

蔬菜中硝酸盐含量测定试剂盒说明书

(货号: BP10380W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
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℃避光保存	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 (UV 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, 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提取过程。

2、检测步骤:

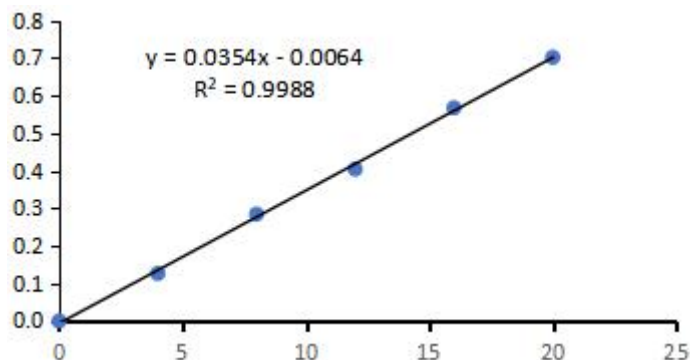
- ① 酶标仪预热 30min 以上。
- ② 在 96 孔 UV 板中依次加入:

试剂组分 (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： $y = 0.0354x - 0.0064$ ； x 为标准品浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）， y 为吸光值 ΔA 。



2、蔬菜中硝酸盐（ NO_3^- ）含量（ $\mu\text{g/g}$ 或 mg/Kg ） $= (\Delta A + 0.0064) \div 0.0354 \times V \times D \div W$
 $= 28.25 \times (\Delta A + 0.0064) \times V \times D \div W$

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 标准品母液浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 4, 8, 12, 16, 20. $\mu\text{g/mL}$ 。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：

吸取标准品母液 40uL，加入 960uL 蒸馏水，混匀得到 20ug/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 $\mu\text{g/mL}$	0	4	8	12	16	20
标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
水 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3 依据加样表操作，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	200	
蒸馏水		200
至 96 孔 UV 板中，于 219nm 分别读吸光值 A ， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{0 浓度管}}$		