

土壤硝态氮试剂盒说明书

(货号: BP10132W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	粉剂 1 瓶	4℃保存	1. 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; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准品	液体 1mL×1 支	4℃避光保存	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 (UV 板)、离心管、酶标仪、量筒、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, 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 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、检测步骤:

① 酶标仪预热 30min 以上。

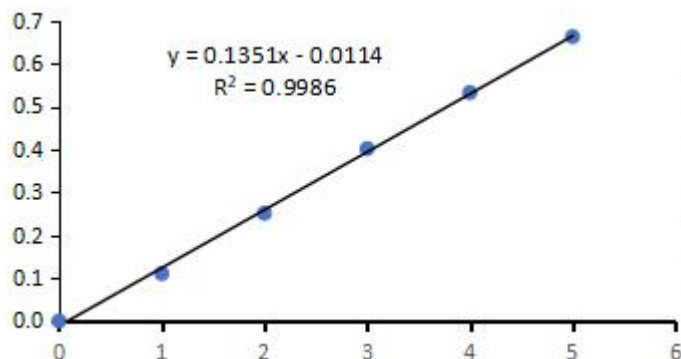
② 在 5mLEP 管中加入:

	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 200μL 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) ΔA=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： $y = 0.1351x - 0.0114$ ；x 为标准品浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ），y 为吸光值 ΔA 。



2、土壤硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)含量(mg/kg 鲜土) = $(\Delta A + 0.0114) \div 0.1351 \times V \div W \times D$
 $= 37.01 \times (\Delta A + 0.0114) \div W \times D$

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 标准品母液浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ 。将母液用试剂一稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 1, 2, 3, 4, 5. $\mu\text{g/mL}$ 。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：

吸取标准品母液 50uL，加入 950uL 蒸馏水，混匀得到 5ug/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 $\mu\text{g/mL}$	0	1	2	3	4	5
标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
水 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3 依据加样表操作，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 (uL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	200	
蒸馏水		200
分别于 220nm 和 275nm 读吸光值 A1、A2, A 标准品 = $A1 - (A2 \times f)$, 注：f 为矫正因素 2.23。		

