

亚硝酸盐危害与一种新的亚硝酸盐含量测定方法的探讨

郑 健

(钦州市产品质量监督检验所, 广西 钦州 535000)

【摘 要】亚硝酸盐俗称“硝盐”, 主要指亚硝酸钠和亚硝酸钾, 是一种白色不透明结晶的化工产品, 形状极似食盐。亚硝酸盐是剧毒物质, 同时还是一种致癌物质。酸性条件下利用亚硝酸盐具有氧化性的特性氧化 KI 生成 I_2 , I_2 和淀粉作用灵敏地生成 I_2 -淀粉蓝色络合物及产生特效反应, 由此建立光度法测定食品中亚硝酸盐含量的新分析方法。

【关键词】亚硝酸盐; 健康危害性; 测定方法; 比较

【中图分类号】TS255.54 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1674-0688(2010)04-0047-03

Discussion on the Hazard of Nitrite and a New Assay Method

ZHENG Jian

(Qinzhou Product Quality Supervision Administration, Qinzhou Guangxi 535000)

【Abstract】 Known as saltpeter, nitrite, a white opaque crystalloid like salt, is consisted of Sodium nitrite and potassium nitrite. It is a highly toxic substance and carcinogen. The new nitrite assaying method is based on photometry, since in the acid condition, according to its oxidability KI can be oxidized into I_2 , and I_2 -amylum blue clathrate and special reaction are produced by the reaction between I_2 and amylum.

【Key words】 nitrite; hazards to health; measuring methods; comparison

亚硝酸盐是工业用盐, 常见的亚硝酸盐有亚硝酸钠和亚硝酸钾, 为白色或微黄色的结晶或颗粒粉末, 其无臭, 味微咸涩稍苦, 易潮解, 易溶于水, 是一种剧毒品。亚硝酸盐在建筑工地用作水泥防交流剂、锅炉水的软化剂; 在食品业用作肉制品的发色剂, 但在国家标准中, 肉制品的亚硝酸盐含量是被限制的。由于亚硝酸盐的外观很像食盐、碱面、白糖和发酵粉, 因此常被人误食而引起食物中毒。此外, 亚硝酸盐在人体中易跟蛋白质中的胺类物质结合, 形成强致癌物亚硝胺。亚硝胺在天然食物中含量极少, 最易引发胃癌、食道癌和肝癌, 也会引发鼻咽癌和膀胱癌。

腌制食品中多含有亚硝酸盐, 比如腌肉常使用亚硝酸钠, 它跟肉内的肌红蛋白发生化学反应生成亚硝酸基肌红蛋白, 可以使熟肉变得鲜红, 并能抑制梭状芽孢杆菌及肉毒杆菌的生长, 从而延长食品的贮存时间。目前, 肉食品多采用真空包装, 而肉毒杆菌能在真空条件下生长繁殖, 故火腿、香肠等食品都常加亚硝酸盐。

此外, 亚硝酸盐还和农作物中的硝酸盐有关。硝酸盐本身毒性不大, 但它进入人体后在硝酸还原菌的作用下很容易转化为亚硝酸盐。我国氮肥施用量按单位种植面积算, 比世界平均水平高 2 倍以上。土壤中氮肥含量高, 农产品中硝酸盐含量也高。统计数据表明, 我国人均每日膳食摄入硝酸盐为 300 mg,

其中来自蔬菜的占 80% ~ 90%。尤其是经常食用以叶、茎、根为主的蔬菜的人, 体内硝酸盐、亚硝酸盐的含量较多。据 2003 年对北京蔬菜硝酸盐含量的调查, 硝酸盐含量从高到低依次为: 绿叶菜 > 白菜类 > 根茎类 > 瓜茄类 > 葱蒜类 > 豆类 > 果类 > 水生植物类。硝酸盐在硝酸还原酶的作用下会形成亚硝酸盐, 使得蔬菜在储存或腌制过程中亚硝酸盐的含量迅速上升。

实际上, 蔬菜腐烂时有大量细菌产生, 形成大量的亚硝酸盐。如果腌制的蔬菜没腌透, 蔬菜中的亚硝酸盐含量也比较多。一般蔬菜腌制半天以后, 亚硝酸盐的含量开始增多, 逐渐达到高峰后开始降低, 腌制蔬菜需 30 d 左右才达到允许食用的水平。腌制蔬菜时, 酸性物质不利于亚硝酸盐生成, 因此, 采用低盐、高温、厌氧、加酸、加糖等方法可降低亚硝酸盐含量。但是如果腌制用的容器、水、菜腌制时受细菌污染, 也会使腌制蔬菜的亚硝酸盐增多。

亚硝酸盐的测定方法有多种, 如紫外可见分光光度法 (比色法)、催化发光光度法 (钼还原分光光度法)、示波极谱法、气相色谱法和高效液相色谱 (HPLC) 法等。国际方法为 Griess 试剂比色法 (N-1-萘基乙二胺比色法), 此方法 (1992 年颁布实施) 基本是食品中 GB 5009.33—85 (1985) 方法的翻版, 而现行食品中亚硝酸盐测定方法已被改进后的 1996 年版代替,

【作者简介】郑健(1978—), 男, 广西合浦人, 钦州市产品质量监督检验所助理工程师, 从事产品检验工作。

表 1 两种国标方法比较

	GB 5009.33—85 和 GB 13085—91	GB 5009.33—1996
沉淀剂	饱和四硼酸钠溶液 亚铁氰化钾溶液 (10.6%) 乙酸锌溶液 (22%)	氯化铵缓冲液 (pH 为 9.6~9.7) 硫酸锌溶液 (120 g/L) 氢氧化钠 (20 g/L)
显色剂	对氨基苯磺酸 (0.4% 和 0.5%) 盐酸萘乙二胺溶液 (0.2% 和 1%) 盐酸 (5 mol/L)	对氨基苯磺酸 (1%) N-1-萘基乙二胺溶液 (0.1%) 乙酸 (60%)
比色	分光光度法 (538 nm)	分光光度法 (550 nm)

两法存在明显差异(见表 1)。

这些方法具有较高的准确度,但大多使用大型检测仪器,这使分析成本增大,操作复杂。因此,研究亚硝酸盐测定的简单、准确检测方法在食品安全、环境保护和临床医学等方面都有着重要的实际意义。本实验研究利用 NO₂ 具有氧化性的特性,在含有 NO₂ 的试液中加入 KI, NO₂ 氧化 I⁻ 生成 I₂, 含 I₂ 的试液中加入淀粉后很灵敏地产生 I₂-淀粉蓝色络合物,淀粉适量时试液蓝色的深浅与亚硝酸含量在一定范围内呈线性关系。研究表明,利用该特效反应可实现食品中 NO₂ 含量的分光光度法测定。

1 实验原理和方法

1.1 实验原理

根据 NO₂ 具有氧化性的特点,酸性条件下,往含有 NO₂ 的试液中加入 KI-淀粉溶液,利用 NO₂ 氧化 I⁻ 生成 I₂, I₂ 与淀粉作用生成 I₂-淀粉蓝色络合物使溶液变蓝的特效显色反应,在最大吸收波长为 540 nm 下,依据朗伯-比耳定律分光光度法测定 NO₂ 含量,反应式为 $2I^- + 2NO_2 + 4H^+ = I_2 + 2NO + 2H_2O$ 。

1.2 实验方法

取不同浓度 NO₂ 标准液或试液置于容量瓶中,往 50 mL 试液中分别加入 1.0×10^{-2} g/mL KI 溶液 10 mL, 0.3% 淀粉 4 mL, HAc 调节试液 pH 为 5~6,室温下放置 6 min 后,在 1 cm 比色皿 540 nm 波长条件下测定其吸光度,校准曲线光度法测定 NO₂ 含量。

1.3 试剂与仪器

- (1) NaNO₂、KI、可溶性淀粉、饱和硼砂溶液、HAc、Zn (HAc)₂ 均为分析纯或优级纯;水为二次去离子水。
- (2) Cavy50conc 紫外可见分光光度计。
- (3) TU-1800 紫外可见分光光度计。
- (4) GR-200 电子天平。

2 结果与分析

2.1 I₂-淀粉络合物最大吸收波长

双光束分光光度计分别考查了所用试剂 KI、I₂、淀粉溶液以及 I₂-淀粉蓝色络合物在 250~800 nm 波长范围内光吸收情况(见图 1、图 2、图 3)。实验结果表明, I₂ 和淀粉在 420~

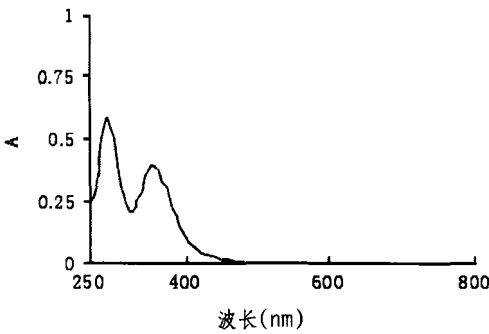


图 1 I₂ 吸收曲线

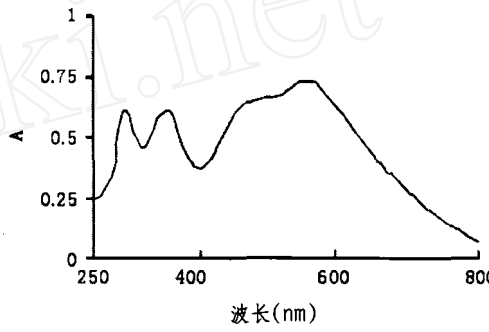


图 2 I₂-淀粉络合物吸收曲线

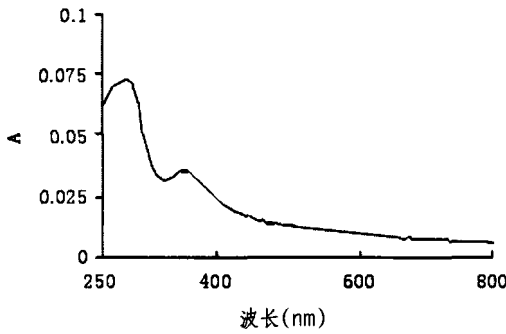


图 3 淀粉吸收曲线

800 nm 波长范围内基本无吸收, KI 在 250~800 nm 波长范围内对光均无吸收, I₂-淀粉蓝色溶液在 540 nm 处有最大吸收处,而实验所用试剂在此波长范围内均无吸收, 250~340 nm 波长范围内 I₂ 有吸收,但与 I₂-淀粉蓝色溶液最大吸收有较大的波长差,说明利用 NO₂ 氧化 I⁻ 生成 I₂, I₂ 与淀粉作用生成 I₂-淀粉蓝色络合物的特效显色反应在 540 nm 波长下光度法测定 NO₂ 含量的新方法是合理的,而且方法具有较好的选择性。关于实验参比液的选择,根据吸收光谱实验,本实验选择以试剂作为参比,比色池厚度 1 cm。

2.2 酸种类与酸度条件选择

由于显色反应是在酸性条件下进行,酸种类与试液的酸度不同均对实验结果产生较大影响。关于酸的种类,由于 HNO₃ 有强氧化性, HCl 中的 Cl⁻ 有还原性,而 H₂SO₄ 酸性太强并使反应速度极快,故均不能使用,因此,本实验选用 HAc 调节试液酸度。对于试液酸度,通过考查试液在不同 pH 值条件下显色后吸光度的改变,结果表明在 pH 为 5 时效果较好。本实

验采用 HAc 调节试液的酸度为 pH=5 的条件下显色。

2.3 KI 浓度选择

KI 用量对吸光度的准确测定影响较大,用量过大生成的 I_2 单质过多而使 I_2 -淀粉络合物颜色太深,影响吸光度随 NO_2 浓度变化的线性关系,用量过小则显色不明显而影响分析灵敏度。经考查不同浓度 KI 吸光度的变化,结果表明,试液中 KI 浓度在 1×10^{-2} g/mL 线性关系明显,效果最好。本实验采用 KI 浓度为 1.0×10^{-2} g/mL,总体积为 50 mL 的试液中加入 10 mL。为了防止 KI 溶液中 I^- 被氧化,配制 KI 溶液所用的二次去离子水应进行去氧处理,并将配制的 KI 溶液放置于冰箱中,3 d 后重新配制。

2.4 淀粉用量的选择

淀粉作为 I_2 -淀粉特效显色反应的显色剂,灵敏度很高,且在反应中淀粉用量对显色反应影响很大,在试液酸度为 pH=5、KI 浓度为 1×10^{-2} g/mL 条件下考查了加入不同浓度淀粉显色后对吸光度的影响,实验结果表明,淀粉的合适浓度为 0.3%;总体积为 50 mL 的试液中加入 0.3%淀粉 4 mL 效果最好。本实验选用 50 mL 试液中加入 0.3%淀粉 4 mL。

2.5 显色反应时间选择

显色时间影响显色反应效果,为防止 KI 在放置过程被空气氧化产生 I_2 而使吸光度测定结果不准确,本实验选择在试液中加入 KI、淀粉后置于暗处,并对显色时间进行考察,实验表明在 6~8 min 时效果最好。本实验选择显色反应时间为 6 min。

2.6 反应温度的选择

考察了试液温度的变化对实验结果影响,结果表明在室温到 30 °C 范围同一份试样吸光度无显著变化。本实验选择在室温下显色。

2.7 校准曲线、线性范围、检出限、相对标准偏差

在选定的最佳实验条件下, NO_2 的浓度在 $8.0 \times 10^{-4} \sim 7.0 \times 10^{-6}$ g/mL 范围内与吸光度的变化呈现良好线性关系(见表 1),其校准曲线的回归方程为 $A = 0.01841 + 0.10193C$, $r = 0.9995$ 。 $NaNO_2$ (g/mL) 7.0×10^{-6} , 1.0×10^{-5} , 3.0×10^{-5} , 5.0×10^{-5} , 7.0×10^{-5} , 8.0×10^{-4} 的吸光度分别为: 0.043、0.066、0.306、0.472、0.767、0.957。不同浓度 $NaNO_2$ 下的 I_2 -淀粉络合物吸

光度($n=5$)对浓度为 5.0×10^{-6} g/mL 的亚硝酸盐进行 11 次平行测定,所得方法的相对标准偏差为 0.7%,按照 IUPAC 建议,计算出方法检出限为 5.0×10^{-8} g/mL。

2.8 共存物质的影响

考察常见物质对亚硝酸盐测定的影响,在相对误差不大于 5% 的条件下,对于浓度为 5.0×10^{-5} g/mL 的亚硝酸盐,共存物质允许量为 2 000 倍的 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Fe^{3+} ; 1 000 倍的 Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Al^{3+} 、 Co^{2+} ; 500 倍的葡萄糖、丙二酸根、苯甲酸钠。

2.9 样品分析

准确称取匀浆样 10 g 于 100 mL 烧杯中,加入 60 mL 70~80 °C 的热水和 7.5 mL 硼砂饱和液,置于沸水浴中不断搅拌下加热 15 min。冷却后再加入 5 mL 亚铁氰化钾溶液、5 mL 乙酸锌溶液和 1 g 活性炭,转入 100 mL 容量瓶中,加水定容至标线,摇匀,过滤,滤液备用。取 5 mL 滤液至 50 mL 容量瓶中,依照前述实验方法加入相关试剂后定容至标线,摇匀放置 6 min 后测其吸光度,计算其 NO_2 的含量。[2]

参 考 文 献

- [1] 聂峰,吴迎春,陈德径,等.光度法测定食品中亚硝酸盐含量[J].食品科学,2009,30(4).
- [2] 朱克永.催化光度法测定食品中亚硝酸盐[J].四川食品与发酵,2001,36(3):50-53.
- [3] 袁有完.重氮偶合分光光度法测定微量亚硝酸根[J].理论检测化学手册,2000(7):4-5.
- [4] 韩志辉,吕昌银.吡啶红荧光猝灭法测定痕量亚硝酸根[J].中国卫生检验杂志,2004,14(3):287-288.
- [5] 黄明元,甘露,贺东秀.离子色谱法测定纯水中痕量亚硝酸根[J].中国卫生检验杂志,2005,15(10):1189-1190.
- [6] 杨玉珍,彭方仁,曹一达.不同种源香椿芽硝酸盐、亚硝酸盐及 VC 含量变化的研究[J].食品科学,2007,28(6):48-50.
- [7] 姚魏,徐淑坤.流动注射-毛细管电泳直接紫外测定环境中水的亚硝酸根[J].分析化学,2002,30(7):836-838.
- [8] 中华人民共和国国家标准委员会.中华人民共和国国家标准[S].北京:化学工业出版社,1994.

[责任编辑:刘新英]