

## 土壤铵态氮含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC1515

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   |
|-------|---------------|--------|
| 提取液   | 液体 100 mL×1 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂一 A | 液体 1 mL×1 支   | 2-8℃保存 |
| 试剂一 B | 液体 4 mL×1 瓶   | 2-8℃保存 |
| 试剂二   | 液体 2.5 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 标准品   | 液体 1 mL×1 支   | 2-8℃保存 |

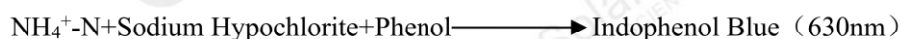
**溶液的配制:**

- 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; 避光 2-8℃可保存 2 周。若变色则不能继续使用。
- 2、标准品: 100 µg/mL  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  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 µg/mL

线性范围: 0.15625-18 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、天平、台式离心机、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℃离心 10min, 取上清液待测。(土样要求参考注意事项 1.2.)

**二、测定步骤**



1. 分光光度计/酶标仪预热30min，波长调至630nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 标准液稀释：临用前取20μL 100μg/mL氮标准液，加入780μL蒸馏水，充分混匀，配制成2.5μg/mL标准液使用，现用现配。（实验中每管需要120μL，为减小实验误差，故配制大体积。）
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℃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。标准管和空白管只需测 1-2 次。 |     |     |     |

### 三、计算公式

$$\text{NH}_4^+-\text{N} (\mu\text{g/g 土样}) = \Delta A \text{测定} \div \Delta A \text{标准} \times C \text{标准液} \times V \text{提取} \div W = 2.5 \times \Delta A \text{测定} \div \Delta A \text{标准} \div W$$

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℃下密封运输和保存，并在 3d 内分析完毕。否则，应于 -20℃（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℃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、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：

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

### 相关参考文献：

- [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] Yin ML, Zhao SP, Lai JL, Yang X, Dong B, Zhu YB, Zhang Y. Oxygen-insensitive nitroreductase bacteria-mediated degradation of TNT and proteomic analysis. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2023 Nov;30(54):116227-116238. doi: 10.1007/s11356-023-30568-8. Epub 2023 Nov 1. PMID: 37907824.

#### 相关系列产品:

BC0040/BC0045 土壤硝态氮含量检测试剂盒

BC2980/BC2985 土壤有效硫含量检测试剂盒

