

Nitrite content Kit

亚硝酸盐含量测定试剂盒说明书

货号: G0431W | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

在食品中,亚硝酸盐是肉制品及其他食品加工过程中常用的一种食品添加剂,但是人体长期摄入亚硝酸盐过量的食品,产生直接毒害和慢性毒害,因此亚硝酸盐的检测具有特别重要的意义。

待检样经沉淀蛋白质、除去脂肪后,在弱酸条件下,亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化后,再与盐酸萘乙二胺偶合形成紫红色染料,在 540nm 处有特征吸收峰。进而计算得出亚硝酸盐含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液 A1	液体 13 mL×1 瓶	4℃保存	
提取液 A2	粉体 mg×1 瓶	4℃保存	临用甩几下使粉剂落入底部,再加 6mL 的蒸馏水充分溶解备用。
提取液 A3	粉体 mg×1 瓶	4℃保存	临用甩几下使粉剂落入底部,先加 0.18mL 的乙酸,再加 5.82mL 的蒸馏水,溶解备用。
试剂一	粉体 mg×1 瓶	4℃避光保存	临用甩几下使粉剂落入底部,再加 5mL 的 20%盐酸水溶液(1mL 盐酸缓慢加入 4mL 蒸馏水中),充分溶解备用。
试剂二	粉体 mg×1 瓶	4℃避光保存	临用甩几下使粉剂落入底部,再加 3mL 蒸馏水溶解备用。
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、蒸馏水、天平、常温离心机、乙酸、盐酸。

四、亚硝酸盐含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本处理

- ① 干酪奶酪样本:称取约 0.3g 样本于研钵中,加 1mL 蒸馏水研磨成匀浆后全部转移至 2mLEP 管中,再加入 0.04mL 的 3%乙酸溶液(0.3mL 冰乙酸缓慢加入 9.7mL 水中),最后用蒸馏水定容到 2mL。4℃静置 20min 后,除去上层脂肪,12000rpm 室温离心 10min,取上清液检测。
- ② 液体奶制品:0.5mL 样本,加入 0.125mL 提取液 A1,混匀后加入 0.6mL 蒸馏水,沸水浴 15min,冷却至室温,加入 0.05mL 提取液 A2,混匀后加入 0.05mL 提取液 A3,混匀,用蒸馏水定容到 2mL,室温静置 30min,除去上层脂肪,12000rpm 离心取上清液检测。
- ③ 其他样本:称取约 0.1g 样本(含水量高可取 0.5)于 2mLEP 管中,加入 0.125mL 提取液 A1,混匀后加入 1.5mL 蒸馏水,组织研磨机破碎或者用研钵磨碎后再全部转移至 2mLEP 管中;沸水浴 15min,冷却至室温,加入 0.05mL 提取液 A2,混匀后加

入 0.05mL 提取液 A3，混匀，用蒸馏水定容到 2mL，室温静置 30min，除去上层脂肪，12000rpm 室温离心 10min，取上清液检测。

【注】：若高蛋白样本，提取后上清液依然浑浊，可以减少样本取样量 W，或在提取过程中将提取液 A2 和 A3 分别增加到 0.1mL（不能超过 0.1mL），蒸馏水相应减少。

2、上机检测：

- ① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm。
- ② 标准品使用液配制：称取 2mg 标准品至一新 EP 管中，再加 2mL 蒸馏水溶解标准品即 1mg/mL 的亚硝酸钠标准品溶液，再用蒸馏水稀释 500 倍（1 份母液+499 份蒸馏水）即 2μg/mL 的亚硝酸钠标准品使用液。
- ③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	空白管 （仅做一次）	标准管 （仅做一次）
样本	190		
蒸馏水		190	
标品使用液			190
试剂一	40	40	40
混匀，室温（25℃）准确反应 5min			
试剂二	20	20	20
混匀，室温（25℃）准确反应 15min，立即于 540nm 读取吸光 值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、液体样本计算公式：

$$\begin{aligned} \text{亚硝酸盐含量(以亚硝酸钠计)}(\text{mg/L}) &= \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标}} \times V \div V_{\text{样}} \times D \\ &= 8 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

2、固体样本计算公式：

$$\begin{aligned} \text{亚硝酸盐含量(以亚硝酸钠计)}(\text{mg/kg}) &= \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标}} \times V \div W \times D \\ &= 4 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{亚硝酸盐含量(以亚硝酸钠计)}(\mu\text{g/g}) &= \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标}} \times V \div W \times D \\ &= 4 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{亚硝态氮含量}(\mu\text{g/g}) &= \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标}} \times V \div W \div 69 \times 14 \times D \\ &= 0.812 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

V---提取液总体积，2mL；

V 样---液体样本取样检测体积，0.5mL；

69---亚硝酸钠的分子量；

W---实际取样质量，g。

C 标---标准品浓度，2μg/mL 亚硝酸钠；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

14---氮元素分子量；

