



水中硝酸根和硝态氮含量(WNN)活性试剂盒

规格：微量法 48 样

检测波长：410nm

编号：TW57769

检测原理：硝基水杨酸法

注意

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定；

为了您的安全和健康，请佩戴好防护用具；

测定意义

硝态氮是指硝酸盐中所含有的氮元素，水中的有机物分解生成铵盐，被氧化后变为硝态氮。

测定原理

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，可比色测定计算得硝态氮含量。

自备仪器和用品

蒸馏水、常温离心机、酶标仪、96 孔板、恒温水浴锅、涡旋混匀仪、浓硫酸。

试剂清单

试剂名称	规格	数目	贮藏
试剂一	粉剂	x1	4°C,避光
试剂二	液体 12mL	x1	4°C
标准品	粉剂	x1	4°C



样品处理

澄清样本可直接检测，若浑浊则离心取上清检测。

实验准备

- 1、酶标仪预热 30min，调节波长至 410nm；
2. 试剂一的制备：临用前每瓶加 1.2mL 浓硫酸充分溶解（溶解后尽快使用，4°C最多保存一周）；

测定操作

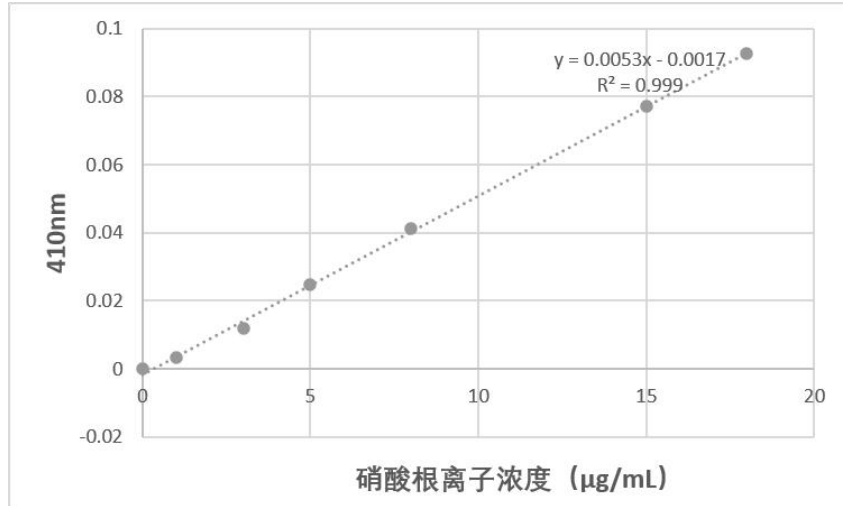
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (只做一管)
样本	10	-
蒸馏水	-	10
试剂一	20	20
充分混匀，25°C静置 30min		
试剂二	200	200
混匀，涡旋振荡，使出现的沉淀充分溶解 然后转移 200uL 至 96 孔板中测定 410nm 处吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$		

注意

- 1、试剂一和试剂二均具有强腐蚀性，操作时需做好防护措施

结果计算

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0053x - 0.0017$ ， $R^2 = 0.999$ ；x 为硝酸根离子浓度 (μg/mL)，y 为吸光值(ΔA)。



1. 水中硝酸根离子 (NO_3^-) 含量 ($\mu\text{g/mL}$) = $(\Delta A + 0.0017) \div 0.0053$
2. 水中硝态氮 ($\text{NO}_3\text{-N}$) 含量 ($\mu\text{g/mL}$) = $(\Delta A + 0.0017) \div 0.0053 \div 62 \times 14$

附：标准曲线的绘制（选做）

- 1、标准品管中加入 1.386mL 蒸馏水充分溶解即为 $1000\mu\text{g/mL}$ NO_3^- - N 标准液；
- 2、将标准品($1000\mu\text{g/mL}$) 使用蒸馏水稀释为 20, 18, 15, 13, 10, 8, 5 $\mu\text{g/mL}$ ；
(也可根据自身实验需求调整标准品浓度)
- 3、依据实验步骤操作，根据结果绘制标准曲线 (x 为标准管浓度 $\mu\text{g/mL}$, y 为吸光值 ΔA)；

试剂名称 (μL)	标准管	空白管 (只做一管)
标准品	10	-
蒸馏水	-	10
试剂一	20	20
充分混匀, 25°C静置 30min		
试剂二	200	200



混匀，涡旋振荡，使出现的沉淀充分溶解
然后转移 200uL 至 96 孔板中测定 410nm 处吸光值 A， $\Delta A=A$ 标准管
-A 空白管

预实验的意义

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过 3 - 5 组预实验，判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。