

## 土壤硝态氮试剂盒说明书

微量法100T/96S

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

## 测定意义

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。**测定原理**

在浓酸条件下，NO<sub>3</sub><sup>-</sup>与水杨酸反应，生成硝基水杨酸，硝基水杨酸在碱性条件下（PH>12）呈黄色，在一定范围内，其颜色深浅与含量成正比，可比色测定计算得硝态氮含量。

## 自备实验用品及仪器

蒸馏水、天平、常温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、振荡仪。

## 试剂组成和配制

试剂一：粉剂×2支，4℃避光保存。临用前根据用量每支加1mL浓硫酸充分溶解。

试剂二：液体50mL×1瓶，4℃保存。

## 样本处理

按照土壤质量（g）：蒸馏水体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g新鲜土样，加入1mL蒸馏水）加入蒸馏水，置于振荡仪中振荡提取1h，25℃，10000g离心10min，取上清待测。

## 测定操作表

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至410nm，蒸馏水调零。
2. 操作表（于EP管中加入下列试剂）

	空白管	测定管
样本（μL）		10
蒸馏水（μL）	10	
试剂一（μL）	20	20
充分混匀，25℃静置30min		
试剂二（μL）	475	475
混匀，涡旋振荡，使出现的沉淀充分溶解，转移200μL至微量石英比色皿/96孔板中测定410nm处吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

## 计算公式

- a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线:  $y=0.0156x+0.0073$ ,  $R^2=0.9997$

$\text{NO}_3\text{---N}$ 含量 (mg/kg鲜重) =  $(\Delta A-0.0073) \div 0.0156 \div (W \div V\text{样总})$

$$=64.1 \times (\Delta A-0.0073) \div W$$

V样总: 加入提取液体积, 1mL, W: 样本质量, g

b. 用96孔板测定的计算公式如下

标准曲线:  $y=0.0078x+0.0073$ ,  $R^2=0.9997$

$\text{NO}_3\text{---N}$  (mg/kg鲜重) =  $(\Delta A-0.0073) \div 0.0078 \div (W \div V\text{样总})$

$$=128.2 \times (\Delta A-0.0073) \div W$$

V样总: 加入提取液体积, 1mL, W: 样本质量, g

#### 注意事项

1. 硝酸根不为土壤胶体吸附, 且易溶于水, 很容易在土壤内部移动, 所以测定此指标时应注意采样深度一致。
2. 土壤经风干或者烘干很容易引起 $\text{NO}_3\text{---N}$ 的变化, 所以最好采用新鲜土壤进行测定, 以准确反映该指标含量。
3. 试剂一配制好后尽快使用, 4°C可保存一周。
4. 试剂一和试剂二均具有强腐蚀性, 操作时需做好防护措施。
5. 最低检出限为100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。