

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-S0649

Size: 50T/48S

食品中亚硝酸盐检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*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安定，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、需自备的仪器和用品：

天平、研钵或匀浆器、水浴锅、分光光度计、1mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

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	
提取液四	粉剂 ×1 支	室温保存	
试剂一	液体 25mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂二	液体 25mL×1 瓶	4°C避光保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4°C保存	1 μmol/mL 亚硝酸钠标准溶液

五、样品处理

称取样品约 1g，破碎，加入 1mL 提取液一，沸水浴 15min，冷却至室温，加入 1mL 提取液二，震荡摇匀，加 1mL 提取液三，用镊子加少量提取液四（约 2 mg），静置 30min，10000rpm/min 离心 15min，取上清液待测。

六、测定步骤和操作表

可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。将标准品用蒸馏水稀释成 0.04 μmol/mL 标准管。

1. 操作表

	空白管	测定管	标准管
样品 (μL)		500	
标准管 (μL)			500
蒸馏水 (μL)	500		
试剂一 (μL)	500	500	500
试剂二 (μL)	500	500	500
混匀，室温静置 15min，检测 A540 吸光值。注：空白管只需测定一次			

七、亚硝酸盐含量计算

1. 按样本鲜重计算

亚硝酸含量 (μmol/g 鲜重) = (A 样本-A 空白) ÷ [(A 标准-A 空白) ÷ C 标准] × V 样本 ÷ (W × V 样本 ÷ V 总) = 0.12 × [(A 样本-A 空白) ÷ (A 标准-A 空白)] ÷ W

2. 按样本蛋白浓度计算

亚硝酸含量 (μmol/mg prot) = (A 样本-A 空白) ÷ [(A 标准-A 空白) ÷ C 标准] × V 样本 ÷ (Cpr × V 样本) = 0.04 × [(A 样本-A 空白) ÷ (A 标准-A 空白)] ÷ Cpr

V 总：加入提取液体积，3 mL；C 标准：标准溶液浓度，0.04 μmol/mL，V 样本：反应中样品体积，0.5mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/ml；W：样品质量，g。

八、注意事项

1. 试剂盒 2-8°C 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. 若检测出得 OD 值在标准曲线范围外，请将样品进行适当的浓缩或稀释（A540 <0.03 浓缩，A540 > 1.5 适当稀释）。