

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

食品中亚硝酸盐含量检测试剂盒说明书

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

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。

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。

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。

试剂组成和配制：

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0.5 g，破碎，加入0.5 mL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0.5 mL提取液三，用镊子加少量粉剂四（约 1 mg），静置30min，25℃，8000g 离心15 min，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

	空白管	测定管
样品 (μL)		100
试剂一 (μL)	100	100
试剂二 (μL)	100	100
H ₂ O	100	
混匀, 25°C静置15min, 取200μL于微量石英比色皿/96孔板中检测540nm处吸光值。 ΔA=A测定-A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: $y=0.011x+0.0216$, $R^2=0.9991$

$$\text{NO}_2^- (\mu\text{ mol/L/g}) = (\Delta A - 0.0216) \div 0.011 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3}$$

$$= 0.409 \times (\Delta A - 0.0216) \div W$$

V_{样总}: 加入提取液体积, 1.5 mL; V_{反总}: 反应总体积, 0.3 mL; V_样: 反应中样品体积, 0.1mL; 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: $y=0.0055x+0.0216$, $R^2=0.9991$

$$\text{NO}_2^- (\mu\text{ mol/L/g}) = (\Delta A - 0.0216) \div 0.0055 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 10^{-3}$$

$$= 0.818 \times (\Delta A - 0.0216) \div W$$

V_{样总}: 加入提取液体积, 1.5 mL; V_{反总}: 反应总体积, 0.3 mL; V_样: 反应中样品体积, 0.1mL; W: 样品质量, g。

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 ($A_{540} < 0.01$ 浓缩, $A_{540} > 2.8$ 适当稀释)。
4. 最低检出限为 1.97 μ mol/g。