

## 食品中亚硝酸盐含量测定试剂盒说明书

(货号: ADS-F-N007 分光法 48 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 7mL×1 瓶	4°C 保存	
提取液 A2	粉体 1 瓶	4°C 保存	临用甩几下使粉剂落入底部,再加 4mL 的蒸馏水充分溶解备用。
提取液 A3	粉体 1 支	4°C 保存	临用甩几下使粉剂落入底部,先加 0.12mL 的乙酸,再加 3.88mL 的蒸馏水,溶解备用。
试剂一	粉体 1 瓶	4°C 避光保存	临用甩几下使粉剂落入底部,再加 10mL 的 20% 盐酸水溶液 (2mL 盐酸缓慢加入 8mL 蒸馏水中),充分溶解备用。
试剂二	粉体 1 瓶	4°C 避光保存	临用甩几下使粉剂落入底部,再加 5mL 蒸馏水溶解备用。
标准品	粉体 1 支	4°C 保存	

### 三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、蒸馏水、天平、常温离心机、乙酸、盐酸。

### 四、食品中亚硝酸盐含量测定:

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°C 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 可见分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 540nm,蒸馏水调零。
- 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 1000 倍（1 份母液+999 份蒸馏水）即 1 $\mu$ g/mL 亚硝酸钠标准品使用液。

③ 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	665		
蒸馏水		665	
标品			665
试剂一	140	140	140
混匀，室温（25 $^{\circ}$ C）准确反应 5min			
试剂二	70	70	70
混匀，室温（25 $^{\circ}$ C）准确反应 15min，全部转移至 1mL 比色皿中，立即于 540nm 读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

【注】：最低检出限：液体乳是 0.06mg/kg；干酪及其他样本是 1mg/kg。

## 五、结果计算：

1、液体样本计算公式：

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

2、固体样本计算公式：

$$\begin{aligned} \text{食品中亚硝酸盐含量(以亚硝酸钠计)}(\text{mg/kg}) &= \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标}} \times V \div W \times D \\ &= 2 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

V---提取液总体积，2mL；

V 样---液体样本取样检测体积，0.5mL；

W---实际取样质量，g。

C<sub>标</sub>---标准品浓度，1 $\mu$ g/mL 亚硝酸钠；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；