

土壤硝态氮含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0045

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂二	液体 40 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

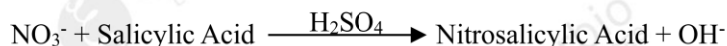
溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前取 1 支加入 1 mL 浓硫酸充分溶解。配制好后尽快使用，2-8℃可保存一周。
- 2、标准品：10 mg 硝酸钾。临用前加入 1.386 mL 蒸馏水溶解，配成 1000 µg/mL 的 NO₃⁻-N 标准液，2-8℃保存两周。

产品说明：

硝态氮是指硝酸盐中所含有的氮元素，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。

在浓酸条件下，NO₃⁻与水杨酸反应生成硝基水杨酸，在碱性条件下（pH>12）呈黄色，其颜色深浅与含量成正比，即可计算得硝态氮含量。



技术指标：

最低检出限：0.2155 µg/mL

线性范围：0.78125-200 µg/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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液枪、振荡器、浓硫酸（>95%，AR）、蒸馏水。

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）

按照土壤质量（g）：蒸馏水体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 土样，加入 1mL 蒸馏水）加入蒸馏水，置于振荡仪中振荡提取 1h，10000g，25℃离心 10min，取上清待测。（土样要求参考注意事项 1.2.3.）

二、测定步骤

1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 410nm，分光光度计用蒸馏水调零。





2、标准溶液的稀释：取 25 μ L 1000 μ g/mL NO₃⁻-N 标准液，加入 975 μ L 蒸馏水，充分混匀，配制成 25 μ g/mL 标准液使用，现用现配。（实验中每管需要 8 μ L，为减小实验误差，故配制大体积）。

3、操作表：

试剂名称（ μ L）	测定管	标准管	空白管
样本	8	-	-
标准溶液	-	8	-
蒸馏水	-	-	8
试剂一	12	12	12
充分混匀，置于 25°C 水浴锅反应 30min			
试剂二	280	280	280
涡旋振荡，使出现的沉淀充分溶解，取 0.2mL 反应液于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 410nm 处吸光值 A，记为 A 测定管，A 标准管，A 空白管。计算 ΔA 测定=A 测定管-A 空白管， ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。标准管与空白管只需测 1-2 次。			

三、NO₃⁻-N 含量的计算

NO₃⁻-N 含量（ μ g/g 土样）= ΔA 测定 $\div$ （ ΔA 标准 $\div$ C 标准） $\times$ V 提取 $\div$ W=25 $\times$ ΔA 测定 $\div$ ΔA 标准 $\div$ W

W：样本质量，g；C 标准：标准溶液浓度，25 μ g/mL；V 提取：提取液体积，1mL。

注意事项：

- 1、土壤胶体不吸附硝酸根离子，且其易溶于水，在土壤内部移动，所以测定多个样本或者重复样本室注意保持相同的采样深度。
- 2、土壤经风干或者烘干很容易引起硝态氮含量的变化，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，样品中硝酸盐氮可以保存数周。当测定深度冷冻的硝酸盐氮含量时，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。
- 3、如果要比较不同样本间的硝态氮含量，需将土样烘干，按干重计算后再进行比较。
- 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、如果吸光值大于 1.5，建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定。

实验实例：

- 1、取 0.1g 土样加入 1mL 蒸馏水震荡提取 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 ΔA 测定=A 测定-A 空白=0.161-0.049=0.112， ΔA 标准=0.296-0.049=0.247，按土壤质量计算 NO₃⁻-N 含量得：
NO₃⁻-N 含量（ μ g/g 土样）=25 $\times$ ΔA 测定 $\div$ ΔA 标准 $\div$ W=25 $\times$ 0.112 $\div$ 0.247 $\div$ 0.1=113.36 μ g/g 土样。
- 2、取 0.1g 林土加入 1mL 蒸馏水震荡提取 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 ΔA 测定=A 测定-A 空白=0.132-0.049=0.083， ΔA 标准=0.296-0.049=0.247，按土壤质量计算 NO₃⁻-N 含量得：
NO₃⁻-N 含量（ μ g/g 土样）=25 $\times$ ΔA 测定 $\div$ ΔA 标准 $\div$ W=25 $\times$ 0.083 $\div$ 0.247 $\div$ 0.1=84 μ g/g 土样。

相关发表文献：

[1] Yan JF, Xiang L, Zhang BY, Tang C, Xie YQ, Li YW, Feng NX, Liu BL, Li H, Cai QY, Li QX, Zhao HM, Mo CH. Mechanism and Association between Microbial Nitrogen Transformation in Rhizosphere and Accumulation of



Ciprofloxacin in Choysum (*Brassica parachinensis*). *Environ Sci Technol*. 2023 Oct 24;57(42):16053-16064. doi: 10.1021/acs.est.3c04709. Epub 2023 Oct 12. PMID: 37824517.

[2] Wang M, Qi X, Shi Y, Zhao J, Ahmad S, Akhtar K, Chen B, Lian T, He B, Wen R. Sugarcane straw returning is an approaching technique for the improvement of rhizosphere soil functionality, microbial community, and yield of different sugarcane cultivars. *Front Microbiol*. 2023 Mar 14; 14:1133973. doi: 10.3389/fmicb.2023.1133973. PMID: 36998394; PMCID: PMC10043380.

参考文献:

[1] Vendrell P F, Zupancic J. Determination of soil nitrate by transnitration of salicylic acid[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1990, 21(13-16): 1705-1713.

[2] Cataldo D A, Maroon M, Schrader L E, et al. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid[J]. *Communications in soil science and plant analysis*, 1975, 6(1): 71-80.

相关系列产品:

BC2890/BC2895 土壤总磷/有机磷和无机磷含量检测试剂盒

BC3020/BC3025 土壤有效硼含量检测试剂盒

