

## 土壤铵态氮试剂盒说明书

(货号: G0320W 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	A: 液体 10mL×1 瓶 B: 液体 $\mu$ L×1 支	4℃ 保存	用前向 A 液中加入 100 $\mu$ L 的 B 液, 混匀后作为试剂二使用。仍 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:

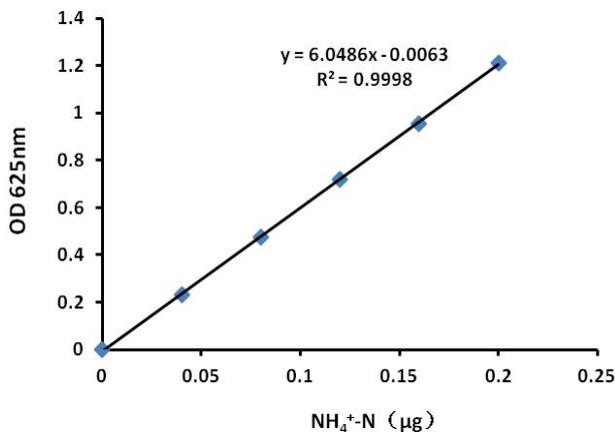
- ① 酶标仪预热 30min, 设置温度在 25℃, 设定波长为 625nm。
- ② 所有试剂在使用前均须在室温或 25℃ 水浴锅中温育 10min。
- ③ 在 96 孔板中按照下表依次加入试剂:

试剂 ( $\mu$ L)	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  $\Delta A$  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 V1 (如增至 80 $\mu$ L, 则试剂一和试剂二分别减至 70 $\mu$ L, 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 ( $\mu\text{g}$ )，y 是 $\Delta A$ 。



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 $\times (\Delta A + 0.0063) \div W$

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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。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。