

## 土壤铵态氮试剂盒说明书

(货号：ADS-F-N010 分光法 48 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 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 22mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂二	A: 液体 6mL×4 瓶 B: 液体 1 支	4°C保存	1. 临用前取 55μL 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°C避光保存	
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4°C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）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、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：

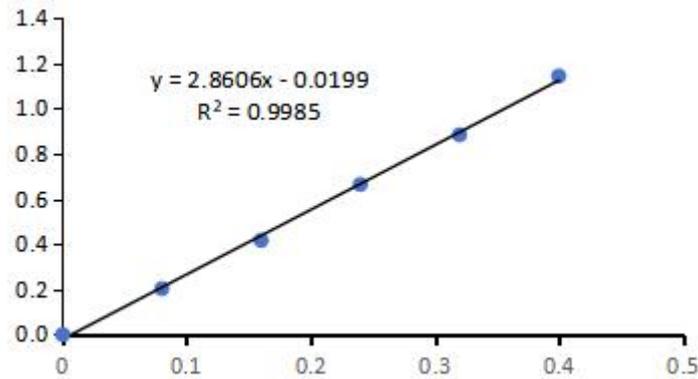
- ① 可见分光光度计预热 30min，设置温度在 25°C，设定波长为 625nm，蒸馏水调零。
- ② 所有试剂在使用前均须在室温或 25°C 水浴锅中温育 10min。
- ③ 在 EP 管中按照下表依次加入试剂：

试剂 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	80	
提取液		80
试剂一	400	400
试剂二	400	400
充分混匀，25°C 静置 1h		
试剂三	80	80
充分混匀，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿，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 $\Delta A$  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  $V_1$ （如增至 200 $\mu$ L，则试剂一和试剂二分别减至 340 $\mu$ L，总体积保持不变），改变后的  $W$  和  $V_1$  需重新代入公式计算。

## 五、计算公式：

1、标准曲线： $y = 2.8606x - 0.0199$ ； $x$  是标准品质量（ $\mu$ g）， $y$  是 $\Delta A$ 。



2、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  含量(mg/kg 鲜土)=[ $(\Delta A+0.0199) \div 2.8606$ ] $\div (W \times V_1 \div V)$   
=4.37 $\times (\Delta A+0.0199) \div W$

$V_1$ ---反应体系中加入样本体积，0.08mL；

$V$ ---加入提取液体积，1mL；

$W$ ---样本质量，g

附：标准曲线制作过程：

- 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, 1, 2, 3, 4, 5  $\mu$ g/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。
- 标品稀释参照表如下：

1. 吸取标准品母液 100 $\mu$ L，加入 900 $\mu$ L 蒸馏水，混匀得到 100 $\mu$ g/mL 的标品稀释液；						
2. 再吸取 100 $\mu$ g/mL 的标品稀释液 50 $\mu$ L，加入 950 $\mu$ L 蒸馏水，混匀得到 5 $\mu$ g/mL 的标品稀释液备用。						
标品浓度 $\mu$ 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。						

- 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 ( $\mu$ L)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	80	
蒸馏水		80
试剂一	400	400
试剂二	400	400

充分混匀，25°C静置 1h		
试剂三	80	80
充分混匀，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿，于 625nm 处测定吸光值， $\Delta A=A$ 测定-0 浓度管。		

