



实 验

食品中亚硝酸盐的光度法测定





一、实验目的

- 1、了解分光光度法的基本原理及应用；
- 2、学会使用excel制作工作曲线并得到样品含量；
- 3、掌握实际样品的预处理方法。

二、实验原理

亚硝酸盐是一种食品添加剂，起着色、防腐作用，广泛用于熟肉类、灌肠类或罐头类等肉类食品及腌菜类食品。

按GB2760规定，肉类罐头或腌制罐头亚硝酸钠残留量不得超过50 mg/kg；肉制品或火腿肠不得超过30 mg/kg。国家标准《GB2714-2003酱腌菜卫生标准》规定，亚硝酸盐残留量（以 NaNO_2 计）不得超过20 mg/kg。



亚硝酸盐在人体内与仲胺、叔胺或氨基化合物反应形成强致癌物亚硝胺化合物，严重威胁着人们的身体健康，因此对亚硝酸盐的检测是十分必要的。

酱腌菜是人们日常生活中必不可少的佐餐佳品，本实验选取最常见的榨菜作为分析样品，采用超声分散技术提取食品中的亚硝酸盐，利用分光光度法对亚硝酸盐的含量进行测定。



根据有色溶液对可见光的吸收，利用分光光度计在某一特定波长下测其吸光度，根据浓度和吸光度成正比的关系，从而得到有色溶液的浓度。

朗伯-比耳定律的
数学表达式为：

$$A = kbC$$

A—吸光度

C—有色物质的浓度

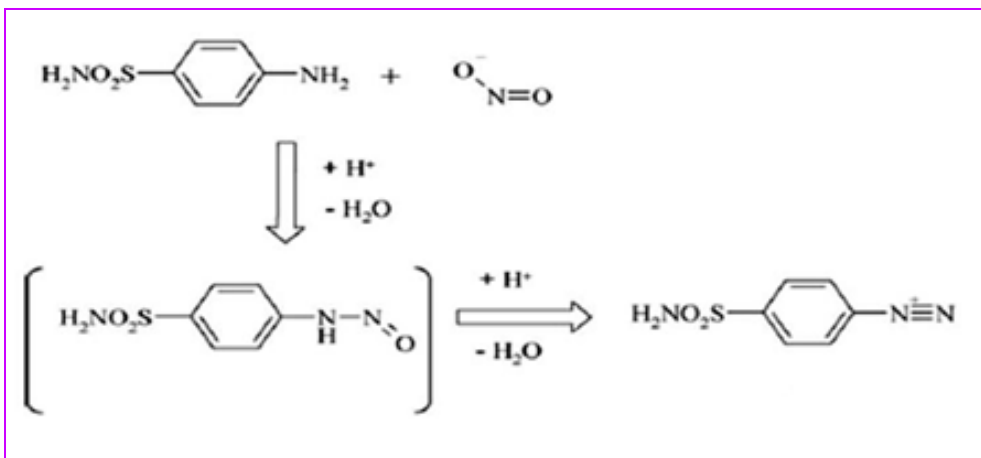
b—比色皿的厚度

K—比例常数，与入射光的波长以及溶液的性质、温度等因素有关。

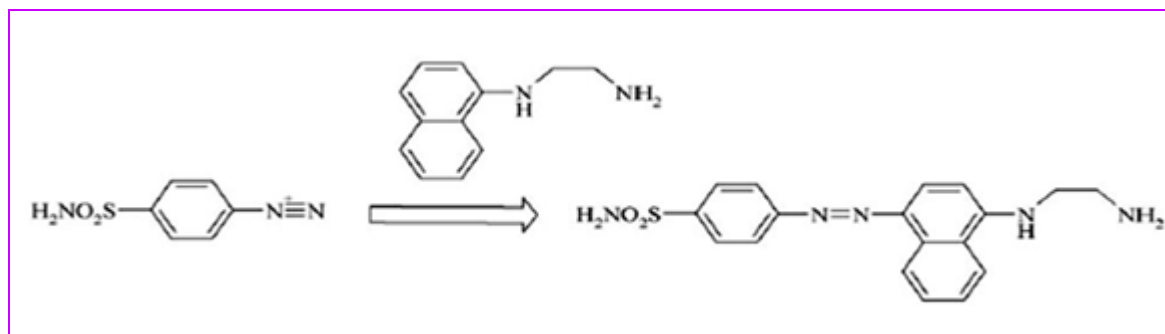
本实验采用盐酸萘乙二胺为显色剂，样品经处理成待测溶液后，在弱酸性条件下溶液中的亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化后，再与盐酸萘乙二胺偶合形成紫红色溶液，利用分光光度计于538nm处测定其吸光度，采用工作曲线法测得亚硝酸盐的含量。



相关反应方程式



亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生硝基化反应



与盐酸萘乙二胺衍生化生成重氮化合物



相关仪器设备:

超声波仪器



粉碎机



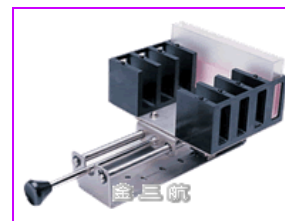
分光光度计



波长调节



比色皿



比色槽

HH-4 数显恒温水浴锅

江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司

恒温水浴锅





三、实验试剂（四人一组，自己配制）

1. 对氨基苯磺酸溶液（4g/L）：称取1.0g对氨基苯磺酸，溶于250mL20%(V/V)盐酸中，混匀，避光。
2. 盐酸萘乙二胺溶液(2g/L)：称取0.2g盐酸萘乙二胺，溶于100mL水中，混匀后避光保存。
3. 亚硝酸钠标准溶液（200 μ g/mL）：准确称取0.1000g亚硝酸钠，
(实验室给定标准溶液) 加水溶解移入500 mL容量瓶中，定容。
4. 亚硝酸钠标准使用液（5.0 μ g/mL）：临用前，准确移取给定的亚硝酸钠标准溶液2.5mL至100 mL容量瓶，稀释，定容，摇匀。



四、实验步骤

1. 试样提取

相邻两人一组

榨菜



用粉碎机
搅成匀浆



准确称
取10g
浆液



准确加入50
mL去离子水



沸水浴
中加热
10 min

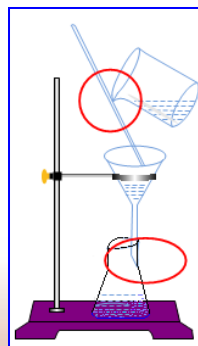


超声波
中分散
10 min



用滤纸吸去
上层脂肪

过滤



收集
滤液
待用



2. 分析测定

洗净10个50 mL
容量瓶



吸取2mL样品处理滤液
于一个容量瓶中

另外各吸取自配的亚硝酸
钠标准使用液 ($5.0\mu\text{g/mL}$)

0.00 mL、0.20 mL、0.40 mL、
0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL、
1.50 mL、2.00 mL、2.50 mL

其它九个
容量瓶中

加入对氨基苯磺酸

2 mL

静止
5 min

加入盐酸萘乙二胺

1 mL

定容

静止
15 min

放入1cm比色皿

注意：先润洗，
浓度从低到高

538 nm处
测定吸光度

记录

同时选择试剂空白做参比

不加显色剂的榨菜汁处理液



五、数据处理

将浓度和测定的吸光度一一对应输入Excel表格，绘制标准溶液的工作曲线，得到线性方程。

通式为 $Y=kX+b$ 和 相关系数 R^2 （一般要求 R^2 为0.999x）。
通过此线性方程可直接计算榨菜中亚硝酸盐的含量。
(以亚硝酸钠计mg/g)



六、注意事项

- 1、实验中试剂加入顺序应严格遵循操作步骤；
- 2、使用的比色皿必须是洁净的，手指要捏在毛玻璃面。每次测定前，要用相应标准溶液或样品溶液润洗，注意浓度从低到高；
- 3、比色皿放入比色槽内时，应注意它们的准确位置；
- 4、测定前，要用试剂空白做参比（不加显色剂的榨菜汁处理液）。
- 5、全部测量完毕，应立即打开比色槽暗箱的盖子，以免光电管长时间受光线照射产生“疲劳现象”。取出比色皿，并将比色皿洗净放好。



七、思考题

- 1、实验中配制的比色溶液，所加各种试剂的作用是什么？
- 2、加入试剂的顺序是否可颠倒？为什么？
- 3、本实验所用的参比溶液为什么选用试剂空白，而不直接用去离子水？