

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ258

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(405-415 nm)

Elabscience®植物硝态氮比色法测试盒

Plant Nitrate Nitrogen Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物组织或土壤样本中硝态氮的含量。

检测原理

硝态氮在强酸性环境中可与水杨酸反应生成硝基水杨酸。硝基水杨酸在强碱性条件下呈黄色，在 410 nm 波长下颜色的深浅与含量成正比。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	显色剂 1 (Chromogenic Agent 1)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 2 (Chromogenic Agent 2)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。对于粉剂，使用前请先离心，以免造成试剂损失。

所需自备物品

仪器：酶标仪(405-415 nm，最佳检测波长 410 nm)、涡旋混匀仪、恒温水浴锅、离心机

耗材：枪头(1000 μL，200 μL，10 μL)、EP 管(1.5 mL)

试剂：硝酸钾、浓硫酸

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃。

② 反应液的配制：

取一瓶试剂一加入2.4 mL浓硫酸，充分混匀，静置至液体澄清透亮。未使用完的溶液可在4℃避光保存一周。

③ 500 µg/mL标准品的配制：

称取3.61 mg硝酸钾试剂，加入1 mL双蒸水，未使用的溶液-20℃避光可保存一周。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(µg/mL)	0	10	20	40	80	120	160	200
500 µg/mL 标准品(µL)	0	10	20	40	80	120	160	200
双蒸水(µL)	500	490	480	460	420	380	340	300

样本准备

① 样本处理

组织样本:按照样本质量(g): 双蒸水体积 (mL)=1: 4的比例 (如称取0.1 g 的组织样本, 加入0.4 mL的双蒸水) 进行匀浆处理。匀浆后置于沸水浴中浸提 30 min, 然后将样本置于流水中冲洗, 待样本冷却至室温, 10000 × g离心15 min, 取上清, 置于冰上待用。

土壤样本: 新鲜土壤样本自然风干或 37℃烘箱风干, 过 30~50 目筛。按照土壤质量(g):双蒸水体积 (mL)= 1: 4 的比例, 每 0.1 g 土壤样本加入 0.4 mL 双蒸水, 进行匀浆。10000 × g 离心 15 min, 取上清, 置于冰盒中待用。

② 样本的稀释

在正式检测前, 需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 1.09-200 μg/mL, 请参看下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
20%绿萝根组织	不稀释	20%土壤	不稀释
20%玉米叶组织	不稀释	20%青椒组织	不稀释

注: 稀释液为双蒸水。

实验关键点

- ① 确保反应液充分混匀。
- ② 反应液黏度很高, 取用时要小心缓慢。
- ③ 反应液和试剂二都为强腐蚀性液体, 操作时请注意防护。

操作步骤

- ① 标准管：取 10 μ L 不同浓度标准品，加入到对应的标准管中；
 样本管：取 10 μ L 待测样本，加入到样本管中。
- ② 向①中各管加入 50 μ L 反应液。
- ③ 充分混匀，室温静置 3 min。
- ④ 向步骤③中各管加入 950 μ L 试剂二。
- ⑤ 充分混匀，从 EP 管中取出 200 μ L 溶液加到酶标板孔中，在酶标仪 410 nm 处测定各孔 OD 值。

操作表

	标准管	样本管
不同浓度标准品(μ L)	10	--
待测样本(μ L)	--	10
反应液(μ L)	50	50
充分混匀，室温静置 3 min		
试剂二(μ L)	950	950
充分混匀，从 EP 管中取出 200 μ L 溶液加到酶标板孔中， 在酶标仪 410 nm 处测定各孔 OD 值。		

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

组织样本中硝态氮含量的计算公式：

$$\text{硝态氮含量} = (\Delta A - b) \div a \times V \div m \times f$$

(μg/g)

注解：

y：标准品 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：硝态氮浓度，μg/mL

a：标曲斜率

b：标曲截距

ΔA：样本孔 OD 值-空白孔 OD 值

m：组织湿重或土壤质量，建议 m 取 0.1 g

V：样本处理过程中加入双蒸水的体积，建议 V 取 0.4 mL

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

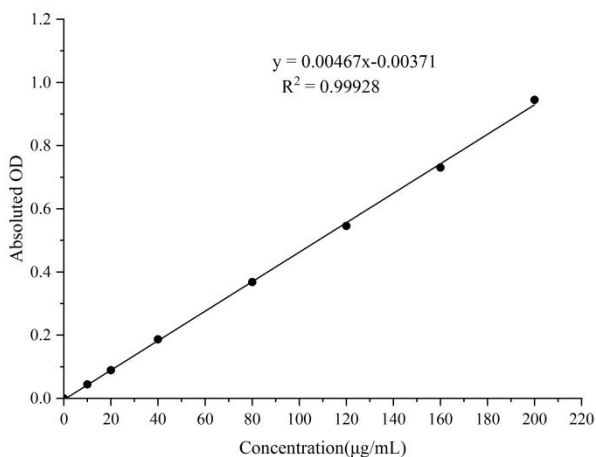
1. 技术参数

检测范围	1.09-200 µg/mL	平均批间差	3.2-5.1%
灵敏度	1.09 µg/mL	平均批内差	1.5-4.3%
平均回收率	96%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量10 µL，按照操作步骤进行实验，测得各浓度标准品OD值如下表所示：

标准品浓度 (µg/mL)	0	10	20	40	80	120	160	200
OD 值	0.045	0.089	0.135	0.229	0.420	0.599	0.775	0.994
	0.047	0.091	0.135	0.236	0.408	0.584	0.779	0.988
平均 OD 值	0.046	0.090	0.135	0.233	0.414	0.592	0.777	0.991
绝对 OD 值	0.000	0.044	0.089	0.187	0.368	0.546	0.731	0.945



②按上表数据绘制标准曲线，如下图所示：

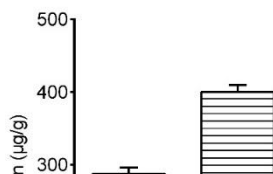
附录2 实例分析

例如检测绿萝根组织(数据仅供参考):

剪碎绿萝根组织样本，称取0.1 g组织样本，加入0.5 mL双蒸水，常规匀浆处理，匀浆后置于沸水浴中浸提30 min，然后将样本置于流水中冲洗，待样本冷却至室温，10000 × g离心15 min，取上清待测。取10 μL样本进行检测，按操作表操作，结果如下：硝态氮的标准曲线： $y = 0.0047x - 0.0037$ ，测定孔OD值为0.310，空白孔OD值为0.046，计算结果为：

$$\text{硝态氮含量} = (0.310 - 0.046 + 0.0037) \div 0.0047 \times 0.4 \div 0.1 = 227.83 \mu\text{g/g}$$

按照说明书操作，测定绿萝根（20%组织匀浆，加样量10 μL）、土壤（20%匀浆，加样量10 μL）、玉米叶（20%组织匀浆，加样量10 μL）、青椒（20%组织匀浆，加样量10 μL）中硝态氮含量（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数, 重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本, 重新检测
样本测量结果过大	样本浓度太高	选择合适稀释倍数, 重新检测
	样本杂质干扰	对样本进行除杂

声明

1. 试剂盒仅供研究使用, 如将其用于临床诊断或任何其他用途, 我公司将不对因此产生的问题负责, 亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器, 严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责, 不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责, 使用前请充分考虑样本可能的使用量, 预留充足的样本。

