

蔬菜中硝酸盐含量测定试剂盒说明书

(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 瓶	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：

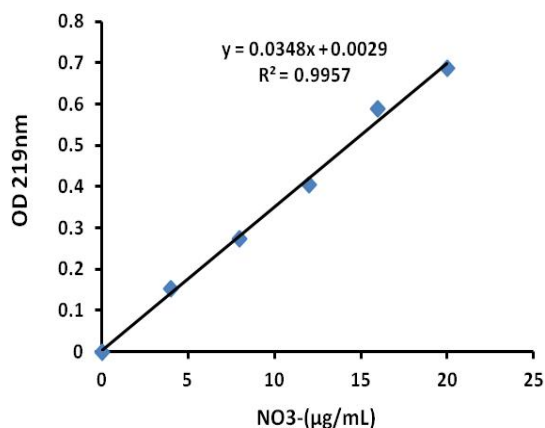
- ① 酶标仪预热 30min 以上。
- ② 在 96 孔 UV 板中依次加入：

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。