

# 土壤铵态氮含量检测试剂盒说明书

微量法

货号：AC10326

规格：100T/96S

**产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 100 mL×1 瓶	-20°C保存
试剂一 A	液体 1 mL×1 支	4°C保存
试剂一 B	液体 4 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 2.5 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	4°C保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前将试剂一 A 加入试剂一 B 中混匀备用，或按比例现用现配；
- 2、标准品：100 $\mu$ g/mL  $\text{NH}_4^+$ -N 标准液。

**产品说明：**

土壤铵态氮是土壤速效氮的重要组成部分，可以被植物直接吸收利用。铵态氮指标对农业生产具有极其重要的作用。

在强碱介质中，土壤中的铵态氮与次氯酸盐和苯酚作用，生成靛酚蓝染料，在630nm处有特征吸收峰，吸光值与铵态氮含量成正比。

**技术指标：**最低检出限：0.1314  $\mu$ g/mL线性范围：0.15625-18  $\mu$ g/mL

**注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

**需自备的仪器和用品：**

可见分光光度计/酶标仪、天平、离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、振荡器、30~50目筛、研钵、恒温水浴锅。

**操作步骤：****一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）**

按照土样质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 新鲜土样，加入 1mL 提取液），振荡提取 1h，10000g，25°C离心 10min，取上清液待测。

**二、测定步骤**

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min，波长调至630nm，蒸馏水调零。
2. 将100 $\mu$ g/mL氮标准液用蒸馏水稀释至2.5 $\mu$ g/mL备用。
3. 加样表：

试剂名称 (μL)	空白管	标准管	测定管
样本	-	-	120
蒸馏水	120	-	-
标准品	-	120	-
试剂一	24	24	24
试剂二	18	18	18
充分混匀, 于室温25°C放置30min			
蒸馏水	138	138	138
充分混匀后吸取 200μL 于微量玻璃比色皿或 96 孔板中测定 630nm 处吸光值, 记为 A 空白管、A 标准管、A 测定管。计算 $\Delta A$ 标准=A 标准管-A 空白管, $\Delta A$ 测定=A 测定管-A 空白管。			

### 三、计算公式

$$\text{NH}_4^+\text{-N} (\mu\text{g/g 土样}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{提取}} \div W = 2.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

C标准液: 标准液浓度, 2.5μg/mL; V提取: 提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g。

### 注意事项:

- 1、土壤经风干或者烘干很容易引起铵态氮的变化, 所以建议采用新鲜土壤进行测定。样品采集后应于 4°C 下密封运输和保存, 并在 3d 内分析完毕。否则, 应于 -20°C (深度冷冻) 下以小块、小份保存, 样品中氮氮可以保存数周。当测定深度冷冻氮氮含量时, 应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时, 需在 4 h 内完成样品解冻、匀质化和提取; 如果在 4°C 下解冻, 解冻时间不应超过 48 h。
- 2、如果要比较不同样本间的铵态氮含量, 需将土样烘干, 按干重计算后再进行比较。
- 3、试剂一避光 4°C 保存, 变色后不能使用。
- 4、如果样本吸光值大于 1.4, 建议将样本用提取液稀释后进行测定。

### 实验实例:

- 1、取 0.1g 三叶草土加入 1mL 提取液震荡提取 1h 离心, 取上清之后按照测定步骤操作, 使用 96 孔板测得计算  $\Delta A$  测定管=A 测定管-A 空白管=0.144-0.062=0.082,  $\Delta A$  标准=A 标准管-A 空白管=0.326-0.062=0.264, 按样本质量计算含量得:

$$\text{NH}_4^+\text{-N} (\mu\text{g/g 土样}) = 2.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 2.5 \times 0.082 \div 0.264 \div 0.1 = 7.77 \mu\text{g/g 土样}。$$

- 2、取 0.1g 林土加入 1mL 提取液震荡提取 1h 离心, 取上清之后按照测定步骤操作, 使用 96 孔板测得计算  $\Delta A$  测定管=A 测定管-A 空白管=0.131-0.062=0.069,  $\Delta A$  标准=A 标准管-A 空白管=0.326-0.062=0.264, 按样本质量计算含量得:

$$\text{NH}_4^+\text{-N} (\mu\text{g/g 土样}) = 2.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 2.5 \times 0.069 \div 0.264 \div 0.1 = 6.53 \mu\text{g/g 土样}。$$