

## 食品中亚硝酸盐含量测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

**注 意：**正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

### 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：

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 100 mg×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。

### 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℃，8000g 离心 15 min，取上清液待测。

### 测定步骤和操作表

	测定管	空白管
蒸馏水（μL）		350
样品（μL）	350	
试剂一（μL）	325	325
试剂二（μL）	325	325
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：

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。

$NO_2^- (\mu g/g) = (\Delta A - 0.0002) \div 0.234 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times W) \times 0.6668$

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

$= 4.27 \times (\Delta A - 0.0002) \div W$

V 样总：加入提取液体积，1.5 mL； V 样：反应中样品体积，0.35mL； 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（ $A_{540} < 0.09$  浓缩， $A_{540} > 1.5$  适当稀释）。
  4. 最低检出限为  $0.5 \mu\text{g/g}$ 。
-