

土壤汞（S-Hg）浓度检测试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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：

土壤汞污染能够通过食物链传递和富集，对植物、动物和人类健康产生威胁。矿山开发、工业加工、农业生产和生活垃圾常常造成土壤汞污染，因此评价和防止土壤重金属污染常常需要测定土壤汞含量。

测定原理：

土壤经消化后，汞以 Hg^{2+} 离子形式存在； Hg^{2+} 能与二硫腙生成橙色络合物，溶于三氯甲烷后，在490nm测定吸光度，即可计算S-Hg含量。

自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、恒温水浴锅、可调式移液枪、100目筛（可更小）、浓硫酸、浓盐酸、浓硝酸、三氯甲烷和蒸馏水。

试剂组成和配制：

标准品：液体×1支，4nmol/mL Hg标准液，4℃保存。

试剂一：自备。在该试剂瓶中加入52mL蒸馏水，36 mL浓盐酸，12mL浓硝酸，混匀，4℃避光保存。

试剂二：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前加18.4 mL蒸馏水充分溶解。

试剂三：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加3 mL蒸馏水充分溶解。

试剂四：粉剂×1支，4℃保存。临用前加1.5 mL蒸馏水充分溶解。

试剂五：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加5.2 mL蒸馏水充分溶解。

试剂六：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前加20 mL三氯甲烷充分溶解。

S-Hg检测：

1. 分光光度计/酶标仪预热30 min，体积波长到490 nm，三氯甲烷调零。
2. **样品管：**风干的土壤，过100目筛后精确称取0.1 g左右，装入EP管；加入1 mL试剂一，充分混匀后沸水浴消化60 min。取出冷却后室温8000g离心10min，吸取20 μ L上清液加入新的EP管；再先后加入180 μ L蒸馏水和20 μ L浓硫酸，混匀；最后加入180 μ L试剂二，混匀后40℃水浴24h，期间震荡数次。
2. **标准管：**取EP管，加入20 μ L标准液，180 μ L蒸馏水和20 μ L浓硫酸，混匀；最后加入180 μ L试剂二，混匀后40℃水浴24h，期间震荡数次。
3. 加入20 μ L试剂三，震荡直到无色；开盖静置30min，期间摇荡数次，以排出气体。
4. 加入10 μ L试剂四，充分混匀后静置5min；加入50 μ L试剂五，盖紧后震荡至少1min，静置10min以分层。
5. 小心吸取20 μ L下层溶液，加入200 μ L试剂六，震荡使无色，静置10 min以分层。
6. 小心吸取140 μ L下层溶液，加入微量玻璃比色皿/96孔板，于490nm处比色，记录各管吸光值。记为A样品管和A标准管。

注意：标准管只需测定一次。

S-Hg浓度计算公式：

a.使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

$$\text{Hg (nmol Hg/g 干重)} = [\text{C标} \times (\text{A测定管} \div \text{A标准管})] \times \text{V总} \div \text{V样} \div \text{W}$$

$$= 200 \times (\text{A测定管} \div \text{A标准管}) \div \text{W}$$

C标: 标准液浓度, 4 nmol/mL Hg; V总: 上清液总体积, 1 mL; W: 土样质量, g; V样: 加入上清液体积, 20 μL =0.02 mL。

b.使用96孔板测定的计算公式如下

$$\text{Hg (nmol Hg/g干重)} = [\text{C标} \times (\text{A测定管} \div \text{A标准管})] \times \text{V总} \div \text{V样} \div \text{W}$$

$$= 200 \times (\text{A测定管} \div \text{A标准管}) \div \text{W}$$

C标: 标准液浓度, 4 nmol/mL Hg; V总: 上清液总体积, 1 mL; W: 土样质量, g; V样: 加入上清液体积, 20 μL =0.02 mL。

注意事项:

- 1、试剂一有刺激性气味, 易挥发, 实验过程中应注意佩戴口罩和手套, 使用完立即盖好盖子, 以免试剂不够;
- 2、测定过程中需加入浓硫酸, 加浓硫酸时需注意, 避免溅到皮肤或眼睛上;
- 3、静置分层后, 用1mL移液枪, 排除空气后, 轻轻插入下层溶液中, 缓慢吸取下层溶液。