

土壤铵态氮试剂盒说明书

(货号: BP10112W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

氮元素以铵根离子的形态存在并流通于土壤中, 为土壤铵态氮。其溶解度大, 易被植物吸收, 所以常被用作化肥。本试剂盒采用氯化钾溶液浸提, 浸提液中的铵态氮在强碱的环境下与次氯酸盐和苯酚作用, 生成水溶性染料靛酚蓝, 溶液颜色稳定。其在 625nm 处有特征吸收峰, 吸光值与铵态氮含量成正比。

二、试剂盒组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 12mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	A: 液体 3mL×4 瓶 B: 液体 1 支	4℃保存	1. 临用前取 26 μL 的 B 液进一瓶 A 液中, 混匀后作为试剂二使用; 2. 混匀后的试剂二于一周内用完。
		4℃避光保存	
试剂三	液体 2mL×1 支	4℃保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	1. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

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

1、样本提取:

称取约 0.1g 新鲜土样, 加入 1mL 提取液, 涡旋混匀, 室温振荡提取 1h, 12000rpm 常温离心 10min, 取上清液。

2、检测步骤:

- ① 酶标仪预热 30min, 设置温度在 25℃, 设定波长为 625nm。
- ② 所有试剂在使用前均须在室温或 25℃水浴锅中温育 10min。
- ③ 在 96 孔板中按照下表依次加入试剂:

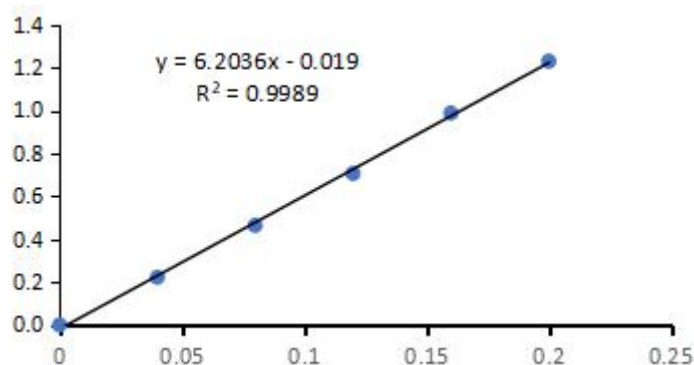
试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	20	
提取液		20
试剂一	100	100
试剂二	100	100

充分混匀，25℃静置 1h		
试剂三	20	20
充分混匀，于 625nm 处测定吸光值，分别记为 A 测定管和 A 空白管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】若 ΔA 在零附近徘徊，可增加土壤质量 W（如增至 0.3g），或在反应阶段增加样本加样量 V1（如增至 80 μ L，则试剂一和试剂二分别减至 70 μ L，总体积保持不变），改变后的 W 和 V1 需重新代入公式计算。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 6.2036x - 0.019$ ；x 是标准品质量（ μ g），y 是 ΔA 。



2、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量(mg/kg 鲜土)=[$(\Delta A + 0.019) \div 6.2036$] $\div (W \times V1 \div V)$
 $= 8.06 \times (\Delta A + 0.019) \div W$

V1---反应体系中加入样本体积，0.02mL；

V---加入提取液体积，1mL；

W---样本质量，g。

附：标准曲线制作过程：

- 1 标准品母液（1mg/mL 的氮）：
- 2 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 2, 4, 6, 8, 10 μ g/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 按照测定管操作表加样操作，依据结果制作标准曲线。

附：标准曲线制作过程：

- 1 标准品母液浓度为 1mg/mL。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 2, 4, 6, 8, 10 μ g/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。
- 2 标品稀释参照表如下：

1. 吸取标准品母液 100 μ L，加入 900 μ L 蒸馏水，混匀得到 100 μ g/mL 的标品稀释液；						
2. 再吸取 100 μ g/mL 的标品稀释液 100 μ L，加入 900 μ L 蒸馏水，混匀得到 10 μ g/mL 的标品稀释液备用。						
标品浓度 μ g/mL	0	2	4	6	8	10
标品稀释液 μ L	0	40	80	120	160	200
水 μ L	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	20	
蒸馏水		20
试剂一	100	100
试剂二	100	100
充分混匀，25℃静置 1h		
试剂三	20	20
充分混匀，于 625nm 处测定吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - 0$ 浓度管。		