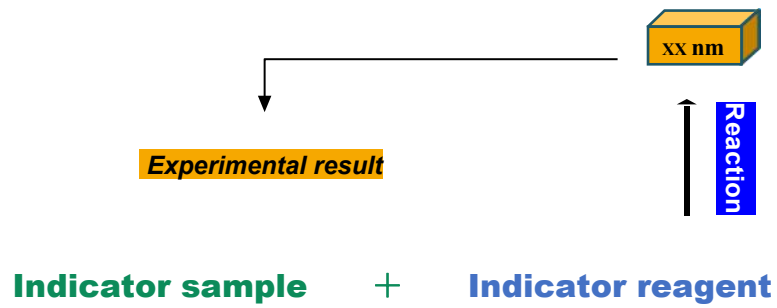


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 植物硝态氮试剂盒说明书

### 微量法

**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

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。

#### 测定原理

在浓酸条件下， $\text{NO}_3^-$ 与水杨酸反应，生成硝基水杨酸，硝基水杨酸在碱性条件下（ $\text{PH}>12$ ）呈黄色，在一定范围内，其颜色深浅与含量成正比，可比色测定计算得硝态氮含量。

#### 自备实验用品及仪器

蒸馏水、天平、常温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、恒温水浴锅。

#### 试剂组成和配制

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	粉剂×1 支	4℃避光保存	临用前根据用量每瓶加1mL浓硫酸充分溶解
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	粉剂×1 支	4℃保存	-

#### 样本处理

按照质量（g）：蒸馏水体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL蒸馏水）加入蒸馏水，室温匀浆后置入90℃恒温水浴锅中浸提30min，期间不断晃动或者置于90℃恒温摇床中振荡提取30min，待冷却后于25℃，12000g 离心15min，取上清待测。（深色植物匀浆后加入约3mg试剂三后再提取）

#### 测定操作表

1、分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 410nm，蒸馏水调零。

#### 2、操作表

	空白管	测定管
样本（ $\mu\text{L}$ ）		4
蒸馏水（ $\mu\text{L}$ ）	4	
试剂一（ $\mu\text{L}$ ）	8	8
充分混匀，25℃静置 30min		
试剂二（ $\mu\text{L}$ ）	190	190
混匀，25℃静置5min，于微量石英比色皿/96孔板中测定410nm处吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

**注意：**空白管只需测定一次。

计算公式

**a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下**

标准曲线： $y=0.633x-0.0397$ ， $R^2=0.9997$

$$\text{NO}_3^- \text{—N 含量 } (\mu\text{g/g}) = (\Delta A + 0.0397) \div 0.633 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ = 79.78 \times (\Delta A + 0.0397) \div W$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.202mL； $V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入样本体积，0.004mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL， $W$ ：样本质量，g

**b. 用96孔板测定的计算公式如下**

标准曲线： $y=0.3165x-0.0397$ ， $R^2=0.9997$

$$\text{NO}_3^- \text{—N } (\mu\text{g/g}) = (\Delta A + 0.0397) \div 0.3165 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \\ = 159.6 \times (\Delta A + 0.0397) \div W$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.202mL； $V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入样本体积，0.004mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL， $W$ ：样本质量，g

注意事项

1. 试剂一配制好后尽快使用，4°C可保存一周。
2. 试剂一和试剂二均具有强腐蚀性，操作时需做好防护措施。
3. 最低检出限为 62.8  $\mu\text{g/g}$ 。