

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0376

Size: 100T/96S

食品中亚硝酸盐含量测定试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

在食品中,亚硝酸盐可与肉品中的肌红素结合而更稳定,在食品加工业中作为保色剂,以维持肉制品的良好外观,并防止肉毒梭状芽孢杆菌的产生,提高食用肉制品的安全,但是人体长期摄入亚硝酸盐过量的食品,可诱发消化系统癌变。

二、测定原理:

在酸性条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸反应生成重氮化合物,再与 N-1-萘基乙二胺形成 紫红色偶氮化合物,在 540nm 处有特征吸收峰。

三、自备实验用品及仪器:

天平、研钵或匀浆器、水浴锅、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、蒸馏水。

四、试剂的组成和配制:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液一	液体 50 mL×1 瓶	室温保存	—
提取液二	液体 50 mL×1 瓶	室温保存	—
提取液三	液体 50 mL×1 瓶	室温保存	—
粉剂四	粉剂 100 mg×1 支	室温保存	—
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃避光保存	—
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃避光保存	—

样品处理：

称取样品约 0.2g 鲜重或 0.05g 干重，破碎，加入 0.5mL 提取液一，沸水浴 15min，冷却至室温，加入 0.5mL 提取液二，震荡摇匀，加 0.5mL 提取液三，用镊子加少量粉剂四（约 1mg），静置 30min，25℃，8000g 离心 15min，取上清液待测。

测定步骤和操作表：

1、分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。

2、操作表

	测定管	空白管
蒸馏水 (μL)		70
样品 (μL)	70	
试剂一 (μL)	65	65
试剂二 (μL)	65	65
混匀，25℃静置 15min，于微量石英比色皿/96 孔板中检测 540nm 处吸光值 A。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$		

注意：空白管只需测定一次。

亚硝酸盐含量计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线回归方程为： $y = 0.234x + 0.0002$, $R^2 = 0.999$ x 为标准品亚硝酸钠浓度 (μg/ml)
y 为吸光值 A。

$$\text{NO}_2^- (\mu\text{g/g}) = (\Delta A - 0.0002) \div 0.234 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 0.6668$$

$$= (A - 0.086) \div 0.234 \times 1.5 \times 0.6668 \div W = 4.27 \times (\Delta A - 0.0002) \div W$$

V 样总：加入提取液体积，1.5mL； V 样：反应中样品体积，0.07mL； W：样品质量，g。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下标准曲线回归方程为： $y = 0.141x + 0.095$, $R^2 = 0.9991$

x 为标准品亚硝酸钠浓度 (μg/ml) y 为吸光值 A。

$$\text{NO}_2^- (\mu\text{g/g}) = (\Delta A - 0.0002) \div 0.141 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 0.6668$$

$$= (\Delta A - 0.0002) \div 0.141 \times 1.5 \times 0.6668 \div W = 7.09 \times (\Delta A - 0.0002) \div W$$

V 样总：加入提取液体积，1.5 mL； V 样：反应中样品体积，0.07mL； W：样品质量，g。

注意事项:

1. 试剂盒 2-8℃保存。
2. 试剂对人体有一定的危害，请穿实验服，戴手套操作。
3. $\Delta A > 1.5$ 可以适当稀释样本。
4. 最低检出限为 0.5 $\mu\text{g/g}$ 。