

# 分光光度法测定甜面酱中亚硝酸盐的含量

UV-025

**摘要：**采用分光光度法测定甜面酱中亚硝酸盐的含量。结果表明，在 0 ~ 0.2 mg/L 范围内线性良好，相关系数为  $r^2=0.99972$ ，检出限为 0.031 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 105%~107%。该法重复性好，灵敏度高，其准确度、精密度均能满足食品中亚硝酸盐的测定要求。

**关键词：**食品 亚硝酸盐 分光光度法 甜面酱

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、分光光度法等。鉴于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》，采用分光光度法来测试甜面酱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-2700 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 ( $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ )；乙酸锌 ( $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ )；冰醋酸 ( $CH_3COOH$ )；硼酸钠 ( $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ )；对氨基苯磺酸 ( $C_6H_7NO_3S$ )；盐酸萘乙二胺 ( $C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$ )；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) 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。

(5) 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。

(6) 亚硝酸钠标准溶液(1 mg/mL): 准确称取 0.1000 g 于 110~120°C 干燥恒重的亚硝酸钠, 加水溶解移入 100 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 混匀。

(7) 亚硝酸钠标准使用液(5.0 µg/mL): 临用时, 吸取亚硝酸钠标准溶液 0.50 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。

市售袋装甜面酱(1# 多用途甜面酱, 2# 烤鸭配用甜面酱)。

分别称取市售两种甜面酱 2.00 g, 2.01 g 试样, 置于 50 mL 烧杯中, 加 5 mL 饱和硼砂溶液, 搅拌均匀, 以 70°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, 静止, 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、0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL 亚硝酸钠标准使用液, 分别置于 50 mL 带塞比色管中(相当于亚硝酸盐浓度分别为 0.00 µg/mL、0.02 µg/mL、0.05 µg/mL、0.10 µg/mL、0.20 µg/mL)。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, 以零管试样为参比, 于波长 538 nm 处测定各个比色管试样吸光度, 绘制标准曲线。

#### 1.7 甜面酱样品中亚硝酸盐含量的测定

吸取 20.0 mL 上述样品滤液, 于 50 mL 带塞比色管中。加入其他试剂(同标准曲线溶液)。同时做试剂空白。

## 结果与讨论

### 2.1 工作曲线

仪器稳定后, 将标准溶液依次测定, 以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制工作曲线。(图 1)

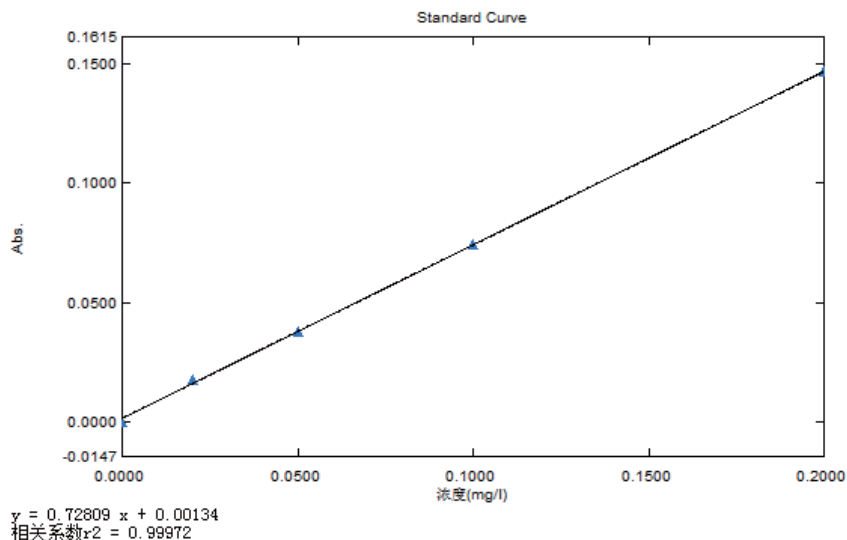


图 1 工作曲线图

在 0~0.20  $\mu\text{g/mL}$  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  $y=0.72809x+0.00134$ ,  $R^2 = 0.99972$ 。

## 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 0.031 mg/kg。( 国标 GB/T5009.33-2010 规定此法检出限为 1 mg/kg )

## 2.3 甜面酱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

样品名称	1#多用途甜面酱	2#烤鸭配用甜面酱
称样量 ( g )	2.00	2.01
测试浓度 ( mg/L )	0.05	0.038
实际含量 ( mg/kg )	3.12	2.39

## 2.4 方法的加标回收率

本实验涉及显色反应, 因此加标位置选择在样品过滤 ( 1.5 ) 之后, 加入显色剂之前开始, 取 2# 样品滤液两份各 2.50 mL, 分别加入 20  $\mu\text{L}$  标准使用液 ( 5.0  $\mu\text{g/mL}$  ), 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 加标回收率验证

样品名称	加标量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	测定值 ( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率 ( % )
1#多用途甜面酱	0.04	0.0420	105
2#烤鸭配用甜面酱	0.04	0.0428	107

## 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甜面酱中亚硝酸盐的含量, 测试结果均低于国家规定 20 mg/kg 的限量要求 ( GB2762-2005 食品中污染物的限量 )。该法重复性好, 灵敏度高, 其准确度、精密度均能满足食品中亚硝酸盐的测定要求。