

食品中亚硝酸盐含量测定试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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。

组成：

产品名称	NM014-100T/96S	Storage
提取液一：液体	50ml	室温
提取液二：液体	50ml	室温
提取液三：液体	50ml	室温
粉剂四：粉剂	100 mg	室温
试剂一：液体	10ml	4°C避光
试剂二：液体	10ml	4°C避光
说明书	一份	

自备仪器和用品：

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。

样品处理：

称取样品约 0.2g 鲜重或 0.05g 干重，破碎，加入 0.5 ml 提取液一，沸水浴 15min，冷却至室温，加入 0.5 ml 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°C，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。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



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°C静置 15min, 于微量石英比色皿/96 孔板中检测 540nm 处吸光值 A。 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： $y=0.234x+0.0002$, $R^2=0.999$ x 为标准品亚硝酸钠浓度 (μg/ml) y 为吸光值 A。

$$\begin{aligned} \text{NO}_2^- (\mu\text{g/g}) &= (\Delta A - 0.0002) \div 0.234 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 0.6668 \\ &= (A - 0.086) \div 0.234 \times 1.5 \times 0.6668 \div W \\ &= 4.27 \times (\Delta A - 0.0002) \div W \end{aligned}$$

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。

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。

$$\begin{aligned} \text{NO}_2^- (\mu\text{g/g}) &= (\Delta A - 0.0002) \div 0.141 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 0.6668 \\ &= (\Delta A - 0.0002) \div 0.141 \times 1.5 \times 0.6668 \div W \\ &= 7.09 \times (\Delta A - 0.0002) \div W \end{aligned}$$

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°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 ($A_{540} < 0.09$ 浓缩, $A_{540} > 1.5$ 适当稀释)。
4. 最低检出限为 0.5μg/g。

