

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素营养情况,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℃ 保存	使用前甩几下或 4℃ 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℃ 避光保存 1 周。
试剂二	液体 100mL×1 瓶	4℃ 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℃, 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℃, 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 的比例提取。

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 酶标仪预热 30min,调节波长至 410nm。

② 在 EP 管中依次加入:

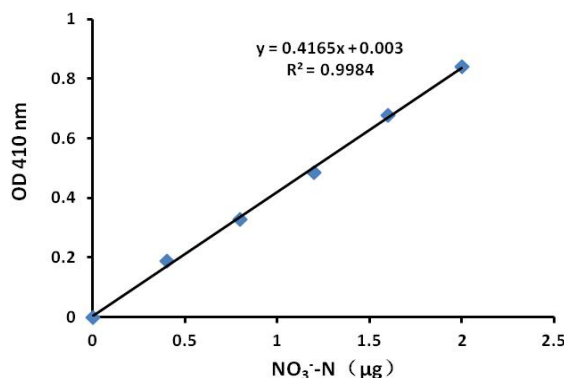
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
蒸馏水		10
试剂一	40	40
室温(25℃)反应 10min		

试剂二 (沿着管壁务必缓慢加入)	950	950
混匀, 取 200 μ L 于 96 孔板中, 410nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A$ 测定管 - A 空白管。		

【注】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!

五、结果计算:

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



2、按样本质量计算:

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

3、按细胞数量计算:

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

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, 百万;

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。