

酸泡菜中亚硝酸根离子快速测定

——格里斯光度法

(东华理工学院应用化学系, 抚州 344000)

廖晓峰¹ 于 荣² 廖夫生⁴

(南京经济大学食品科学系)

刘晓庚³

摘 要: 拟订一个酸泡菜中亚硝酸根离子的测定方法。在盐酸介质中, 亚硝酸根离子与对氨基苯磺酸偶氮化后, 再与 α -萘胺盐酸溶液偶联生成紫红色的偶氮化合物。该方法简便, 快速, 灵敏度高, 选择性好, 干扰少, 方法检出限为 $1 \times 10 \text{ mg/L}$, 测定范围为 $0 \sim 0.4 \text{ mg/L}$ 。实验结果表明, 该方法用于测定各种酸泡菜中亚硝酸根离子, 其结果令人满意。

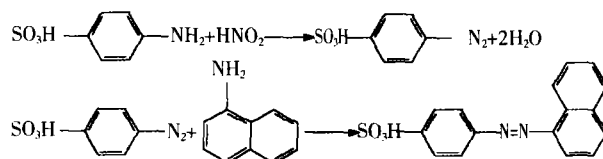
关键词: 亚硝酸根, 格里斯试剂

中图分类号: TS207.3 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2003)10-0149-03

酸泡菜是一种有地方特色的小吃, 但由于在腌制过程中, 植物中的硝酸盐经微生物还原生成亚硝酸根离子。因此, 在酸泡菜走向市场时, 亚硝酸根是一个重要控制指标。建立起一个快速、准确、简便的测定方法对生产企业是很有必要的。目前, 亚硝酸的测定方法很多, 主要有分光光度法、荧光法、催化光度法、离子色谱法、极谱法等。荧光光度法需用有机试剂萃取, 且操作较麻烦, 易造成污染; 催化光度法虽然灵敏度高, 但在对测定有色水样时有一定困难, 且选择性不好, 干扰较严重; 离子色谱法、极谱法需较贵重的大型仪器, 条件较苛刻, 不适合乡镇个体企业应用; 而分光光度法在采用格里斯试剂作为显色

剂时, 格里斯试剂几乎是对亚硝酸根特征显色, 且显色时间短, 稳定时间长, 酸度范围宽, 因而它被广泛应用于食品中的亚硝酸离子的测定, 其作用机理为:



1 材料与方法

1.1 材料与仪器

酸泡菜 (袋装、散装) 市售; 硫酸锌溶液 (0.42 mol/L)、氢氧化钠溶液 (0.5 mol/L)、硝酸溶液 (0.5 mL)、乙酸钠溶液 (0.25 mol/L)、对氨基苯磺酸溶液、 α -萘胺盐酸溶液、亚硝酸钠标准溶液 ($50 \mu\text{g/mL}$) 均为分析纯; 所用水均为去离子水。

721 型分光光度计, PHS-3C 型酸度计, 马福炉, 分析天平。

1.2 实验方法

吸取每毫升含 $50 \mu\text{g}$ 的亚硝酸钠标准溶液 1.0 mL 于 50 mL 容量瓶中, 加 1.0 mL 格里斯试剂 ($1:1$ 的对氨基苯磺酸溶液和 α -萘胺盐酸溶液), 并用乙酸钠调 pH 为 $2.0 \sim 2.5$, 用蒸馏水稀至刻度, 摇匀放置 10 min , 然后在 530 nm 处用 2 cm 比色皿, 以试剂空白为对照, 测其吸光值。

收稿日期: 2003-02-19

作者简介: 廖晓峰 (1965-), 男, 副教授, 硕士生导师, 在读博士, 研究方向: 食品资源的开发利用。

具有推广使用价值。

参考文献:

- [1] 赵志敏, 曲铭锐, 冯化梅, 等. 用 99MJ-1 型蜂蜜质量检测仪直读测定蔗糖含量[J]. 齐齐哈尔师范学院学报, 1997, 17(1): 8~50.
- [2] 张彦海, 白红进, 徐尊. 萘酮硫酸水合热法测定棉纤维含糖量[J]. 塔里木农垦大学学报, 1991, 3(2): 5~7, 12.

- [3] 陈其斌编著, 甘蔗糖手册翻译组译. 甘蔗糖手册[M]. 轻工业出版社, 1989, 4.
- [4] 张惠芬, 樊建, 束嘉秀, 等. 硫酸-萘酮分光光度法测定 SPS 的方法研究[J]. 昆明理工大学学报, 2002, 27(3): 74~78.
- [5] 魏晓明, 符红, 万幼平. 硫酸萘酮比色法测定鹿龟酒中多糖含量[J]. 中成药, 2000, 22(2): 380.
- [6] 刘前. 果葡糖浆中果糖、葡萄糖的测定[J]. 淀粉与淀粉糖, 1993(2): 31~35.

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱的选定

吸取 2.0mL 亚硝酸钠标准使用液 (吸取 10.0mL 亚硝酸钠标准液于 100mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度线制成亚硝酸钠标准使用液) 于 50.0mL 容量瓶中, 同 1.2 方法, 10min 后在 400~650nm 波长下, 每隔 40nm 测其吸光值, 然后以波长为横坐标, 吸光值为纵坐标, 得图 1。

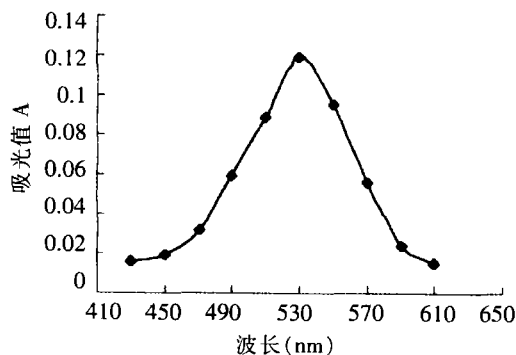


图1 吸收光谱图

从图中可以得出, 530nm 为其最大吸收峰, 因而选定 530nm 为其吸收波长。

2.2 反应酸度的选定

由于实验过程中用乙酸钠调节其酸度, 因而反应酸度的选定即为加入乙酸钠量的确定。吸取 2.0mL 标准使用液 (同 2.1) 于 50mL 容量瓶中, 加入 1.0mL 格里斯试剂, 摇匀, 再分别加入 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0mL 乙酸钠溶液, 调其酸度。10min 后用 2cm 比色皿在 530nm 处测其吸光值, 以乙酸钠用量为横坐标, 吸光值为纵坐标作图, 得图 2。

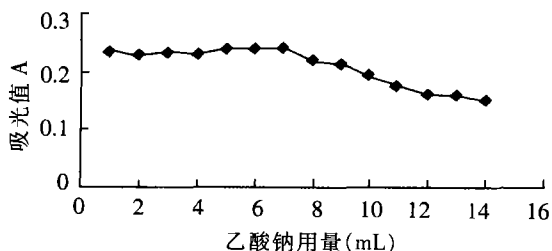


图2 吸光值与 NaAC 溶液用量关系

从图 2 可以得出, 在加入 1.0~7.0mL 乙酸钠溶液时, 其吸光值为一平台。经 PHS-3C 型酸度计测其 pH 范围为 1.5~3.0, 因而加入调节 pH 的乙酸钠 4.0mL 可控制其 pH 为 2.0~2.5, 因此选定加入乙酸钠量为 4.0mL。

2.3 显色时间的测定

吸取 2.0mL 亚硝酸钠标准使用液于 50mL 容量瓶中, 加入 1.0mL 对氨基苯磺酸溶液后立即加入 α -萘胺盐酸溶液 1.0mL、乙酸钠溶液 4.0mL, 稀至刻度, 然后分别测定 2、5、10、15、20、25、30、35、40、60、90、

120、150、180min 后的吸光值, 以时间为横坐标, 吸光值为纵坐标绘图, 得图 3。

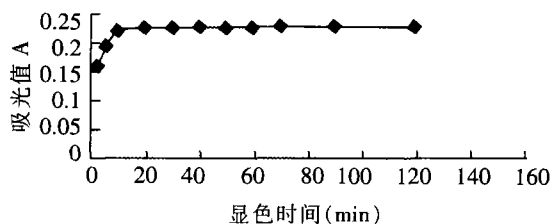


图3 吸光值与显色时间的关系

从图 3 可以得出, 反应时间在 15min 以后即为一平台, 因而本文选定时间为 30min。

2.4 显色剂用量的确定

吸取 2.0mL 亚硝酸钠标准使用液于 50mL 容量瓶中, 分别加入对氨基苯磺酸溶液和 α -萘胺盐溶液混合液 (1:1) 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0、2.4、2.8、3.2、3.6、4.0mL, 再加入 4mL 乙酸钠溶液, 稀至刻度, 20min 后在 530nm 处测其吸光值, 然后以显色剂用量为横坐标, 吸光值为纵坐标作图得图 4。

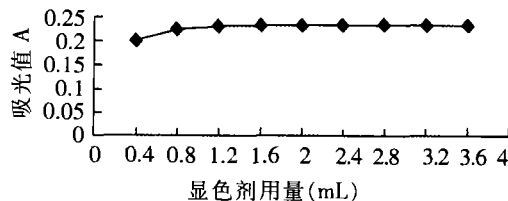


图4 吸光值与显色剂用量的关系

从图 4 可以得出, 从显色剂用量为 1.4~3.6mL 时吸光值为一平台, 因而选定 2.0mL 显色剂用量。

2.5 标准曲线绘制

吸取 20.0mL 亚硝酸钠标准液于 100mL 容量瓶中, 稀至刻度, 再从中分别吸取 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0mL 于 50mL 容量瓶中, 加 1.0mL 对氨基苯磺酸溶液摇匀, 10min 后加入 1.0mL α -萘胺盐酸溶液、4.0mL 乙酸钠溶液, 摇匀, 稀至刻度。20min 后在 530nm 波长测其吸光值, 然后以亚硝酸钠为纵坐标, 吸光值为横坐标绘制标准曲线图, 得图 5。

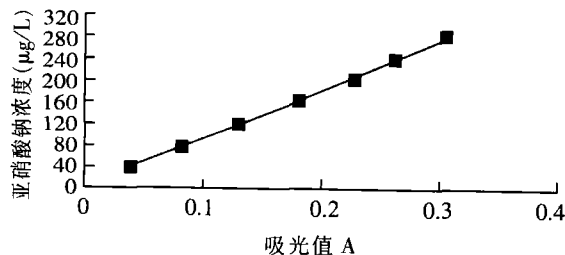


图5 标准曲线图

在 10~280 μ g/L 浓度范围内, NO_2^- 含量与吸光值成线性关系, 其回归方程为: $A=0.0225C-0.002$, 相关系数为 0.9996, 式中 C 的单位 μ g/L。

2.6 样品预处理

样品中亚硝酸根含量的测定结果准确与否与样

品中亚硝酸根的浸出量有关。实验中用蒸馏水浸取样品中的亚硝酸根离子,在浸取过程中,存在着三个因素的影响:浸取水体积、浸取次数和浸取时间,因而设计一个三因素三水平正交表来安排较少量的试验。

准确称量 10.0~20.0g 经捣碎的酸菜,分别按正交表上设计的方案浸取亚硝酸根离子,然后再移取 20.0mL 浸取液于 50mL 容量瓶中,分别加入 3~4mL NaOH 溶液 (0.5mol/L),加入 10.0mL 硫酸锌溶液 (0.42mol/L),振荡,在 60℃ 水浴中加热 10min,取出,冷却至室温,加水至刻度,摇匀,静置 30min 后过滤。

移取过滤液 20.0mL 于 50mL 容量瓶中,用上述选定条件测其吸光度,其亚硝酸根含量由下式可得:

$$X = (50 \times a) / [m \times (20/v) \times (20/50) \times 1000]$$

其中: x 为亚硝酸根含量 (mg/kg), m 为称取的质量 (g), v 为浸取水的体积 (mL), a 为 A 量在标准曲线所对应的值 ($\mu\text{g/L}$)。

由表 1 可以得出, B 为主要因素,取亚硝酸根含量高的水平 B_3 ; C 为居中因素,取亚硝酸根含量最高的水平 C_3 ; A 为次要因素,取亚硝酸根含量最高的水平 A_1 ,从而组成较优的浸取条件 $A_1B_3C_3$ 。

3 样品的测定

3.1 散装酸菜的测定

准确称取 10.0~20.0g 捣碎的酸菜于 100mL 烧杯

表 1 正交实验结果

实验号	A 浸取水 体积 (mL)	B 浸取 时间 (min)	C 浸取 次数	亚硝酸根 含量 (mg/kg)
1	1(25)	1(30)	1(1)	9.15
2	1	2(60)	2(2)	10.58
3	1	3(90)	3(3)	16.98
4	2(50)	1	2	9.42
5	2	2	3	11.97
6	2	3	1	12.30
7	3(75)	1	3	11.52
8	3	2	1	11.02
9	3	3	2	12.15
K_1	36.71	30.09	32.47	
K_2	33.69	33.57	32.15	
K_3	34.69	41.43	40.47	
k_1	12.24	10.03	10.82	
k_2	11.23	11.19	10.72	
k_3	11.56	13.81	13.49	
R	1.01	3.78	2.77	

表 3 NO_2^- 的回收率实验

试样号	亚硝酸钠含量 (mg/kg)	亚硝酸钠标准使用液加入量 (mg/kg)	亚硝酸钠测定量 (mg/kg)	回收率 (%)
散装	14.57	10.0	24.88	99.1
	14.50	10.0	24.53	100.3
	147.62	10.0	24.49	98.7
	14.40	10.0	24.53	101.3
袋装	1.42	10.0	11.22	98.0
	1.52	10.0	11.42	99.0
	1.46	10.0	11.52	100.6
	1.69	10.0	11.50	98.1

中,用上述所得最佳条件测其含量,其亚硝酸根含量计算公式为:

$$X = (50 \times a) / [m \times (20/75) \times (20/50) \times 1000]$$

其中: x 为亚硝酸根含量 (mg/kg), m 为称取的质量 (g), a 为吸光值 A 所对应的值 (mg/L)。

平行测定五次,其结果如表 2 所示。

表 2 散装酸菜中亚硝酸根含量的测定结果

次数	1	2	3	4	5	平均值
亚硝酸根含量 (mg/kg)	36.76	32.54	33.88	34.36	35.83	34.67

3.2 回收率实验

准确称取散装酸菜 10.0~20.0g,用 20.0mL 蒸馏水浸取,加入 3~4mL NaOH 溶液、10.0mL ZnSO_4 溶液,水浴中加热 10min,冷却至室温,定容至刻度,静置 30min 后过滤。将滤液混合在一起,吸取混合液 10.0mL,同时在另一份中加入亚硝酸钠标准使用液,用上述选定条件测其吸光值。同时做袋装酸菜的回收率实验。

4 结论

本文采用格里斯试剂作为显色剂,确定了测定酸菜中亚硝酸根离子含量的方法,方法检出限为 $1 \times 10^{-2} \text{mg/L}$ 。经过多次测定和回收实验,表明该方法的准确度和精确度皆符合要求。

参考文献:

- [1] 食品卫生检验方法[M],中国标准出版社,1996.
- [2] 张爱梅,等.分析化学[J],1997,7(4):814.
- [3] 李贵荣.理化检验[J],1994,3(31):37.
- [4] 夏心龙,等.分析实验[J],1988,7(4):41.
- [5] 李建国,等.分析化学[J],1997,5(3):590.
- [6] 杨维平,等.分析化学[J],1997,8(4):955.
- [7] 刘程,周汝仲.食品添加剂实用大全[M].北京工业大学出版社,1994,10.
- [8] 黄伟坤,等.食品检验和分析[M].中国轻工业出版社,1989,1.
- [9] 费荣昌,费定晖,等.概率统计[M].无锡轻工业大学出版社,1997,7.
- [10] 杨晓泉,李易梅.绿色食品与防癌[M].华南理工大学出版社,1998,1.