

植物硝态氮试剂盒说明书

微量法100T/96S

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，NO₃⁻与水杨酸反应，生成硝基水杨酸，硝基水杨酸在碱性条件下（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

试剂一：粉剂×2支，4℃避光保存。临用前根据用量每瓶加1.2mL浓硫酸充分溶解。

试剂二：液体60mL×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，室温匀浆后置于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. 在EP管中如下表加样

	空白管	测定管
样本（μL）		10
蒸馏水（μL）	10	
试剂一（μL）	20	20
充分混匀，25℃静置30min		
试剂二（μL）	475	475
混匀，涡旋振荡，使出现的沉淀充分溶解，转移200μL至微量石英比色皿/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: $y=0.0156x+0.0073$, $R^2=0.9997$

$$\begin{aligned} \text{NO}_3\text{---N含量 (mg/kg鲜重)} &= (\Delta A - 0.0073) \div 0.0156 \div (W \div V_{\text{样总}}) \\ &= 64.1 \times (\Delta A - 0.0073) \div W \end{aligned}$$

V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: $y=0.0078x+0.0073$, $R^2=0.9997$

$$\begin{aligned} \text{NO}_3\text{---N (mg/kg鲜重)} &= (\Delta A - 0.0073) \div 0.0078 \div (W \div V_{\text{样总}}) \\ &= 128.2 \times (\Delta A - 0.0073) \div W \end{aligned}$$

V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2μg/g。