

水土中亚硝酸盐含量测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

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

亚硝酸盐广泛存在于水体和土壤中，不仅是有机氮分解的重要中间产物，也可能来自污染。人体摄入过量后，可诱发消化系统癌变。

测定原理

在酸性条件下，亚硝酸盐与对氨基苯磺酸反应生成重氮化合物，再与 N-1-萘基乙二胺形成紫红色偶氮化合物，在 540nm 处有特征吸收峰。

自备实验用品及仪器

天平、常温离心机、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

试剂组成和配制

提取液：液体 100mL×1 瓶，室温保存。

试剂一：液体 25mL×1 瓶，4℃避光保存。

试剂二：液体 25mL×1 瓶，4℃避光保存。

样品处理

1. **土壤样品**：准确称取过筛后的土壤约 0.2g，加入 1.5mL 提取液，室温震荡 1h，8000g，25℃离心 15min，静置，待其分层后，取上清液待测。
2. **水样**：直接检测；如果浑浊，可以离心后再测定。

测定步骤和操作表

	空白管	测定管
提取液 (μL)	350	
样品 (μL)		350
试剂一 (μL)	325	325
试剂二 (μL)	325	325
混匀，25℃静置 15min，于 1mL 玻璃比色皿中检测 540nm 处吸光值 A。 ΔA=A 测定 - A 空白		

注意：空白管只需测定一次。

亚硝酸盐含量计算

标准曲线回归方程为： $y=0.234x + 0.0002$ ， $R^2=0.999$ x 为标准品亚硝酸钠浓度 (μg/ml) y 为吸光值 A。

$$\begin{aligned} (1) \text{ 土壤样品 } \text{NO}_2^- (\mu\text{g/g}) &= (\Delta A - 0.0002) \div 0.234 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 0.6668 \\ &= (A - 0.086) \div 0.234 \times 1.5 \times 0.6668 \div W \\ &= 4.27 \times (\Delta A - 0.0002) \div W \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} (2) \text{ 水样 } \text{NO}_2^- (\mu\text{g/g}) &= (\Delta A - 0.0002) \div 0.234 \times 0.6668 \\ &= 2.85 \times (\Delta A - 0.0002) \end{aligned}$$

V 样总：加入提取液体积，1.5 mL； V 样：反应中样品体积，0.35mL； W：样品质量，g。

注意事项

1. 试剂盒 2-8℃保存。
2. 试剂对人体有一定的危害，请穿实验服，戴手套操作。
3. 若检测出得 OD 值在标准曲线范围外，请将样品进行适当的浓缩或稀释（ $A_{540} < 0.09$ 浓缩， $A_{540} > 1.5$ 适当稀释）。
4. 最低检出限为 0.5 μ g/g。