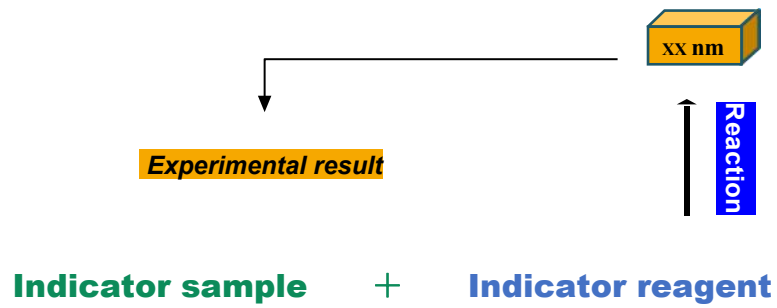


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

食品中亚硝酸盐含量测定试剂盒说明书

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

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、分光光度计、1mL 玻璃比色皿、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 | - |
| 提取液四 | 粉剂 ×1 支 | 室温保存 | - |
| 试剂一 | 液体 25mL×1 瓶 | 4℃避光保存 | - |
| 试剂二 | 液体 25mL×1 瓶 | 4℃避光保存 | - |
| 标准品 | 液体1mL×1支 | 4℃保存 | 1 μmol/mL亚硝酸钠标准溶液 |

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2mg），静置30min，10000rpm/min 离心15min，取上清液待测。

测定步骤和操作表

1、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。

2、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 A ₅₄₀ 吸光值。注：空白管 只需测定一次 | | | |

亚硝酸盐含量计算

(1) 按样本鲜重计算

$$\text{亚硝酸含量} (\mu\text{mol/g鲜重}) = (A_{\text{样本}} - A_{\text{空白}}) \div [(A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div C_{\text{标准}}] \times V_{\text{样本}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{总}}) = 0.12 \times [(A_{\text{样本}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{亚硝酸含量} (\mu\text{mol/mg prot}) &= (A_{\text{样本}} - A_{\text{空白}}) \div [(A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div C_{\text{标准}}] \times V_{\text{样本}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \\ &= 0.04 \times [(A_{\text{样本}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}})] \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

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。

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. 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）。