

植物硝态氮含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC1505

规格: 100T/48S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂二	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 临用前根据用量每支加入 0.5 mL 浓硫酸充分溶解。配制好后尽快使用, 4℃可保存一周。
- 2、标准品: 10 mg 硝酸钾, 临用前加入 0.935 mL 蒸馏水溶解, 配成 1400 µg/mL 的 NO₃-N 标准液。

产品说明:

硝酸盐是植物吸收的主要含氮物质之一。硝酸盐在植物体内的还原部位不同, 可以在根内, 也可以在枝叶内进行, 且因植物类别和环境条件而异。因此, 测定植物体内硝态氮含量变化对了解氮代谢机制有重要的意义。

在浓酸条件下, NO₃⁻可以与水杨酸反应, 生成硝基水杨酸, 后者在PH>12的条件下呈黄色, 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。

技术指标:

最低检出限: 0.4631 µg/mL

线性范围: 3.5-140 µg/mL

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、浓硫酸 (>95%, AR)、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

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 样本, 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 (缠封口膜, 防止爆盖), 期间不断晃动或者置于 90℃恒温摇床中振荡提取 30min (缠封口膜, 防止爆盖), 待冷却后于 25℃, 12000g 离心 15min, 取上清待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上, 调节波长至410nm, 分光光度计蒸馏水调零。
2. 将1400µg/mL NO₃-N标准液用蒸馏水50倍稀释成28µg/mL的标准溶液。
3. 操作表:





试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样本 (μL)	8	8	-	-
标准溶液 (μL)	-	-	8	-
蒸馏水 (μL)	-	12	-	8
试剂一 (μL)	12	-	12	12
充分混匀, 25°C静置30min				
试剂二 (μL)	280	280	280	280
混匀, 涡旋振荡, 使出现的沉淀充分溶解, 取 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 410nm 处吸光值 A, 计算 ΔA=A 测定管-A 对照管, ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。				

三、植物 NO₃-N 的计算

1. 按样本质量计算

$$\text{NO}_3\text{-N 含量 (}\mu\text{g/g 质量)} = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div W = 28 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

2. 按样本蛋白浓度计算

$$\text{NO}_3\text{-N 含量 (}\mu\text{g/mg prot)} = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div (C_{\text{pr}} \times V \text{ 提取}) = 28 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{\text{pr}}$$

W: 样本质量, g; C 标准: 标准溶液浓度, 28μg/mL; V 提取: 样本总体积, 0.3mL; C_{pr}: 样本蛋白浓度, mg/mL。

注意事项:

- 1、试剂一和试剂二均具有强腐蚀性, 操作时需做好防护措施。
- 2、如果样本吸光值大于 1.5, 建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定。

实验实例:

- 1、取 0.1g 苹果加入 1mL 蒸馏水进行样本处理, 取上清后按照测定步骤操作, 使用 96 孔板测得计算 ΔA=A 测定-A 对照=0.333-0.051=0.282, ΔA 标准管=A 标准管-A 空白管=0.320-0.048=0.272, 按样本质量计算含量得:
NO₃-N 含量 (μg/g 质量) = 28 × ΔA ÷ ΔA 标准 ÷ W = 28 × 0.282 ÷ 0.272 ÷ 0.1 = 290.3 μg/g 质量。
- 2、取 0.1g 叶片加入 1mL 蒸馏水进行样本处理, 取上清后按照测定步骤操作, 使用 96 孔板测得计算 ΔA=A 测定-A 对照=0.633-0.458=0.175, ΔA 标准管=A 标准管-A 空白管=0.320-0.048=0.272, 按样本质量计算含量得:
NO₃-N 含量 (μg/g 质量) = 28 × ΔA ÷ ΔA 标准 ÷ W = 28 × 0.175 ÷ 0.272 ÷ 0.1 = 180.1 μg/g 质量。

相关发表文献:

- [1] Xia X, Wei Q, Xiao C, Ye Y, Li Z, Marivingt-Mounir C, Chollet JF, Liu W, Wu H. Genomic survey of NPF and NRT2 transporter gene families in five inbred maize lines and their responses to pathogens infection. Genomics. 2023 Mar;115(2):110555. doi: 10.1016/j.ygeno.2022.110555. Epub 2022 Dec 31. PMID: 36596368.
- [2] Li Z, Chen Q, Xin Y, Mei Z, Gao A, Liu W, Yu L, Chen X, Chen Z, Wang N. Analyses of the photosynthetic characteristics, chloroplast ultrastructure, and transcriptome of apple (Malus domestica) grown under red and blue lights. BMC Plant Biol. 2021 Oct 23;21(1):483. doi: 10.1186/s12870-021-03262-5. PMID: 34686132; PMCID: PMC8539889.
- [3] Fuyuan Zhu, Moxian Chen, Wailung Chan, et al. SWATH-MS quantitative proteomic investigation of nitrogen starvation in Arabidopsis reveals new aspects of plant nitrogen stress responses. Journal of Proteomics. September 2018;(IF3.537)



相关系列产品:

- BC0080/BC0085 硝酸还原酶 (NR) 活性检测试剂盒
BC1450/BC1455 谷氨酰胺酶 (GLS) 活性检测试剂盒
BC1460/BC1465 谷氨酸脱氢酶 (GDH) 活性检测试剂盒

