

岛津公司

酱油及其制品中的亚硝酸  
盐检测解决方案

**Shimadzu Solutions for Detection of  
Nitrite in the Soy Sauce and Soy  
Sauce Products**

# 序 言

中国是世界上的食品大国之一。自 1998 年起，中国粮食安全（粮食数量）问题基本解决，食品安全（营养卫生）问题成为主要矛盾。提高人民膳食水平，扩大食品出口贸易，都对食品安全问题提出了十分迫切而具体的要求，食品安全已经成为我国政府和人民共同关注的热点问题之一。

食品安全中亚硝酸问题层出不穷，针对近期一些地方亚硝酸盐中毒多发现象，卫生部发布预防和控制食物中毒发生的预警公告，提出进一步加强监管严防亚硝酸盐以及微生物污染等引发的食物中毒。现在的科学研究结果一般认为硝酸盐本身毒性不大，但可以转变成毒性较大的亚硝酸盐。如果大量亚硝酸盐进入人体的话，可能导致“高铁血红蛋白症”，血液失去携带氧的能力，从而出现缺氧症状，严重的可能危及生命。对亚硝酸盐更广泛的忧虑还在于它在人体内可能转化成亚硝胺，而后者是一种致癌物。

1994 年联合国粮农组织和世界卫生组织规定硝酸盐和亚硝酸盐的每日允许摄入量（ADI 值）分别为 5 毫克/千克体重和 0.2 毫克/千克体重。我国食品添加剂使用卫生标准规定，在肉制品中硝酸盐的使用量不得超过 0.5 克/千克，亚硝酸盐的使用量不得超过 0.15 克/千克。

我国每年均有多起亚硝酸盐中毒事件发生。在腌制咸菜、肉类食品、隔夜菜中均会含有硝酸盐和亚硝酸盐，另有不法分子用工业盐代替食用盐，在生产酱油过程中添加进去，使得亚硝酸盐含量超标，引起中毒，对人体产生很大的危害。

为使老百姓的餐桌更加安全健康，以“实现人类与地球的健康”为最高经营理念的岛津公司，多年来重点关注食品安全问题，不断推出各类食品安全综合解决方案，长期活跃在解决食品安全问题的第一线，在中国用户之间牢牢树立起“食品安全卫士”的形象。在此为您奉上岛津公司《酱油及其制品中的亚硝酸盐检测解决方案》，希望我们的努力能为您带来有意的帮助。谢谢！

岛津企业管理（中国）有限公司

分析中心

2012 年 6 月

# 目 录

<b>1 前言</b> .....	3
<b>2 应用数据集</b> .....	4
离子色谱法检测酱油中亚硝酸根、硝酸根离子的含量 .....	4
紫外可见分光光度法测定酱油中亚硝酸盐含量 .....	11
紫外可见分光光度法测定腌菜中亚硝酸盐的含量 .....	15
紫外可见分光光度法测定甜面酱中亚硝酸盐的含量 .....	19

# 前 言

近年来，我国发生多起食物亚硝酸盐中毒事件，比如 2011 年 4 月 7 日，甘肃平凉市崆峒区发生一起食物中毒事件，共造成 37 人中毒住院，其中 3 名婴幼儿已死亡，其余患者生命体征平稳。最后确认，本食物中毒事件由于散装奶被人恶意投入高含量的亚硝酸盐而导致群体中毒；2010 年 11 月 30 日，上海闵行区某工厂发生群体性食物中毒事件，共有 100 名左右的工人在午餐时出现肠胃不适和呕吐、腹泻症状。事后，据参与治疗的医生介绍，此次病人中毒的原因为急性亚硝酸盐中毒。2010 年 10 月 8 日，一众广州旅行团游客在四川海螺沟景区食用当地酒店提供的早餐后出现中毒症状，包括酒店员工以及游客在内总共一百余人被送院治疗，其中广东游客谭女士经抢救无效证实死亡，后查实此次事件为亚硝酸盐中毒事件。

硝酸盐和亚硝酸盐是工业用盐，呈白色粉末状，易溶于水，在自然环境中广泛存在。除了工业用途之外，硝酸盐和亚硝酸盐还在食品生产中作为食品添加剂不仅能使肉制品呈现良好的色泽，而且具有防腐和增强风味的作用。食品中硝酸盐和亚硝酸盐主要存在有：

- (1) 蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐
- (2) 腌制蔬菜中的硝酸盐和亚硝酸盐
- (3) 水中的硝酸盐和亚硝酸盐
- (4) 肉类食品中的硝酸盐和亚硝酸盐

为使老百姓的餐桌更加安全健康，以“实现人类与地球的健康”为最高经营理念的岛津公司，多年来重点关注食品安全问题，不断推出各类食品安全综合解决方案，长期活跃在解决食品安全问题的第一线，在中国用户之间牢牢树立起“食品安全卫士”的形象。本文依据 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》，汇编了岛津公司《酱油及其制品中的亚硝酸盐检测解决方案》，期待我们的工作为您带来有益的帮助。

# 应用数集

## 离子色谱法检测酱油中亚硝酸根、硝酸根离子的含量

**摘要:** 本文使用岛津HIC-SP抑制型离子色谱仪建立了离子色谱法测定酱油中亚硝酸根、硝酸根离子含量的方法。本方法采用碳酸钠淋洗系统和阴离子交换色谱柱, 流动相为3.6 mmol/L碳酸钠缓冲液, 以电导检测器进行检测。亚硝酸根在0.01-0.2 mg/L的浓度范围内校准曲线的线性相关系数 $r=0.9999$ 。硝酸根在0.1~2.0 mg/L的浓度范围内校准曲线的线性相关系数 $r=0.9999$ 。对亚硝酸根浓度为0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L的六个平行标准品进行分析, 重复性结果(RSD%表示): 亚硝酸根在三个不同浓度下的保留时间RSD范围为0.029%~0.102%, 峰面积RSD范围为2.12%~2.51%, 结果的重复性良好。对硝酸根浓度为0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L的六个平行标准品进行分析, 重复性结果(RSD%表示): 硝酸根在三个不同浓度下的保留时间RSD范围为0.035%~0.079%, 峰面积RSD范围为1.20%~1.85%, 结果的重复性良好。亚硝酸根的检出限为0.003 mg/L, 定量限为0.012 mg/L; 硝酸根的检出限为0.018 mg/L, 定量限为0.072 mg/L, 具有可靠的检测灵敏度, 满足国标检测要求。

**关键词:** 离子色谱 酱油 亚硝酸盐 硝酸盐 电导检测器

亚硝酸盐, 外观及滋味都与食盐相似, 并在工业、建筑业中广为使用, 肉类制品中也允许作为发色剂限量使用。亚硝酸盐中毒是指由于食用硝酸盐或亚硝酸盐含量较高的腌制肉制品、泡菜及变质的蔬菜可引起中毒, 或者误将工业用亚硝酸钠作为食盐食用而引起。由亚硝酸盐引起食物中毒的机率较高, 食入0.3~0.5 g的亚硝酸盐即可引起中毒甚至死亡。

生活中, 含有大量硝酸盐与亚硝酸盐的饮水、蔬菜、粮食、鱼、肉制品、渍酸菜、隔夜炒菜等经人食用后, 大量亚硝酸盐可使人直接中毒, 而且硝酸盐在人体内也可被还原为亚硝酸盐。

《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》中规定了离子色谱法亚硝酸根和硝酸根的检出限分别为0.02 mg/L和0.2 mg/L。

本文建立了一种采用岛津HIC-SP抑制型离子色谱系统, 快速检测酱油中亚硝酸根和硝酸根含量的离子色谱法。

### 1. 实验部分

#### 1.1 试剂与仪器

##### 1.1.1 试剂:

水: 超纯水。

碳酸钠: 分析纯

亚硝酸根储备液：100 mg/L 亚硝酸根标准品储备液。

硝酸根储备液：1000 mg/L 硝酸根标准品储备液 1.1.2 仪器：HIC-SP，包括 CBM-20A 系统控制器，LC-20AD 高精度溶液输送泵，DGU-20A<sub>3</sub> 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CDD-10Avp 电导检测器，WLK-6A 阴离子电化学自再生抑制器。

## 1.2 分析条件

色 谱 柱：Shim-Pack IC-A3 4.6 mmx150 mm

流 动 相：3.5 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>缓冲液

梯度方式：等度洗脱

流 速：0.8 mL/min

柱 温：45℃

检 测 器：电导检测器

检测器温度：48℃；响应：1.0 sec；极性：+；增益：1

检测时间：20 min

抑 制 器：WLK-6A 阴离子电化学自再生抑制器

抑制电流：90 mA

进样体积：100 μL

## 1.3 样品处理

### 1.3.1 亚硝酸根、硝酸根标准溶液的配制

取不同体积的亚硝酸根、硝酸根标准品储备液，用超纯水稀释，配制成系列标准溶液，含亚硝酸根浓度为 0.01、0.02、0.05、0.1 及 0.2 mg/L，硝酸根浓度为 0.1、0.2、0.5、1.0 及 2.0 mg/L，储存在棕色小瓶中，于 4℃冰箱中存放。

### 1.3.2 试样的制备

取酱油试样 10 g (精确至 0.01 g)，置于 100 mL 容量瓶中，加水 80 mL，摇匀，超声 30 min，加入 3% 乙酸溶液 2 mL，于 4℃放置 20 min，取出放置至室温，加水稀释至刻度。溶液经滤纸过滤，取上清液备用。

取上述备用的上清液约 15 mL，通过 0.22 μm 水性滤膜针头过滤器、C<sub>18</sub> 柱，弃去前 3 mL，收集后面洗脱液，待测。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 亚硝酸根、硝酸根标准谱图及标准曲线

亚硝酸根标准溶液 1.0 mg/L 色谱图如图 1 所示；硝酸根标准溶液 10.0 mg/L 色谱图如图 2 所示；亚硝酸根/硝酸根混合标准品溶液 0.1/1.0 mg/L 色谱图如图 3 所示；由图 4 可以看出在 0.01-0.2 mg/L 的浓度范围内，亚硝酸根校准曲线线性相关性良好，线性相关系数为  $r=0.9999$ 。由图 5 可以看出在 0.1-2.0 mg/L 的浓度范围内，硝酸根校准曲线线性相关性良好，线性相关系数为  $r=0.9999$ 。

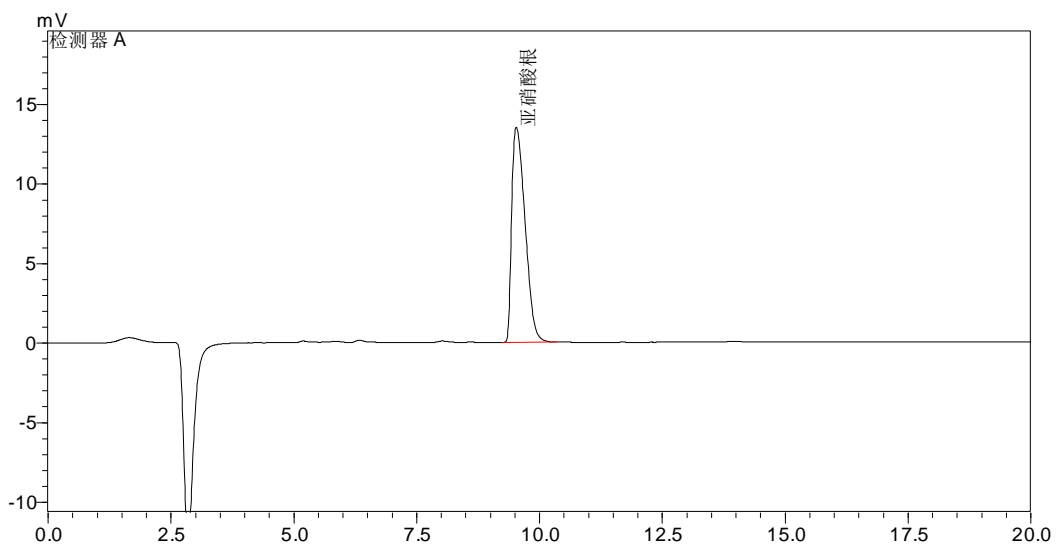


图1 亚硝酸根标准溶液 1.0 mg/L 色谱图

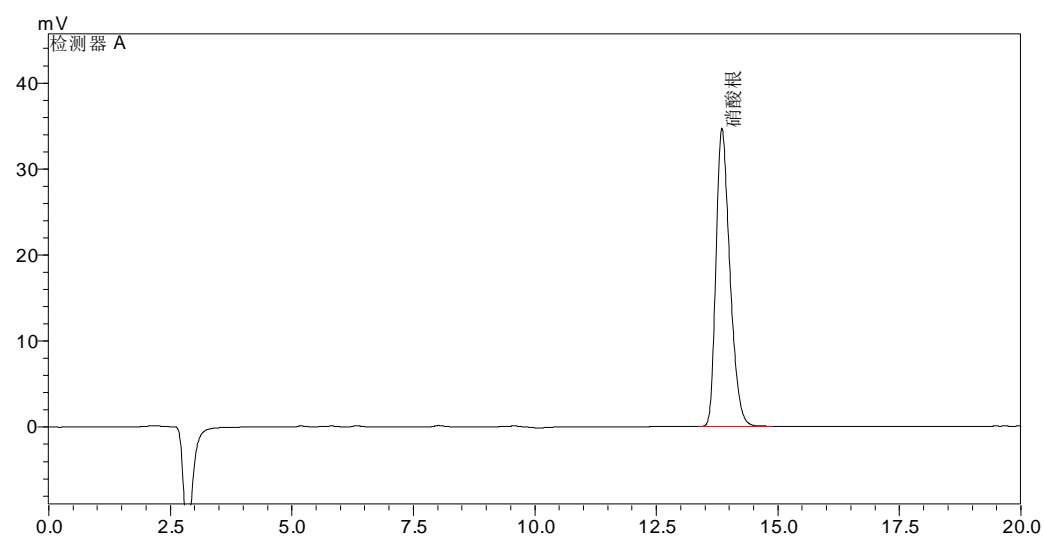


图2 硝酸根标准溶液 10.0 mg/L 色谱图

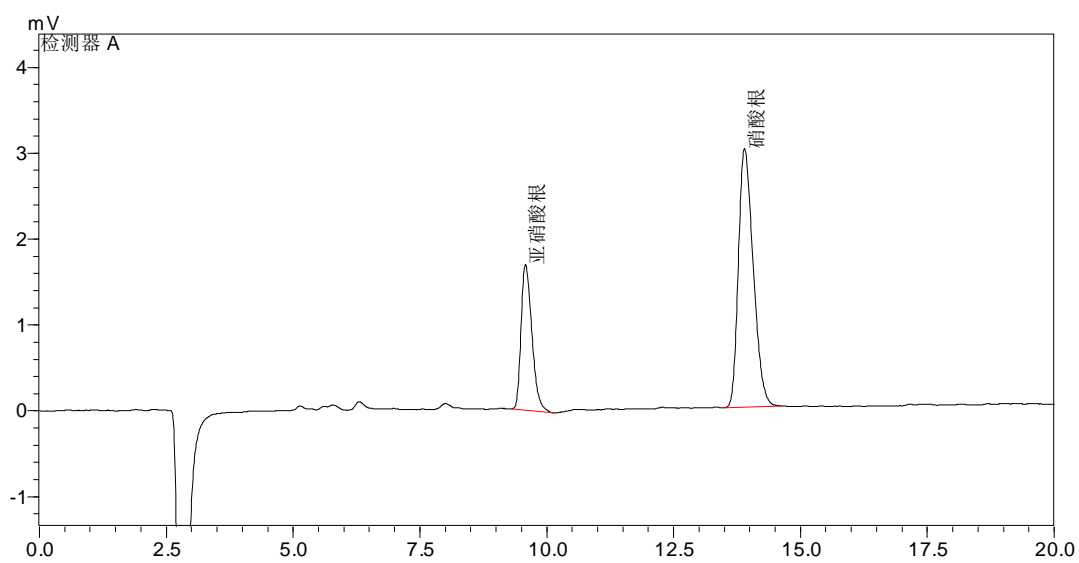


图3 亚硝酸根、硝酸根混合标准溶液 0.1/1.0 mg/L 色谱图

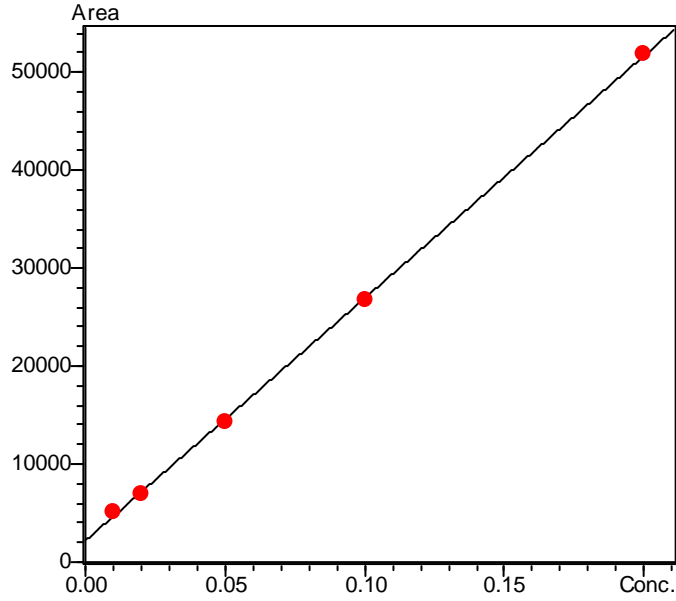


图4 亚硝酸根 0.01~0.2 mg/L 校准曲线  
 $Y = aX + b$   $a = 247544$   $b = 2192.22$   $r = 0.9999$

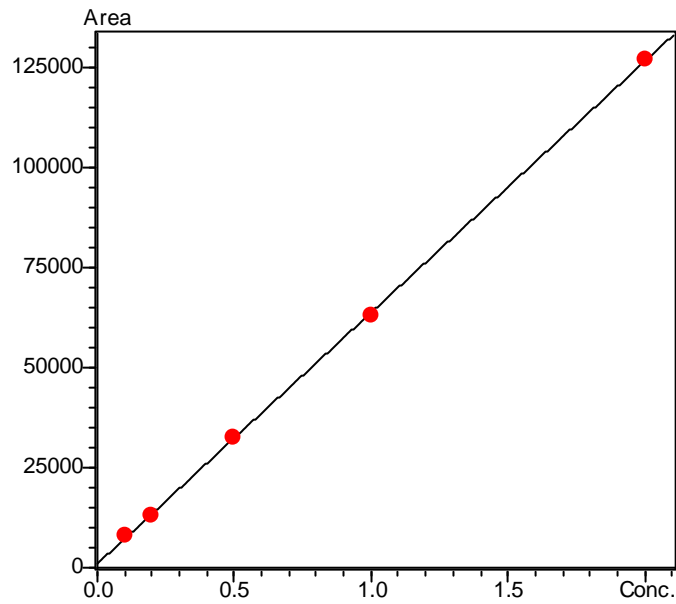


图5 硝酸根 0.1~2.0 mg/L 校准曲线  
 $Y = aX + b$   $a = 62863.2$   $b = 973.6$   $r = 0.9999$

## 2.2 重复性考察

本文分别对亚硝酸根/硝酸根混合标准品浓度为0.01/0.1 mg/L、0.02/0.2 mg/L、0.05/0.5 mg/L 标准样品进行6次重复性实验，重复性结果（RSD%表示）汇总如表1、表2所示。



表1 亚硝酸根在不同浓度下的保留时间和峰面积的重复性

NO.	0.01 mg/L		0.02 mg/L		0.05 mg/L	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	9.009	4603	9.093	7191	9.077	15090
2	9.009	4491	9.097	7088	9.077	14747
3	9.012	4543	9.091	6769	9.075	14204
4	9.015	4567	9.081	7025	9.054	14309
5	9.009	4674	9.093	7191	9.077	14747
6	9.012	4393	9.091	7180	9.075	14204
RSD (%)	0.029	2.12	0.058	2.32	0.102	2.51

表2 硝酸根在不同浓度下的保留时间和峰面积的重复性

NO.	0.1 mg/L		0.2 mg/L		0.5 mg/L	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	12.791	6442	12.849	13458	12.839	33102
2	12.792	6646	12.856	13198	12.845	32356
3	12.798	6527	12.854	13068	12.842	33376
4	12.787	6574	12.828	12981	12.816	32721
5	12.798	6527	12.849	13458	12.829	33367
6	12.792	6646	12.854	13068	12.840	31860
RSD (%)	0.035	1.20	0.079	1.57	0.074	1.85

### 2.3 检出限和定量限

空白样品中加入亚硝酸盐/硝酸盐混合标液，最终浓度为0.01/0.1 mg/L，平行7份，直接进样分析。根据HJ 168-2010规定对上述测定结果剔除离群值后将各自的7次测定结果计算其标准偏差S，此时检出限MDL=3.14×S，定量限LOQ=4×MDL。测定结果如表3所示：

表3 亚硝酸根/硝酸根的检出限和定量限

名称	标准偏差(S)	检出限(mg/L)	定量限(mg/L)	国标检出限(mg/L)
亚硝酸根	0.0008	0.003	0.012	0.02
硝酸根	0.007	0.018	0.072	0.2

### 2.4 样品分析

按照1.3.2所述步骤处理酱油样品，检测酱油中的亚硝酸盐、硝酸盐含量。图6为酱油样品色谱图。图7为上述酱油样品加标亚硝酸盐/硝酸盐混标0.02/0.2 mg/L色谱图。该实际样品添加浓度计算回收率结果见表4。

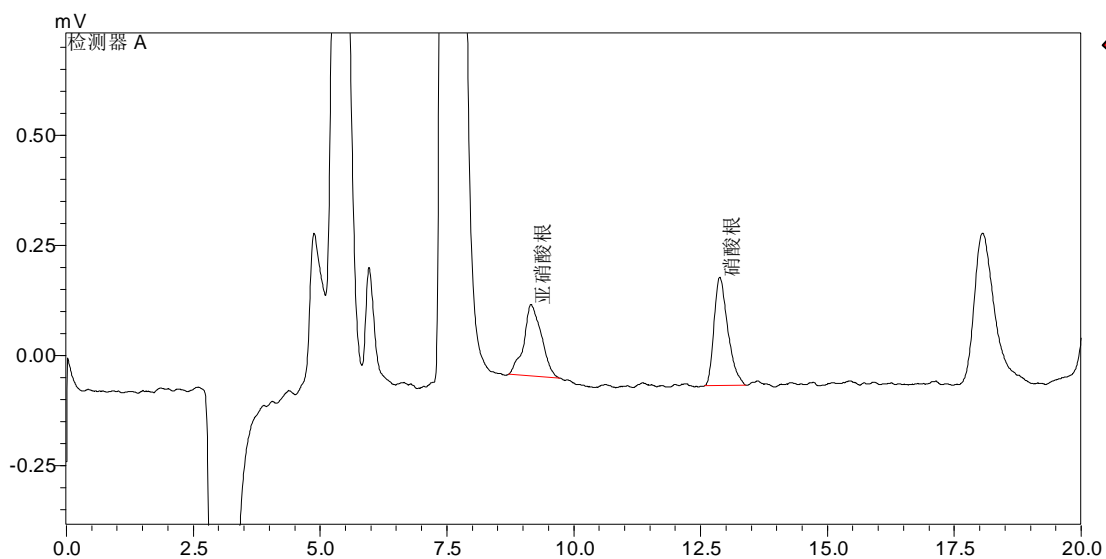
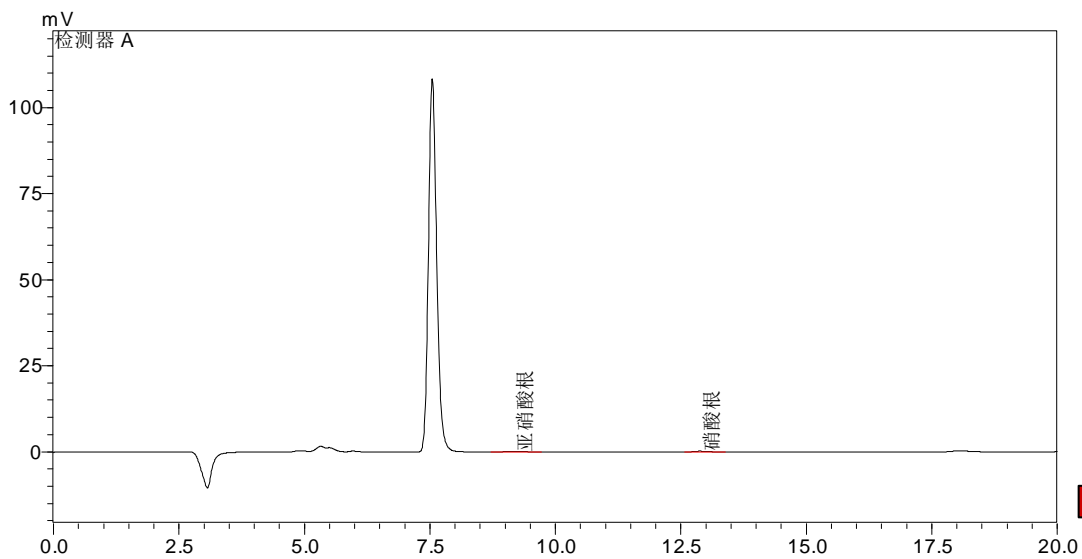
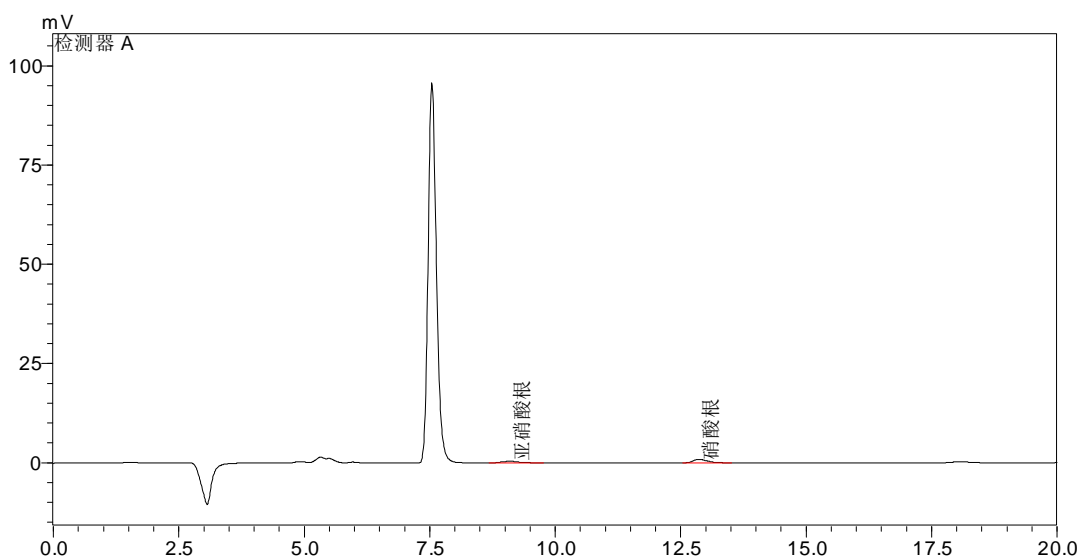


图6 酱油样品色谱图



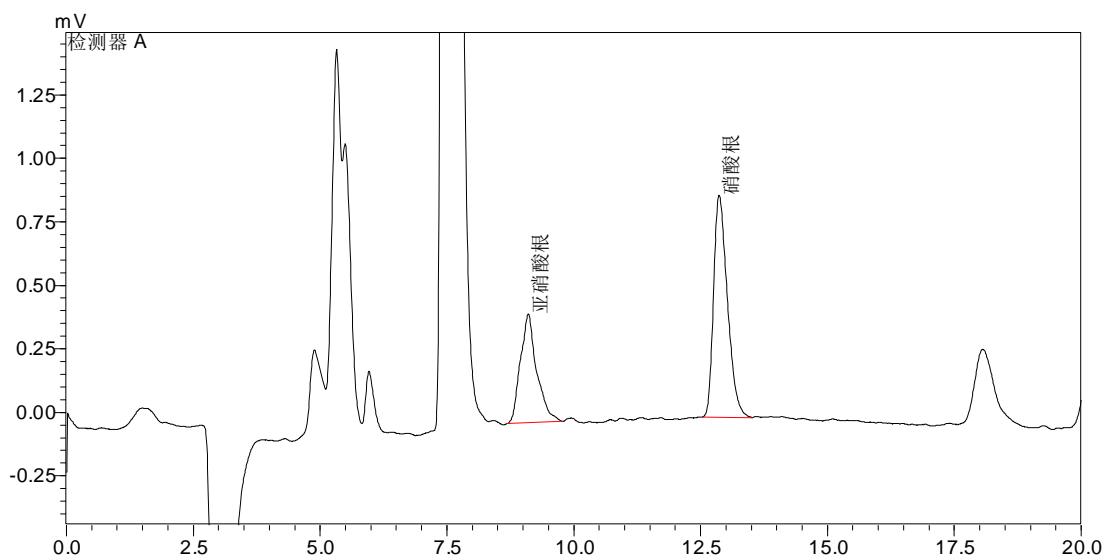


图7 酱油样品加标亚硝酸根/硝酸根混标0.02/0.2 mg/L色谱图

表4 酱油样品加标亚硝酸根/硝酸根混标0.02/0.2 mg/L浓度回收率结果

编号	亚硝酸根 检出浓度 (mg/L)	亚硝酸根 加标浓度 (mg/L)	亚硝酸根 实测浓度 (mg/L)	亚硝酸根 回收率 (%)	硝酸根检 出浓度 (mg/L)	硝酸根加 标浓度 (mg/L)	硝酸根实 测浓度 (mg/L)	硝酸根回 收率 (%)
样品1	0.0069	0.02	0.029	109.2%	0.059	0.2	0.25	94.8%

### 3. 结论

本实验中使用岛津抑制型离子色谱仪 (HIC-SP)，搭载 WLK-6A 阴离子电化学自再生抑制器，建立了一种对酱油中的亚硝酸根、硝酸根离子含量的测试方法。亚硝酸根在 0.01~0.2 mg/L 浓度范围内线性良好，相关系数为 0.9999。硝酸根在 0.1~2.0 mg/L 浓度范围内线性良好，相关系数为 0.9999。本方法满足国标检测要求，可以用于酱油中亚硝酸根、硝酸根离子的含量测试。

# 紫外可见分光光度法测定酱油中的亚硝酸盐含量

**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，被广泛应用于化工、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。

## 1. 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, 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 $^{\circ}\text{C}$  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。
- 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, 烧杯中加入约 30 mL 70  $^{\circ}\text{C}$  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。

## 2. 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

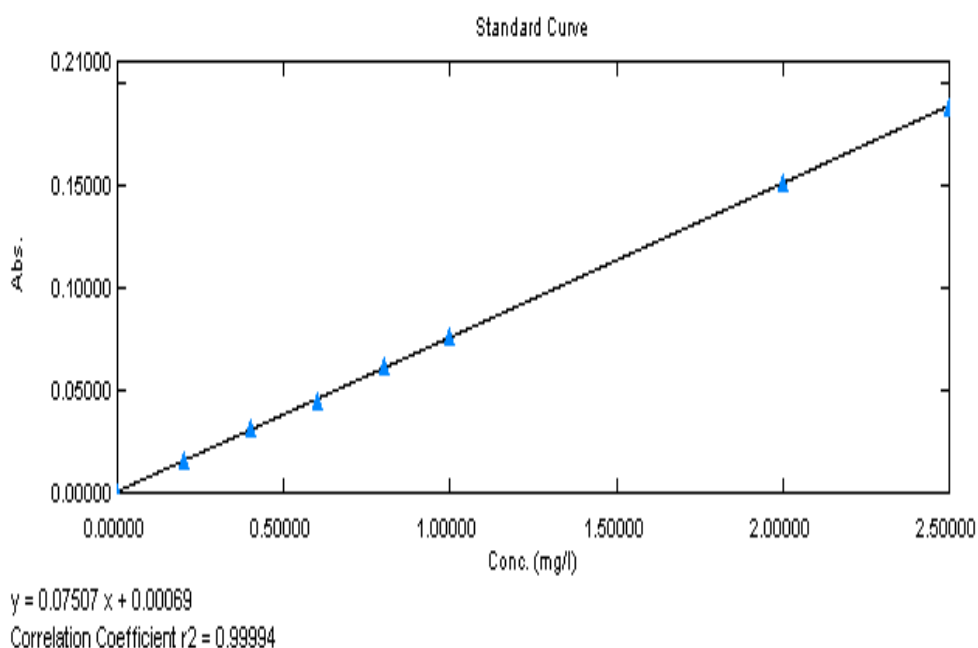


图 1 标准曲线

## 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 ( $\text{mg/kg}$ )	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

### 3. 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。

# 紫外可见分光光度法测定腌菜中亚硝酸盐的含量

**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/T5009.33-2010《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/T5009.33-2010《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。

## 1. 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 ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )；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 ( $\text{NaNO}_2$ )。

### 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 (200  $\mu\text{g/mL}$ ): 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。

(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 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)。

## 2. 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)

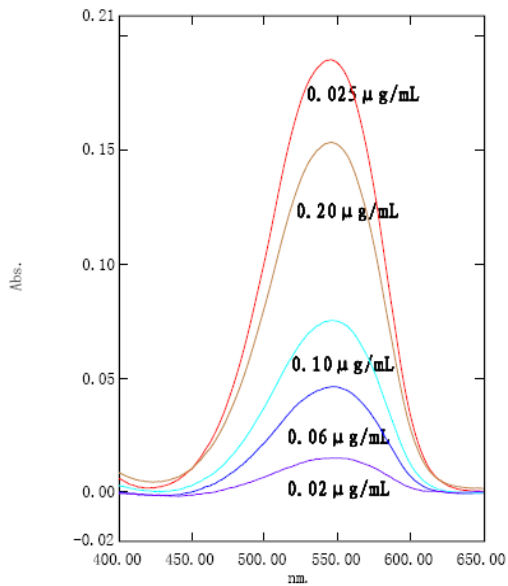


图1 不同浓度光谱图

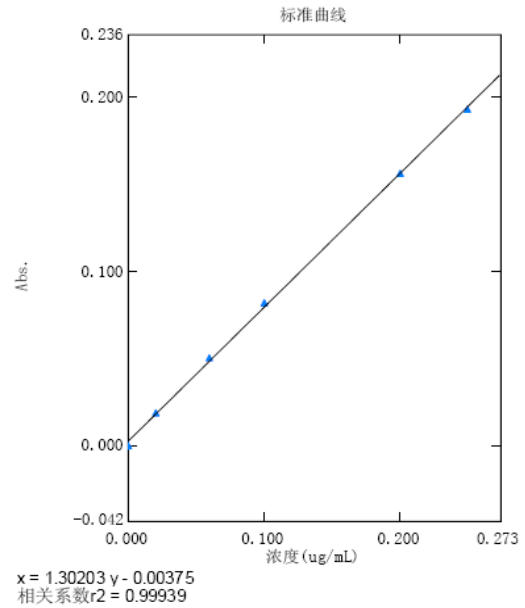


图2 标准曲线图

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  $\text{mg/kg}$ 。（国标 GB/T5009.33-2010 规定此法检出限为 1  $\text{mg/kg}$ ）

## 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 ( $\text{mg/kg}$ )	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  $\mu\text{g}$ ；2  $\mu\text{g}$ ；3  $\mu\text{g}$ ），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 ( $\mu\text{g}$ )	加标量 ( $\mu\text{g}$ )	测定值 ( $\mu\text{g}$ )	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

### 3.结论

本文参考 GB/T5009.33-2010《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。

# 紫外可见分光光度法测定甜面酱中亚硝酸盐的含量

**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/T5009.33-2010《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。

## 1. 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℃ 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℃ 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。

## 2. 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)

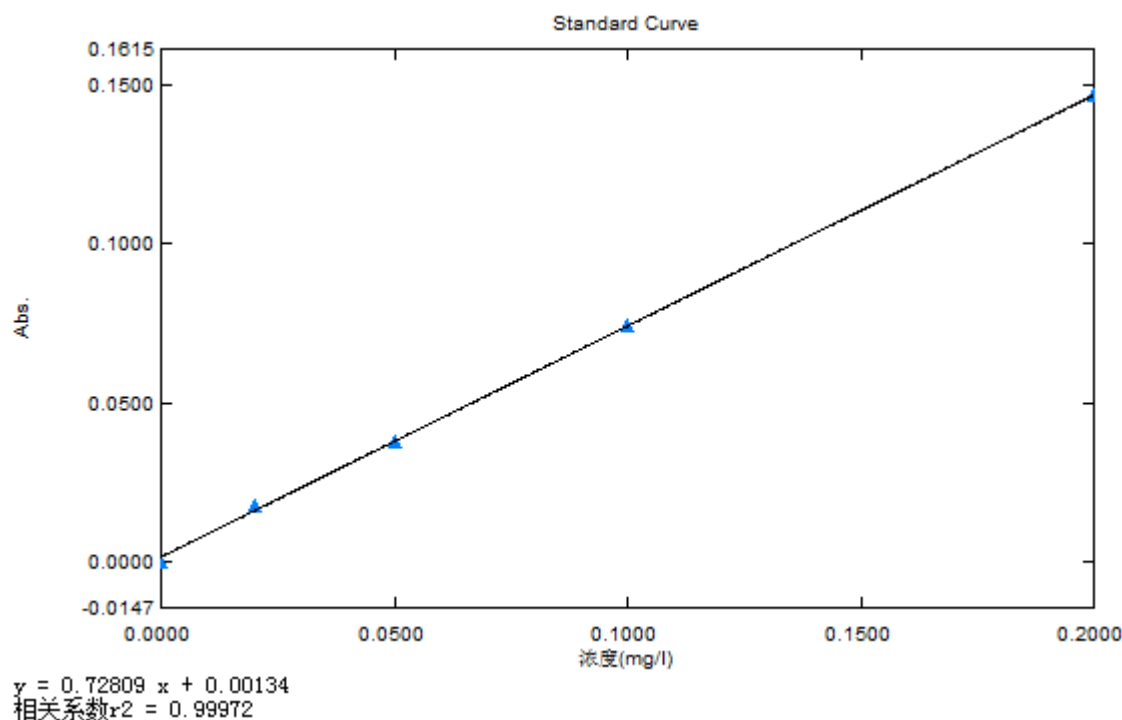


图1 工作曲线图

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)	0.0500	0.0384
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，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

### 3.结论

本文参考 GB/T5009.33-2010《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。