

CheKine™ 土壤硝态氮含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB4012

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本：土壤样本
	保质期：4℃，避光保存 12 个月

01 背景与原理

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。

该试剂盒检测原理是在浓酸条件下， 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，可通过比色测定计算得出硝态氮含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4℃，避光保存
Reagent II	28.5 mL	57 mL	4℃
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 410 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水/浓硫酸	样本制备/试剂配制用
其他	分析天平、恒温水浴锅、恒温摇床、台式离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本公司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Working Reagent I	临用前配制；根据用量每支加入 1.2 mL 硫酸充分溶解后使用	未用完的试剂 4℃避光保存可稳定 1 周； Working Reagent I 具有强腐蚀性，建议在使用过程中做好个人防护
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存； Reagent II 具有强腐蚀性，建议在使用过程中做好个人防护
1 mg/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水配成 10 mg/mL 的 NO ₃ ⁻ 标准液，取 100 μL 上述溶液于 1.5 mL EP 管中，加入 900 μL 去离子水，即为 1 mg/mL 的 NO ₃ ⁻ 标准液	未用完的 10 mg/mL 的 NO ₃ ⁻ 标准液 4℃可稳定 2 周

05-2 样本制备

- 注意：1. 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或者同样处理的样品进行测定。如果不立即进行实验，则把分装的土壤样本保存在-80℃，一个月内使用。
2. 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时注意保持相同的采样深度，建议在土壤表面以下十公分左右处取样，不同样本的含量跟区域有关。
- 土壤样本：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 去离子水（按照土壤质量（g）：去离子水体积（mL）为 1：5-10 的比例），37℃振荡提取 1 h，然后 25℃，10000 g 离心 10 min，取上清待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 410 nm。
2. 检测体系配制：空白孔和标准孔只需做 1 次，在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：

试剂	空白管（μL）	标准管（μL）	测定管（μL）
样本	0	0	10
去离子水	10	0	0
1 mg/mL Standard	0	10	0
Working Reagent I	20	20	20
充分混匀，25℃静置 30 min			
Reagent II	475	475	475

3. 吸光度检测：涡旋振荡混匀，使出现的沉淀充分溶解，取 200 μL 至 96 孔板于 410 nm 测定吸光度，分别记为 A_{空白}、A_{标准}、A_{测定}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 、 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 样本土壤硝态氮含量计算

● 按样本质量计算

硝态氮($\mu\text{g/g}$) = $\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{总样}} \div W = 1000 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times n$

W: 样本质量, g; $C_{\text{标准}}$: 标准溶液浓度, 1000 $\mu\text{g/mL}$; $V_{\text{总样}}$: 提取液体积, 1 mL; n: 稀释倍数。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 土壤加入 1 mL 去离子水震荡提取 1 h, 离心取上清之后按照测定步骤操作, 使用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.062 - 0.047 = 0.015$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 1.515 - 0.047 = 1.468$, 按样本质量计算: 硝态氮($\mu\text{g/g}$) = $1000 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times n = 102.180 \mu\text{g/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?

如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.002 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.5, 样本可用去离子水进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数, 或减少提取用样本量, 再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4011	CheKine™ 土壤无机磷 (S-PHOS) 含量检测试剂盒(微量法)
KTB3080	CheKine™ 植物硝态氮含量检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 土壤硝态氮含量检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB4012)

样本处理



取约0.1 g样本，加入1 mL 去离子水，37°C振荡提取1 h



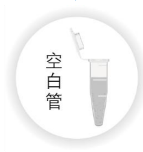
25°C, 10000 g离心10 min, 取上清待测



体系配置



样本
Working Reagent I 10 μ L
20 μ L



去离子水
Working Reagent I 10 μ L
20 μ L

标准品配制

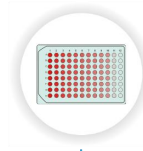


1 mg/mL Standard
Working Reagent I 10 μ L
20 μ L

充分混匀，25°C静置30 min

Reagent II 475 μ L Reagent II 475 μ L Reagent II 475 μ L

涡旋振荡混匀，使出现的沉淀充分溶解，取200 μ L至96孔板中



测定410 nm的吸光度
结果计算

数据检测