

土壤硝态氮试剂盒说明书

(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 1mL×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 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。

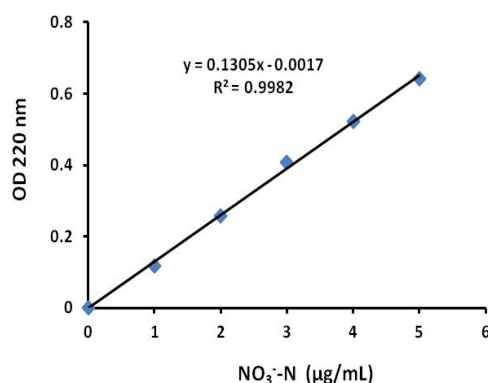
② 在 5mLEP 管中加入：

	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 μL 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) $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}$ 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 ΔA 。



2、土壤硝态氮(NO_3^- -N)含量(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 μL 至 96 孔板中，分别于 220nm 和 275nm 读吸光值 A1、A2，A 标准品=A1-(A2 \times f)。根据结果即可制作标准曲线。