

食品中亚硝酸盐含量测定试剂盒说明书

(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℃保存	
提取液 A2	粉体 mg×1 支	4℃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 mg×1 支	4℃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 mg×1 瓶	4℃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 mg×1 瓶	4℃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 mg×1 支	4℃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℃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：用 1mL 蒸馏水溶解标准品即 1mg/mL 的亚硝酸钠溶液，再用蒸馏水稀释 1000 倍（1 份母液+999 份蒸馏水）即 1μg/mL 亚硝酸钠标准品使用液。
- ③ 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	665		
蒸馏水		665	
标品			665
试剂一	140	140	140
混匀，室温（25℃）准确反应 5min			
试剂二	70	70	70
混匀，室温（25℃）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：

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

2、固体样本计算公式：

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

V---提取液总体积，2mL；

$C_{\text{标}}$ ---标准品浓度，1μg/mL 亚硝酸钠；

V 样---液体样本取样检测体积，0.5mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---实际取样质量，g。