

土壤铵态氮试剂盒说明书

(微板法 96 样)

一、产品简介：

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：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	粉剂×2 瓶	4℃ 保存	用前每瓶加入 6mL 蒸馏水，现配现用
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂三	液体 2mL×1 瓶	4℃ 保存	
标准品	液体×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 孔板、常温离心机、移液器、蒸馏水、振荡仪。

四、土壤铵态氮的测定：

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、样本制备：

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、上机检测：

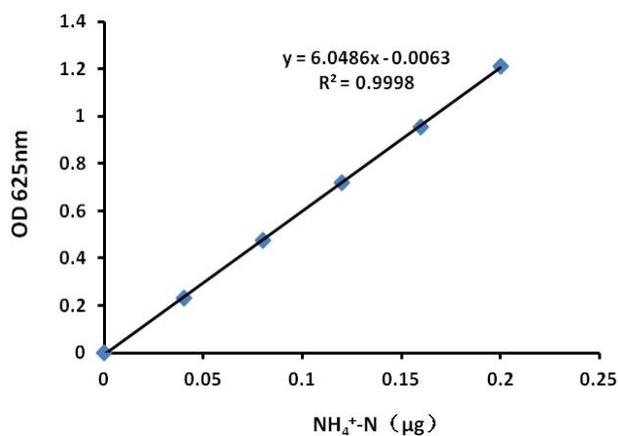
- ① 酶标仪预热 30min，设置温度在 25℃，设定波长为 625nm。
- ② 所有试剂在使用前均须在室温或 25℃ 水浴锅中温育 10min。
- ③ 在 96 孔板中按照下表依次加入试剂：

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 80μL，则试剂一和试剂二分别减至 70μL，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： $y = 6.0486x - 0.0063$ ；x 是标准品质量 (μg)，y 是 ΔA 。



$$\begin{aligned} 2、\text{NH}_4^+-\text{N 含量}(\text{mg}/\text{kg 鲜土}) &= [(\Delta A + 0.0063) \div 6.0486] \div (W \times V1 \div V) \\ &= 8.27 \times (\Delta A + 0.0063) \div W \end{aligned}$$

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 µg/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。