

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_3^- 与水杨酸反应，生成硝基水杨酸，硝基水杨酸在碱性条件下（ $\text{PH}>12$ ）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 200 μL 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： $y=0.0156x+0.0073$ ， $R^2=0.9997$

$$\text{NO}_3^- - \text{N} \text{ 含量 (mg/kg 鲜重)} = (\Delta A - 0.0073) \div 0.0156 \div (W \div V \text{ 样总}) \\ = 64.1 \times (\Delta A - 0.0073) \div W$$

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

$$\text{NO}_3^- - \text{N} \text{ (mg/kg 鲜重)} = (\Delta A - 0.0073) \div 0.0078 \div (W \div V \text{ 样总}) \\ = 128.2 \times (\Delta A - 0.0073) \div W$$

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℃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 100μg/kg。