

紫外分光光度法测定腌菜中亚硝酸盐的含量

UV-023

摘要：采用紫外可见分光光度法测定腌菜中亚硝酸盐的含量。结果表明，在 0~0.25 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性良好，相关系数为 $R^2=0.999$ ，检出限 LOD 为 0.037 mg/Kg，低于国标 GB/T 5009.33-2010《食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》中规定的检出限 1 mg/Kg。加标回收率在 94%~104%。该法重复性好，灵敏度高，其准确度、精密度均能满足工业生产的分析要求。

关键词：食品 酱菜 腌菜 亚硝酸盐 紫外分光光度法

亚硝酸盐是一种白色不透明的结晶化工产品，形似食盐，被广泛应用在化工、建筑和医学等方面。在食品生产中作为食品添加剂使用，可作为发色剂和防腐剂应用于腌菜、肉制品等的生产加工中。然而，亚硝酸盐的不科学使用导致中毒事件时有发生。亚硝酸在日常生活

中或多或少的影响着人们的健康。因此，食品中亚硝酸盐含量的检测至关重要。亚硝酸盐含量的测定通常有离子色谱法，示波极谱法，紫外分光光度法。鉴于紫外分光光度法的简便易行，本文参照国标 GB/T 5009.33-2010《食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》，采用紫外分光光度法来测试腌菜中的亚硝酸盐的含量。

实验部分

1.1 实验原理

亚硝酸盐采用盐酸萘乙二胺法测定。

试样经沉淀蛋白质、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，标准曲线法测得亚硝酸盐含量。

1.2 仪器

岛津 UV-2450 紫外 - 可见分光光度计

1.3 试剂

本方法所用试剂均为分析纯。

亚铁氰化钾 ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)；乙酸锌 ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)；冰醋酸 (CH_3COOH)；硼酸钠 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)；盐酸；氨水 (25%)；对氨基苯磺酸 ($\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$)；盐酸萘乙二胺 ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl}$)；亚硝酸钠 (NaNO_2)。

1.4 试剂的配制

(1) 亚铁氰化钾溶液 (106 g/L)：称取 10.6 g 亚铁氰化钾，用水溶解，并稀释到 100 mL。

(2) 乙酸锌溶液 (220 g/L) : 称取 22.0 g 乙酸锌, 先加 3 mL 冰醋酸溶解, 用水稀释到 100 mL。

(3) 饱和硼砂溶液 (50 g/L) : 称取 5.0 g 硼酸钠, 溶于 100 mL 热水中, 冷却后备用。

(4) 氨缓冲溶液 (pH9.6~9.7) : 量取 3.0 mL 盐酸, 加 10 mL 水, 混匀后加 6.5 mL 氨水 (25%)。再加水稀释到 100 mL, 混匀。调节 pH 至 9.6~9.7。

(5) 氨缓冲溶液的稀释液 : 量取 5 mL 氨缓冲溶液 (4), 加水稀释至 50 mL, 混匀。

(6) 盐酸 (0.1 mol/L) : 量取 0.5 mL 盐酸, 用水稀释至 60 mL。

(7) 对氨基苯磺酸溶液 (4 g/L) : 称取 0.4 g 对氨基苯磺酸, 溶于 100 mL 20% (V/V) 盐酸中, 置于棕色瓶中混匀, 避光保存。

(8) 盐酸萘乙二胺溶液 (2 g/L) : 称取 0.2 g 盐酸萘乙二胺, 溶于 100 mL 水中, 混匀后, 置于棕色瓶中, 避光保存。

(9) 亚硝酸钠标准溶液 (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) : 准确称取 0.1000g 于 110~120 $^{\circ}\text{C}$ 干燥恒重的亚硝酸钠, 加水溶解移入 500 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 混匀。

(10) 亚硝酸钠标准使用液 (5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) : 临用时, 吸取亚硝酸钠标准溶液 2.50 mL, 置于 100 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度。

1.5 样品及其前处理。

袋装腌菜 (萝卜)。用食品粉碎机制成匀浆备用。

分别平行称取 2.03 g, 2.02 g, 2.05 g, 2.03 g, 2.02 g, 制成匀浆的试样, 置于 50 mL 烧杯中, 加 5 mL 饱和硼砂溶液, 搅拌均匀, 以 70 $^{\circ}\text{C}$ 左右的水约 30 mL 将试样洗入 50 mL 容量瓶中, 于沸水浴中加热 15 min, 取出置于冷水浴中冷却, 并放置至室温。

在震荡上述提取液时分别加入 2 mL 亚铁氰化钾, 摇匀, 再依次加入 2 mL 乙酸锌溶液, 以沉淀蛋白质。加水至刻度, 摇匀, 离心, 上清液用滤纸过滤, 滤液备用。

1.6 标准曲线的绘制

吸取 0.00 mL、0.20 mL、0.60 mL、1.00 mL、2.00 mL、2.50 mL 亚硝酸钠标准使用液, 分别置于 50 mL 带塞比色管中。于标准管与试样管中分别加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液, 混匀, 静置 3~5 min 后, 各加入 1 mL 盐酸萘乙二胺溶液, 加水至刻度, 混匀, 静置 15 min, 用 1 cm 比色皿, 以零管调节零点, 于波长 538 nm 处测吸光度, 绘制标准曲线。

1.7 腌菜样品中亚硝酸盐含量的测定

吸取 25.0 mL 上述样品滤液, 于 50 mL 带塞比色管中。加入其他试剂 (同标曲溶液)。

结果与讨论

2.1 标准曲线

仪器稳定后, 对不同浓度的标准溶液进行光谱扫描如下。(图 1)

将标准溶液依次测定, 制定工作标准曲线。(图 2)

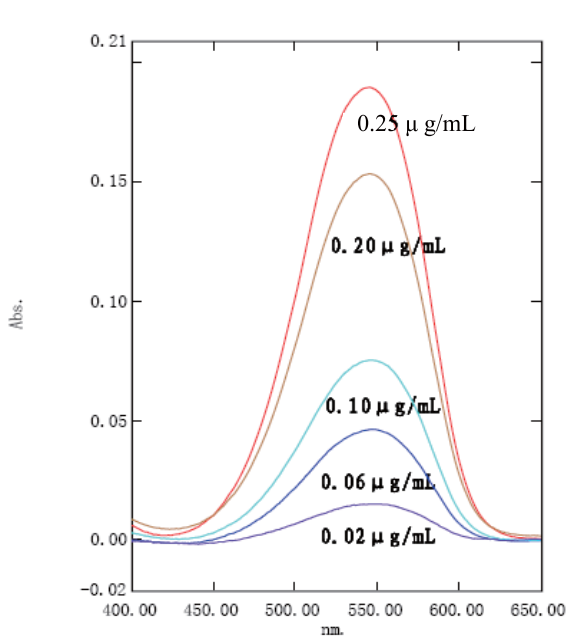


图 1 不同浓度光谱图

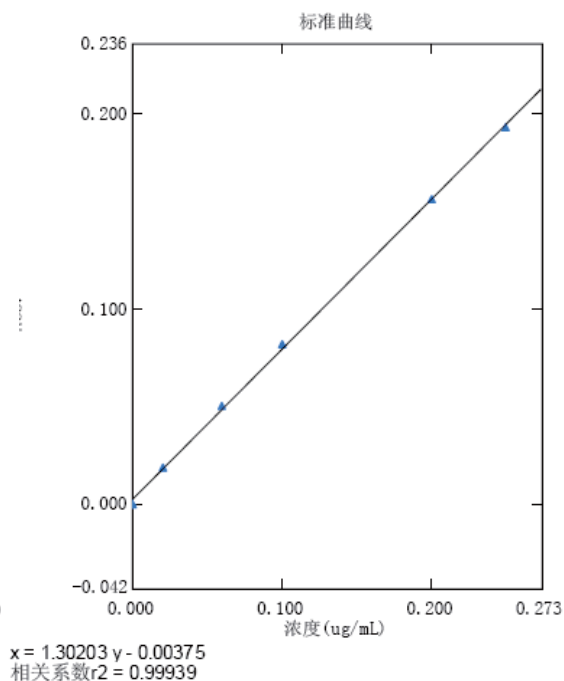


图 2 标准曲线图

在 0~0.250 $\mu\text{g/mL}$ 之间亚硝酸盐的浓度与吸光度的线性良好，计算其回归方程为 $y=1.30203x - 0.00375$ ， $R^2 = 0.99939$ 。

2.2 检出限的测定

对样品空白标准溶液 10 次测定，以 3 倍 SD 值除以标准曲线斜率算得检测限为 0.037 mg/kg。（国标 GB/T5009.33-2010 规定此法检出限为 1 mg/kg）

2.3 腌菜样品中亚硝酸盐含量的测定

按实验方法对样品进行分析，其结果见表 1。

表 1 样品分析结果

样品编号	1	2	3	4	5
测试浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	0.021	0.020	0.022	0.020	0.020
实际含量 (mg/kg)	1.05	1.00	1.10	1.00	1.00

2.4 方法的加标回收率和精密度

分别取样品 2.02 g；2.03 g；2.05 g，再分别加入 5 $\mu\text{g/mL}$ 标准使用液 0.2 mL；0.4 mL；0.6 mL（相当于 1 μg ；2 μg ；3 μg ），同样品处理方式进行，于波长 538 nm 处测吸光度，结果见表 2。

表 2 加标回收率及重复性验证

样品序号	本底值 (μg)	加标量 (μg)	测定值 (μg)	回收率 (%)
1	2.02	1.00	2.90	94.06
2	2.03	2.00	4.10	103.45
3	2.255	3.00	5.20	97.56

结论

本文参考 GB/T 5009.33-2010《食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》，采用紫外 - 可见分光光度法测定腌菜中亚硝酸盐的含量，测试结果均低于国家规定的酱腌菜中 20 mg/kg 的限量要求（GB2762-2005 食品中污染物的限量），说明市售的该品牌的腌菜中亚硝酸盐含量正常。该方法具有快速检出限低、灵敏度高、回收率好等优点，其准确度、精密度均能满足腌菜制品的生产分析要求。