

## 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， $\text{NO}_3^-$ 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

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（ $\mu\text{L}$ ）		10
蒸馏水（ $\mu\text{L}$ ）	10	
试剂一（ $\mu\text{L}$ ）	20	20
充分混匀，25℃静置 30min		
试剂二（ $\mu\text{L}$ ）	475	475
混匀，涡旋振荡，使出现的沉淀充分溶解，转移 200uL 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： $y = 0.0156x + 0.0073$ ， $R^2 = 0.9997$

$$\text{NO}_3^- \text{— N 含量 (mg/kg 鲜重)} = (\Delta A - 0.0073) \div 0.0156 \div (W \div V \text{ 样总}) \\ = 64.1 \times (\Delta A - 0.0073) \div W$$

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

$$\text{NO}_3^- \text{— N (mg/kg 鲜重)} = (\Delta A - 0.0073) \div 0.0078 \div (W \div V \text{ 样总})$$

$$=128.2 \times (\Delta A - 0.0073) \div W$$

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℃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。