

水土中亚硝酸盐含量测定试剂盒说明书

(微板法 96 样)

一、产品简介:

亚硝酸盐广泛存在于水体和土壤中。人体摄入过量后，可诱发消化系统癌变。

在弱酸条件下，亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化后，再与盐酸萘乙二胺偶合形成紫红色染料，在 540nm 处有特征吸收峰。进而计算得出亚硝酸盐含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	粉体 mg×1 瓶	4℃ 避光保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 6mL 的 20% 盐酸水溶液 (1.2mL 盐酸缓慢加入 4.8mL 蒸馏水中)，充分溶解备用。 临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 6mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	粉体 mg×1 瓶	4℃ 避光保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃ 保存	

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、蒸馏水、天平、常温离心机、盐酸。

四、水土中亚硝酸盐含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费!

1、样本处理:

- ① 水/液体样本: 澄清的液体样本直接检测; 若浑浊, 则可取出 2mL 液体样本, 于室温下, 8000rpm 离心 10min, 取上清液检测。
- ② 土壤样本: 准确称取过筛后的土壤约 0.2g, 加入 1mL 提取液, 混匀, 25℃ 震荡提取 1h, 3000rpm 离心 10min, 取上清液检测 (如有浑浊可延长离心时间)。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm。
- ② 标准品使用液配制: 用 1mL 蒸馏水溶解标准品即 1mg/mL 的亚硝酸钠溶液, 再用蒸馏水稀释 500 倍 (1 份母液+499 份蒸馏水) 即 2μg/mL 的亚硝酸钠标准品使用液。
- ③ 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	150		
蒸馏水		150	
标品使用液			150
试剂一	50	50	50
试剂二	50	50	50

混匀, 室温 (25℃) 准确反应 15min, 立即于 540nm 读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

五、结果计算:

1、水中亚硝酸盐含量(以亚硝酸钠计) (mg/L) = $\Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标}} \times D$
= $2 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$

2、土中亚硝酸盐含量(以亚硝酸钠计) (mg/kg) = $\Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标}} \times V \div W \times D$
= $2 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$

V---提取液总体积, 1mL;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

$C_{\text{标}}$ ---标准品浓度, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 亚硝酸钠;

W---实际取样质量, g。