



植物硝态氮含量检测试剂盒

Plant Nitrate Nitrogen Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



植物硝态氮含量检测试剂盒

Plant Nitrate Nitrogen Content Assay Kit

一、产品描述

氮在植物的生长和发育过程中起着极其重要的作用，硝酸盐是植物吸收的主要含氮物质之一，不仅是植物从土壤中吸收的重要无机氮素形式，也是植物体内转移的主要氮素形式，作为高等植物重要的氮素营养，直接影响植物的生长，测定植物体内硝态氮含量变化对了解氮代谢机制具有重要的意义。

NO_3^- 在浓酸条件下能够与水杨酸反应生成硝基水杨酸，产物在碱性条件下呈黄色，在 410 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测硝态氮的含量。

Boxbio-植物硝态氮含量检测试剂盒优化了去干扰步骤：由于亚硝酸根在酸性条件下会同时与水杨酸反应，产生非检测目标响应值导致高估样本中硝态氮含量，为保障硝态氮检测结果的准确性，本试剂盒内置高效的亚硝酸盐清除方案，可特异性去除浓度高达 5 mg/mL 的亚硝酸根离子，该阈值远超常规样本的干扰浓度，确保了检测方法在复杂样本中的高度特异性与准确性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 2 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C避光保存	使用前每瓶缓慢加入 2 mL 浓硫酸充分溶解 (配制后建议尽快使用，4°C可保存 1 周)
试剂三	液体 90 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	粉剂×1 瓶	4°C保存	-
标准品	粉剂×1 支	4°C保存	使用前加入 1.386 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 1000 $\mu\text{g/mL}$ $\text{NO}_3\text{-N}$ 标准液)
标准稀释液的制备 (现用现配)：使用前将 1000 $\mu\text{g/mL}$ $\text{NO}_3\text{-N}$ 标准液使用蒸馏水稀释至 240、160、80、40、20、10 $\mu\text{g/mL}$ 即为标准稀释液。			

自备试剂：浓硫酸 (H_2SO_4 , MW=98.078, CAS:7664-93-9)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、浓硫酸和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

按照组织质量（g）：蒸馏水体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，室温研磨至匀浆，90℃恒温水浴中浸提 30 min（密封以防止水分散失，每隔 10 min 颠倒混匀一次），冷却至室温，常温 12000 g 离心 15 min，取上清液于冰上待测。

注：含色素样本需在室温研磨至匀浆后，加入约 3 mg 试剂四再进行后续提取。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 410 nm。

②标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 1000 $\mu\text{g/mL}$ $\text{NO}_3\text{-N}$ 标准液使用蒸馏水稀释至 240、160、80、40、20、10 $\mu\text{g/mL}$ 即为标准稀释液。

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）	1000	1000	160	80	40	20
标准液体积（ μL ）	120	80	250	250	250	250
蒸馏水体积（ μL ）	380	420	250	250	250	250
稀释后浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）	240	160	80	40	20	10

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 （ μL ）	对照管 （ μL ）	标准管 （ μL ）	空白管 （ μL ）
待测样本	10	10	-	-
标准稀释液	-	-	10	-
试剂一	10	10	10	10
充分混匀，室温静置 10 min				
蒸馏水	-	30	-	10
试剂二	30	-	30	30
充分混匀，25℃反应 30 min				
试剂三	700	700	700	700
充分振荡混匀，使沉淀完全溶解				

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，测定 410 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 240、160、80、40、20、10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x ($\mu\text{g/mL}$)。

3.植物硝态氮含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{NO}_3\text{-N } (\mu\text{g/g}) = \frac{x \times V_{\text{提}}}{W} = \frac{x}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{NO}_3\text{-N } (\mu\text{g/mg prot}) = \frac{x}{\text{Cpr}}$$

注释：V 提：待测样本总体积，1 mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL。

四、注意事项

①本试剂盒可特异性去除 5 mg/mL 的亚硝酸根离子，若样本中的亚硝酸根离子高于 5 mg/mL，样本中硝态氮含量是被高估的，会造成结果误差，建议先将样本中亚硝酸根离子稀释至 5 mg/mL 以内，再进行硝态氮含量检测；

②试剂二和试剂三具有强腐蚀性，操作时注意做好防护措施；

③试剂二配制后有效期短，为便于试验安排，附赠一瓶试剂二作为备用，每瓶均可完成至少 50 个样本的检测；

④若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量重新提取后再进行测定，计算时相应修改；

⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

