

# 紫外分光光度法测定酱油中的亚硝酸盐含量

## UV-026

**摘要：**本文参考 GB 5009.33-2010《食品安全国家标准：食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》对酱油中的亚硝酸盐含量进行了测定，实验结果表明，线性良好，相关系数  $r^2$  为 0.99994，RSD 为 2.48%，回收率在 92.0%~106.8% 之间，测得样品中的亚硝酸含量为 5.33 mg/kg。

**关键词：**食品 酱油 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。

本文参考 GB 5009.33-2010《食品安全国家标准：食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》对酱油中的亚硝酸盐含量进行了测定。

### 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，外标法测得亚硝酸盐含量。

#### 1.2 仪器及器皿

岛津 UV-2450，10 mm 石英比色皿  
分析天平  
恒温干燥箱  
水浴

#### 1.3 试剂

本方法所用试剂均为分析纯。水为 GB/T 6682 规定的去离子水。

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 ( $NaNO_2$ )  
盐酸 ( $HCl$ )

#### 1.4 试剂的配制

1.4.1 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。

1.4.2 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。

1.4.3 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。

1.4.4 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。

1.4.5 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。

1.4.6 亚硝酸钠标准溶液 (200  $\mu\text{g/mL}$ )：称取 0.1060 g 于 110~120℃ 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。

1.4.7 亚硝酸钠标准使用液 (5.0  $\mu\text{g/mL}$ )：临用时，吸取亚硝酸钠标准溶液 (1.4.6) 2.50 mL，置于 100 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度。

#### 1.5 样品前处理。

1.5.1 分别称取酱油样品 2.0142 和 2.0136 g (编号为 1# 酱油，2# 酱油) 置于 50 mL 烧杯中，加 5 mL 饱和硼砂溶液，搅拌均匀，烧杯中加约 30 mL 70℃ 左右的水，于沸水浴中加热 15 min，取出放置至室温。在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。倒入 50 mL 容量瓶，加水至刻度，摇匀，离心，上清液用滤纸过滤，滤液备用。同时做试剂空白。

#### 1.6 亚硝酸盐测定

1.6.1 吸取 25.0 mL 上述样品滤液，于 50 mL 带塞比色管中。同时吸取 0.00 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL、2.00 mL、2.50 mL 亚硝酸钠标准使用液 (1.4.7)，分别置于 50 mL 带塞比色管中。亚硝酸盐的浓度依次为 0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.20、0.25  $\mu\text{g/mL}$ 。

1.6.2 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，于波长 538 nm 处测吸光度。同时做试剂空白。

## 结果与讨论

### 2.1 标准样品测定结果

表1 亚硝酸盐标准系列

序号 NO.	亚硝酸盐标准 溶液加入量 ( mL )	亚硝酸盐浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	吸光度值 ( Abs )
1	0.00	0.00	0.00009
2	0.20	0.02	0.01572
3	0.40	0.04	0.03123
4	0.60	0.06	0.04501
5	0.80	0.08	0.06117
6	1.00	0.10	0.07649
7	2.00	0.20	0.15074
8	2.50	0.25	0.18811

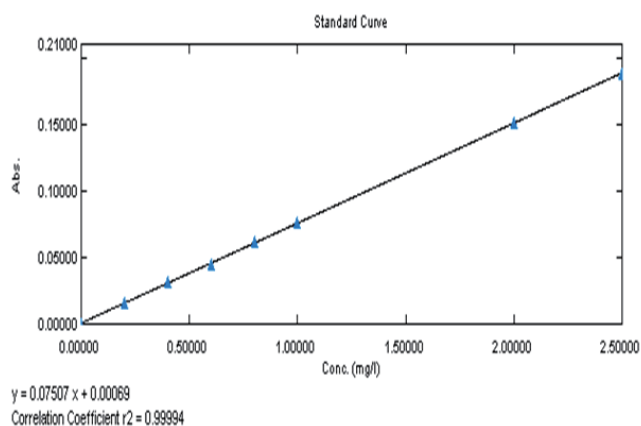


图1 标准曲线

### 2.2 酱油样品中亚硝酸盐含量的测定

表2 样品测定结果

样品名称	1#酱油	2#酱油	平均值
测定浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	0.02157	0.02134	0.02146
样品含量 ( mg/kg )	5.35	5.30	5.33

### 2.3 精密度测定

重复测试 1-2 样品 6 次，计算得到其 RSD 为 2.48%。

### 2.4 方法的加标回收率

分别称取样品 2.0117 和 2.0102 g，再分别加入 5  $\mu\text{g/mL}$  标准使用液 0.1 mL；0.5 mL（相当于 0.5  $\mu\text{g}$ ；2.5  $\mu\text{g}$ ），样品处理同（1.5.1）。移取 5.0 mL 上述样品滤液于 50 mL 带塞比色管中。同（1.6.2）进行显色处理。加标回收率见下表：

表3 加标回收率

样品名称	样品含量 ( $\mu\text{g}$ )	加标量 ( $\mu\text{g}$ )	测定值 ( $\mu\text{g}$ )	回收率 ( % )
1-1	1.072	0.050	1.032	92.0
1-2	1.071	0.250	1.411	106.8

## 结论

本文参考 GB 5009.33-2010《食品安全国家标准：食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》对酱油中的亚硝酸盐含量进行了测定，实验结果表明，线性良好，相关系数  $r^2$  为 0.99994，RSD 为 2.48%，回收率在 92.0~106.8% 之间，测得样品中的亚硝酸含量为 5.33 mg/kg。该方法可以满足酱油类样品的检测要求。