

## 土壤硝态氮试剂盒说明书

(货号: G0319W 微板法 96 样)

### 一、产品简介:

硝态氮是指硝酸盐中所含有的氮元素, 土壤中的有机物分解生成铵盐, 被氧化后变为硝态氮。土壤中硝态氮是高等植物吸收氮的主要形式之一, 其含量直接关系到作物的产量与品质。

土壤浸出液中硝酸根离子在 220nm 有明显光吸收而在 275nm 波长处没有吸收峰, 通过测定土壤浸出液在 275nm 处的吸光度, 乘以一个校正因素 f 以消除有机质在 220nm 波长处的光吸收干扰。进而得到土壤中硝态氮的含量。

### 二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 g×1 瓶	4℃ 保存	临用前先加 50mL 的蒸馏水, 全部转移到量筒 (自备) 中, 再加蒸馏水定容至 600mL。
标准品	液体×1 支	4℃ 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔 UV 板 (用于紫外光波长下的测定)、蒸馏水、天平、常温离心机、量筒、振荡培养箱。

### 四、土壤硝态氮的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

#### 1、样本处理

取约 1g 新鲜土样, 若鲜土呈松散状, 尽可能过 40 目筛网备用。

**【注】:** 1、土壤经风干或烘干易引起  $\text{NO}_3^-$ -N 变化, 故一般都用新鲜土样测定。

2、硝酸根为阴离子, 不为土壤胶体吸附, 且易溶于水, 很易在土壤内部移动, 在土壤剖面上下层移动频繁, 因此测定硝态氮时注意采样深度。

#### 2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上。

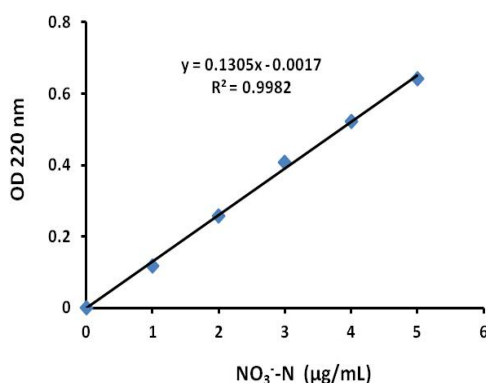
② 在 5mLEP 管中加入:

	测定管	空白管 (仅做一次)
鲜土 (g)	1	
试剂一 (mL)	5	5
25℃, 220rpm/min 往复式振荡培养 1h, 混匀 (成浑浊液状态) 用慢速定性滤纸过滤, 澄清的滤液待测。		
取 200 $\mu$ L 滤液至 96 孔板中, 220nm 分别读吸光值 A1、A2, 再于 275nm 分别读吸光值 A3、A4;		
A 测定管=A1-(A3×f), A 空白管=A2-(A4×f) $\Delta A=A$ 测定管-A 空白管 注: f 为校正因素 2.23。		

**【注】** 若测定管于 220nm 的 A 值大于 1, 需用试剂一稀释滤液使 A220nm 的值在 1 以内, 稀释倍数 D 需代入公式计算。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.1305x - 0.0017$ ； $x$  为标准品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )， $y$  为吸光值 $\Delta A$ 。



2、土壤硝态氮( $\text{NO}_3\text{-N}$ )含量( $\text{mg/kg}$  鲜土)  $= (\Delta A + 0.0017) \div 0.1305 \times V \div W \times D$   
 $= 38.32 \times (\Delta A + 0.0017) \div W \times D$

V---反应总体积，5mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---实际称取鲜土质量，g。

**【注】：**最低检出限为  $0.5\mu\text{g/g}$ 。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液 ( $100\mu\text{g/mL}$ )。
- 2 用试剂一把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 1, 2, 3, 4, 5.  $\mu\text{g/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 直接取不同浓度的标准品  $200\mu\text{L}$  至 96 孔板中，分别于 220nm 和 275nm 读吸光值  $A_1$ 、 $A_2$ ， $A$  标准品  $= A_1 - (A_2 \times f)$ 。根据结果即可制作标准曲线。