

蔬菜中硝酸盐含量测定试剂盒说明书

(货号: G0440W 微板法 96 样)

一、产品简介:

用 pH9.6~9.7 碱性缓冲液提取样品中硝酸根离子, 同时加活性炭去除色素类, 加沉淀剂去除蛋白质及其他干扰物质, 利用硝酸根离子和亚硝酸根离子在紫外区 219nm 处具有等吸收波长的特性, 测定提取液的吸光度, 其测得结果为硝酸盐和亚硝酸盐吸光度的总体, 鉴于新鲜蔬菜、水果中亚硝酸盐含量甚微, 可忽略不计。测定结果为硝酸盐的吸光度, 依据从标准曲线计算出硝酸盐含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
活性炭	1g×1 支	室温	
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	液体 2mL×1 支	4℃ 保存	
试剂三	液体 2mL×1 支	4℃ 保存	
标准品	液体×1 支	4℃ 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔 UV 板 (用于紫外光波长下的测定)、蒸馏水、常温离心机, 可调式往返振荡机。

四、蔬菜中硝酸盐含量测定:

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

1、样本处理:

- ① 组织样本: 取 0.2g 组织样本 (若样本较大可研磨粉碎后取样), 加 1mL 的蒸馏水研磨匀浆, 全部转移至 2mLEP 管中, 再依次加入 0.06mL 试剂一和 10mg 的活性炭混匀, 放置于可调式往返振荡机上 (200 次/min) 振荡 30min (如无此仪器需间隔 3min 手动晃动几秒)。再依次加入 0.02mL 的试剂二和 0.02mL 的试剂三, 充分混匀, 加 0.9mL 蒸馏水定容至 2mL, 混匀后室温放置 5min。12000rpm 室温离心 5min, 澄清的上清液做为样本待检上清液; 空白待检上清液制备过程除了不加样本之外, 其他操作步骤同组织样本制备过程。

2、上机检测:

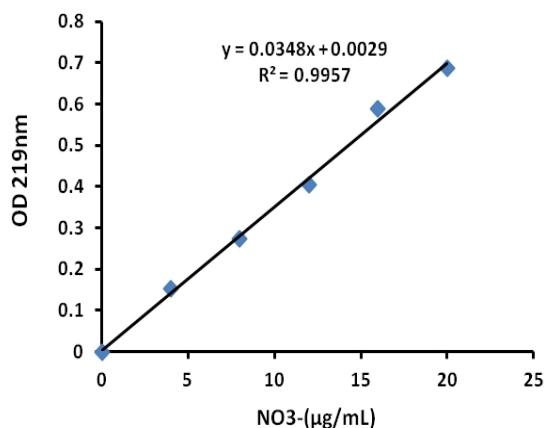
- ① 酶标仪预热 30min 以上。
- ② 在 96 孔 UV 板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本待检测上清液	200	
空白待检测上清液		200
混匀, 于 219nm 分别读吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

【注】若 A 值超过 1.2, 可用蒸馏水对待检上清液稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式重新计算;

五、结果计算:

1、标准曲线方程: $y = 0.0348x + 0.0029$; x 为标准品浓度 (μg/mL), y 为吸光值 ΔA 。



2、蔬菜中硝酸盐 (NO₃⁻) 含量(µg/g 或 mg/Kg)=(ΔA-0.0029)÷ 0.0348×V×D÷W
=28.74×(ΔA-0.0029)×V×D÷W

V---最终待测总体积, 2mL;

W---取样质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

本标准适用于新鲜蔬菜及水果中硝酸盐含量的测定。本方法检出限为 1.2mg/kg。

附：标准曲线制作过程：

- 1 标准品母液 (500µg/mL)；
- 2 用蒸馏水把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 4, 8, 12, 16, 20. µg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 直接取 200µL 不同浓度的标准品至 96 孔 UV 板中，于 219nm 分别读吸光值 A，根据结果即可制作标准曲线。