

水中铵根离子含量试剂盒说明书

(货号: ADS-W-N020 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

铵根离子含量是评价水质是否受到污染的一个重要指标, 铵根离子在水中存在时呈游离氨或铵盐的状态, 两者组成主要取决于水的 PH 值。

本试剂盒采用靛酚蓝比色法, 即在高 PH 值环境下, 将水中的铵根离子转化成铵盐的存在形式来进行测定。水中铵根离子在强碱性介质中与苯酚和次氯酸钠作用, 生成稳定的水溶性染料靛酚蓝, 吸光度与铵根离子含量成正比, 其在 625nm 处有特征吸收峰。

二、试剂盒组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 12mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	A: 液体 10mL×1 瓶 B: 液体 0.2mL×1 支	4℃避光保存	1. 用前向 A 液中加入 100 μL 的 B 液, 混匀后作为试剂二使用; 2. 仍旧 4℃保存。
试剂三	液体 2.2mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	1. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

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、样本提取:

水溶液或液体样本, 直接进行检测。若溶液浑浊, 12000rpm 常温离心 10min, 取上清液。

2、检测步骤:

- ① 酶标仪预热 30min, 设置温度在 25℃, 设定波长为 625nm。
- ② 所有试剂在使用前均须在室温或 25℃水浴锅中温育 10min。
- ③ 在 96 孔板中按照下表依次加入试剂:

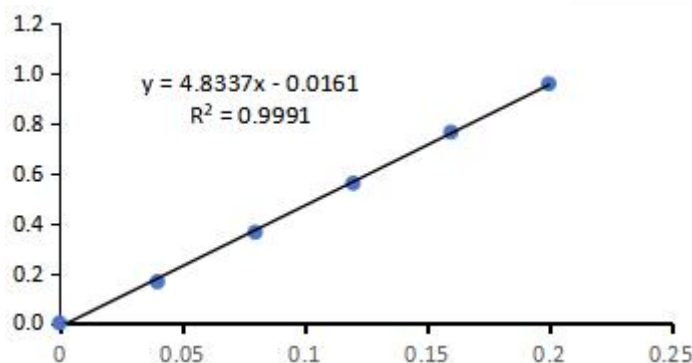
试剂 (μL)	测定管	空白管
样本	20	
蒸馏水		20
试剂一	100	100
试剂二	100	100
充分混匀, 25℃静置 1h		
试剂三	20	20
充分混匀, 于 625nm 处测定吸光值, 分别记为 A 测定管和 A 空白管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】：1、若 A 测定值大于 1.5，可对样本用蒸馏水稀释，则稀释倍数 D 带入公式计算。

2、若 ΔA 小于 0.01，可增加样本加样体积 V1（如由 20 μ L 增至 60 μ L 或更多，则试剂一和试剂二分别减少 20 μ L，保持总体积不变）。则改变后的 V1 带入公式计算。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 4.8337x - 0.0161$ ；x 是标准品质量（ μ g），y 是 ΔA 。



2、水中 NH_4^+ 含量($\mu\text{g/mL}$)= $[(\Delta A + 0.0161) \div 4.8337] \div V1 \times D$
 $= 0.207 \times (\Delta A + 0.0161) \div V1 \times D$

3、水中 NH_4^+-N 含量($\mu\text{g/mL}$)= $[(\Delta A + 0.0161) \div 4.8337] \div V1 \div 18 \times 14 \times D$
 $= 0.161 \times (\Delta A + 0.0161) \div V1 \times D$

V1---样本加样体积，20 μ L=0.02mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

1 标准品母液浓度为 1mg/mL。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 2, 4, 6, 8, 10 $\mu\text{g/mL}$ 。也可根据实际样本调整标准品浓度。

2 标品稀释参照表如下：

1. 吸取标准品母液 100 μ L，加入 900 μ L 蒸馏水，混匀得到 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标品稀释液；						
2. 吸取 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标品稀释液 100 μ L，加入 900 μ L 蒸馏水，混匀得到 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标品稀释液待用。						
标品浓度 $\mu\text{g/mL}$	0	2	4	6	8	10
标品稀释液 μL	0	40	80	120	160	200
水 μL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3 依据测定管加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	20	
蒸馏水		20
试剂一	100	100

试剂二	100	100
充分混匀，25℃静置 1h		
试剂三	20	20
充分混匀，于 625nm 处测定吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{浓度管}}$ 。		