

土壤铵态氮试剂盒说明书

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

土壤中的铵态氮可被土壤胶体吸附，呈交换性铵状态氮肥，也可溶解在土壤溶液中，能直接被植物吸收利用，属于速效性氮素。

测定原理

土壤中的铵态氮在强碱性介质中与次氯酸盐和苯酚作用，生成水溶性染料靛酚蓝，在 625nm 处有特征吸收峰，吸光值与铵态氮含量成正比。

自备实验用品及仪器

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

提取液：液体 110mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：粉剂×2 瓶，4℃ 避光保存。临用前根据用量每瓶加 4mL 双蒸水溶解，现配现用。

试剂二：液体 8mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂三：液体 2mL×1 瓶，4℃ 保存。

样本处理

按照土壤质量 (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。

注意：因样本特殊性，可能待测样本中 NH_4^+-N 含量较低，建议选取 2 个样本做预测定，如果 ΔA 出现负值，则增加样本与提取液的比例（称取 0.2 或 0.5g 鲜样土样，加入 1mL 提取液）。

测定操作表

1、分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 625nm，蒸馏水调零。

2、操作表

	空白管	测定管
样本 (μL)		20
提取液 (μL)	20	
试剂一 (μL)	80	80
试剂二 (μL)	80	80
充分混匀，25℃ 静置 1h		
试剂三 (μL)	20	20
充分混匀，于微量石英比色皿/96 孔板中，蒸馏水调零，测定 625nm 处吸光值 A，分别记为 A 空白管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

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: $y = 0.1522x - 0.0009$, $R^2 = 0.9993$

$$\begin{aligned} \text{NH}_4^+-\text{N 含量 (mg/kg 鲜重)} &= (\Delta A + 0.0009) \div 0.1522 \div W \\ &= 6.57 \times (\Delta A + 0.0009) \div W \end{aligned}$$

W : 样本质量, g

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 0.0761x - 0.0009$, $R^2 = 0.9993$

$$\begin{aligned} \text{NH}_4^+-\text{N 含量 (mg/kg 鲜重)} &= (\Delta A + 0.0009) \div 0.0761 \div W \\ &= 13.14 \times (\Delta A + 0.0009) \div W \end{aligned}$$

W: 样本质量, g

注意事项

1. 试剂一必须避光低温保存, 配制好的试剂一 4℃ 保存不能超过 20 天。
2. 浸提液最好在当日完成测定, 如果不能完成, 可冷冻保存, 但不能超过两天。