410nm。在 EP 管中依次加入:

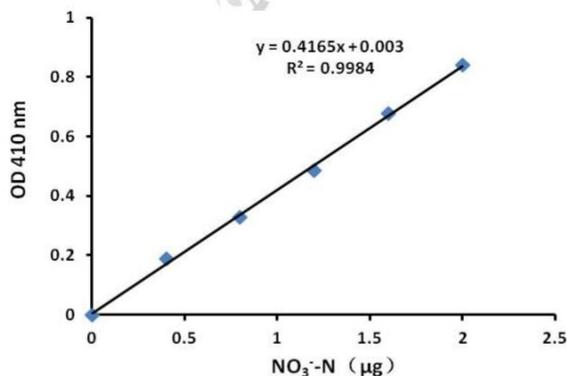
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
蒸馏水		10
试剂一	40	40
室温(25°C)反应 10min		
试剂二 (沿着管壁务必缓慢加入)	950	950
混匀, 取 200 μL 于 96 孔板中, 410nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】1.试剂一和试剂二含有强酸强碱物质，需做好实验防护措施，谨慎操作！

2.若 ΔA 值小于 0.01，则可以增加样本加样量 V1（如增至 40 μ L，则试剂二相应减少），或增加取样质量 W 或细菌/细胞数量。则改变后的 V1 和 W 和数量需带入公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.4165x + 0.003$ ；x 为标准品质量 (μ g)，y 为吸光值 ΔA 。



2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{硝态氮(NO}_3\text{-N 含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= [(\Delta A - 0.003) \div 0.4165] \div (W \times V1 \div V) \\ &= 240.1 \times (\Delta A - 0.003) \div W \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{硝态氮(NO}_3\text{-N 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A - 0.003) \div 0.4165] \div (500 \times V1 \div V) \\ &= 0.48 \times (\Delta A - 0.003) \end{aligned}$$

4、按照液体体积计算：

$$\text{硝态氮(NO}_3\text{-N 含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A - 0.003) \div 0.4165] \div V1 = 240.1 \times (\Delta A - 0.003)$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---样本的加样体积，10 μ L = 0.01mL；

500---细胞数量，万；

W---样本质量，g。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（500 μ g/mL）：称量 3.61mg 的硝酸钾入 EP 管中，再加 1mL 蒸馏水充分溶解（母液需在两天内用且-20 $^{\circ}$ C 保存）。
- 2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 40, 80, 120, 160, 200. μ g/mL。也可根据实际样本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。