

## 土壤硝态氮试剂盒说明书

(货号：ADS-F-N011-48 紫外法 48 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°C 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 300mL，混匀，备用。； 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准品	液体 1mL×1 支	4°C 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）、1ml 石英比色皿、离心管、紫外分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

### 四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

#### 1、样本处理

取约 1g 新鲜土样，过 40 目筛网备用。

【注】：1、土壤经风干或烘干易引起 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-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 紫外分光光度计预热 30min 以上。

② 在 5mLEP 管中加入：

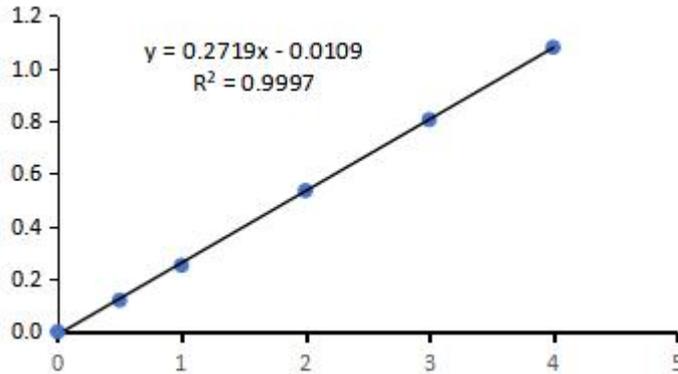
	测定管	空白管（仅做一次）
鲜土（g）	1	
试剂一（mL）	5	5
25°C，220rpm/min 往复式振荡培养 1h， 混匀（成浑浊液状态）用慢速定性滤纸过滤，澄清的滤液待测。		
取 1mL 至 1mL 石英比色皿中，220nm 分别读吸光值 A1、A2， 再于 275nm 分别读吸光值 A3、A4；		
A 测定管=A1-(A3×f)，A 空白管=A2-(A4×f) ΔA=A 测定管-A 空白管		

注：f 为矫正因素 2.23。

【注】若测定管于 220nm 的 A 值大于 1，需用试剂—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： $y = 0.2719x - 0.0109$ ；x 为标准品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )，y 为  $\Delta A$ 。



2、土壤硝态氮( $\text{NO}_3^-$ -N)含量( $\text{mg/kg}$  鲜土)=[ $(\Delta A + 0.0109) \div 0.2719 \times V$ ] $\div W \times D$   
=18.39 $\times (\Delta A + 0.0109) \div W \times D$

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—稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 0.5, 1, 2, 3, 4  $\mu\text{g/mL}$ 。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 150uL，加入 3600uL 蒸馏水，混匀得到 4ug/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 $\mu\text{g/mL}$	0	0.5	1	2	3	4
标品稀释液 uL	0	125	250	500	750	1000
水 uL	1000	875	750	500	250	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	1000	
蒸馏水		1000
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。		

