

硝酸根电极法同时测定肉制品中 硝酸盐和亚硝酸盐含量

周心怡 张添 刘杰

(食品科学与工程系)

摘要 用硝酸根电极同时测定肉制品中硝酸盐和亚硝酸盐含量。以0.1mol/l硫酸钠作为总离子强度调节剂,在pH3.4±0.1,硝酸根电极在硝酸钠4.0—30μg/ml浓度范围内呈良好的能斯特应答。一次标准加入法定量。在酸性条件下,用过氧化氢氧化提取液中NO₂⁻,测得NO₃⁻总量,然后用差减法求得NO₂⁻含量。用本法测定了13种市售肉制品中硝酸盐和亚硝酸盐含量。变异系数2.31%—9.83%,回收率95.0%—108.4%。用NO₃⁻和镉柱还原法,NO₂⁻和萘乙二胺比色法进行了对照,结果无显著性差异(α0.05)。

关键词 硝酸盐;亚硝酸盐;离子电极

由于硝酸盐和亚硝酸盐对人类的危害及作为食品添加剂大量应用于肉制品加工。因此,建立一种快速、准确、简便的测定方法已十分迫切^[1,2,3,4]。国际上认为,采用离子电极测定NO₃⁻和NO₂⁻是快速测定的一种研究方向。作者参阅了国内外测定NO₃⁻和NO₂⁻的有关文献^[5,6,7,8,9,10,11,12],研究了国产NO₃⁻电极工作的实验条件及各种干扰离子的去除方法,采用标准加入法定量。该法适用于复杂样品体系,尤其是含有添加色素样品的检测。

1 实验

1.1 仪器和试剂

1.1.1 仪器

PXS-215型数字式离子活度计 精度0.1mv 上海雷磁仪器厂

pHS-2型酸度计 上海雷磁仪器厂

722型光栅分光光度计 上海第三分析仪器厂

217型甘汞电极(外盐桥0.1mol/lNa₂SO₄溶液,需经常更换)。

231型玻璃电极 上海电光器件厂

614-B₂₃KVA型电子交流稳压器 苏州电工仪器厂

电热恒温水浴锅 上海医疗器械厂

定量进样器 上海医用仪器厂

1.1.2 试剂

本文1990年10月13日收到。

本实验用水均为高纯水, 化学试剂均为分析纯。

NaNO₃标准溶液的配制 准确称取120℃干燥过2h的NaNO₃4.2495g, 加入少许水微热溶解, 冷却后用水定容至500ml, 得10⁻¹mol/l NaNO₃贮备液。以后逐级稀释得10⁻²mol/l、10⁻³mol/l、10⁻⁴mol/l、10⁻⁵mol/l和10⁻⁶mol/l的工作液。

准确称取120℃干燥过2h的NaNO₃1.000g, 加少许水溶解并定容至500ml, 得2000μg/ml贮备液。临用前将此液稀释得到500μg/ml、100μg/ml、10μg/ml和5μg/ml的工作液。

亚硝酸钠标准溶液的配制 准确称取0.5000g于硅胶干燥器中干燥24h的NaNO₂, 用水溶解移入500ml容量瓶中, 并稀释至刻度, 得1000μg/ml贮备液。临用前以此液稀释得100μg/ml、10μg/ml、和5μg/ml的工作液。

饱和硼砂溶液 称取50g硼砂溶于1000ml热水中, 冷却后备用。

30% ZnSO₄溶液 称取150g ZnSO₄溶于500ml水中, 放冷后过滤。

0.03mol/l硫酸铝和0.06mol/l的硼酸混合液 称取4.96g硫酸铝和0.93g硼酸溶于500ml水中。

1mol/l Na₂SO₄溶液 称取161g Na₂SO₄·10H₂O溶于500ml水中。

0.02mol/l H₂O₂溶液 准确吸取36% H₂O₂0.1ml于50ml容量瓶中, 加水稀释至刻度, 应临用时配制。

1% NH₂SO₃H溶液 称取0.5g NH₂SO₃H溶于50ml水中, 贮于棕色瓶中, 可保存半月。

Ag₂SO₄ 固体

1mol/l H₂SO₄

1mol/l NaOH

0.4%对氨基苯磺酸溶液 称取0.4g对氨基苯磺酸, 用20%的盐酸稀释定容至100ml。避光贮存。

0.2%盐酸茶基乙二胺溶液 称取0.2g盐酸茶基乙二胺溶于100ml水中。避光保存。

1.2 条件试验

1.2.1 电极的线性关系和检测限 为了确保硝酸根电极的能斯特斜率在测定过程中不变。考虑到样品提取液中NO₃⁻和NO₂⁻的含量, 在NaNO₃1—30μg/ml浓度范围内对电极的mV-PNO₃⁻关系进行测定。试验所用电极的线性关系和检测限, 结果见表1和图1。

实验结果证明: 在纯水中, 当NaNO₃浓度在1.0—30μg/ml范围, lgC_{NaNO₃}与电极测得mV值有良好的线性关系, 回归方程为:

$$Y = -285.2 + 57.7x \quad r = 0.9999$$

能斯特斜率为57.7mV/PNO₃⁻, 结果符合电极出厂的要求。加入总离子强度调节剂Na₂SO₄、有机酸阴离子抑制剂Al₂(SO₄)₃和H₃BO₃后, 电极的电位正向移动, 能斯特斜率有所变化。但在NaNO₃2.0—30μg/ml浓度范围内, 线性关系良好。回归方程分别为:

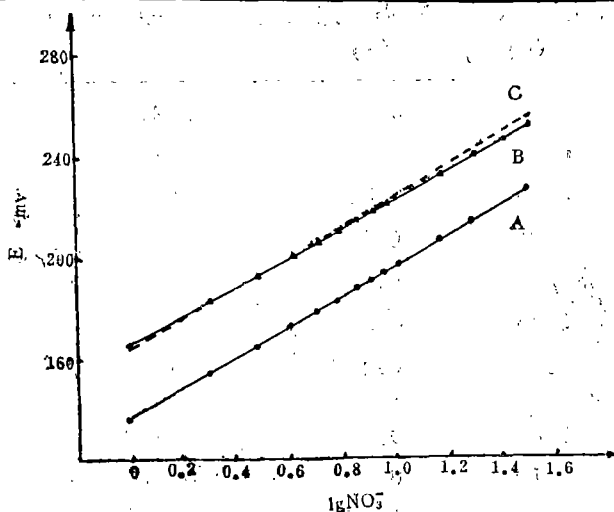
$$Y = -258.4 + 55.7x \quad r = 0.9998$$

$$Y = -258.9 + 56.5x \quad r = 0.9997$$

试验说明加入以上试剂是可行的。

表 1 电极的线性关系和检测限

C NaNO ₃ (μg/ml)	gC NaNO ₃	测得电位 (-mV)		
		纯水	0.1mol/lNa ₂ SO ₄	Na ₂ SO ₄ Al ₂ (SO ₄) ₃ H ₃ BO ₃
0		330.0	256.4	263.4
1.0	0	285.2	250.9	255.0
2.0	0.3010	268.0	241.8	241.9
3.0	0.4771	257.8	232.4	232.0
4.0	0.6020	250.3	225.2	225.3
5.0	0.6990	244.9	219.0	220.1
10	1.0000	227.3	202.4	201.0
15	1.1760	217.3	193.8	192.7
20	1.3010	210.2	186.8	185.9
25	1.3980	204.5	180.7	179.8
30	1.4770	200.0	176.8	175.8



A——在纯水中； B——在0.1 mol/l Na₂SO₄中；

C——在0.1 mol/l Na₂SO₄, 0.03mol/lAl₂(SO₄)₃ 0.06mol/lH₃BO₃中

图 1 电极的线性关系和检测限

1.2.2 氯离子对电极测定NO₃⁻的影响及干扰的去除

a. Cl⁻的干扰 根据电极说明书, $K_{NO_3}^{Cl^-}$ 为 4.9×10^{-2} , Cl⁻ 干扰较大, 一般肉制品中 NaCl 用量为 1%—10%。拟定的取样方法是, 50ml 测定液中含样品 1g, 即 NaCl 约在 0.01—0.1g。在此范围内进行干扰试验。结果见表 2。

表 2 说明了 Cl⁻ 对电极测定 NO₃⁻ 有严重影响, 硝酸盐含量低时尤其严重。

b. Cl⁻ 干扰的去除 加入 Ag₂SO₄, 使 Cl⁻ 与 Ag⁺ 作用生成 AgCl 沉淀可消除干扰。表 3 和图 2 说明了这种情况

表 2 Cl^- 的干扰

NaNO_3 含量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	加入 NaCl (g)	电位(-mV)	ΔE (mV)
5.0	0	212.0	0
5.0	0.05	191.9	20.1
5.0	0.10	182.7	29.3
5.0	0.20	171.3	40.7
45.0	0.05	157.9	2.0
45.0	0.10	155.8	4.1
45.0	0.15	154.2	5.7
45.0	0.20	152.5	7.4

表 3 Cl^- 干扰的去除

NaNO_3 含量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	NaCl 加入量 (g)	Ag_2SO_4 加入量 (g)	电位(-mV)	ΔE (mV)
5 (50ml)	0	0	212.0	
5	0.05	0.05	191.9	20.1
5	0.05	0.08	206.1	5.9
A 5	0.05	0.134	210.7	1.3
5	0.05	0.175	211.9	0.1
5	0.05	0.200	212.0	0
5	0.05	0.250	212.0	0
50	0.00	0.00	161.9	
50	0.10	0.150	159.9	2.0
B 50	0.10	0.270	161.0	0.9
50	0.10	0.350	162.0	-0.1
50	0.10	0.500	162.1	-0.2

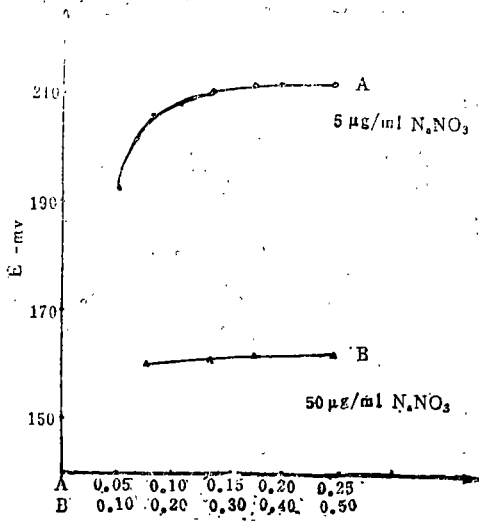


图2 Cl⁻干扰的去除

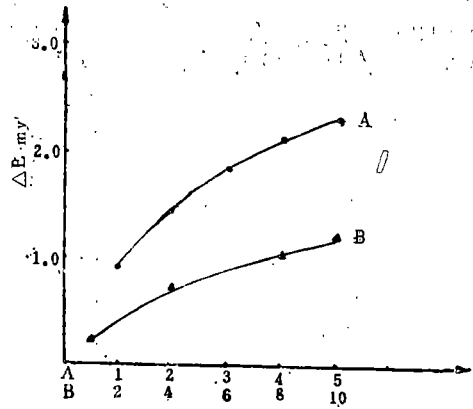


图3 NO₂⁻对NO₃⁻测定的影响

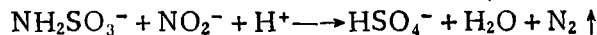
1.2.3 NO₂⁻的干扰及去除

a. NO₂⁻的干扰 我们使用的401型电极,生产厂家没有说明电极的K_{NO₃⁻}, 据资料报道NO₂⁻对电极测定NO₃⁻有干扰作用,为了证实这点,我们做了试验,结果如表4,实验证明: NO₂⁻测定有一定干扰且随NO₃⁻浓度的降低而加剧。

表4 NO₂⁻对NO₃⁻测定的影响

NaNO ₃ 含量(µg/ml)	加入NaNO ₂ 量(µg/ml)	测得电位(-mV)	ΔE
5	0	222.0	
5	1	219.1	0.9
5	2	218.6	1.4
5	3	218.2	1.8
5	4	217.9	2.1
5	5	217.7	2.3
10	0	188.7	
10	1	188.5	0.2
10	4	188.0	0.7
10	8	187.7	7.0
10	10	187.5	1.2

b. NO₂⁻对NO₃⁻测定干扰的去除 消除NO₂⁻的影响,我们采用的方法是加入氨基磺酸掩蔽,其反应式如下:



反应需在酸性条件下进行,经过试验,我们选择的酸度为pH3.4±0.1。表5和图4是在硝酸

钠 $5\mu\text{g/ml}$ 浓度下,加入 $5\mu\text{g/ml}$ 和 $10\mu\text{g/ml}$ 亚硝酸钠后用不同量的 $1\%\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 进行掩蔽的试验结果。

表 5 NO_2^- 干扰的去除

NaNO_3 浓度 ($\mu\text{g/ml}$) ($0.1\text{mol/l Na}_2\text{SO}_4$ 中)	NaNO_2 加入量 $5\mu\text{g/ml}$	$1\%\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 加入量(ml)	测得电位 (-mV)	ΔE
5	0	0	224.2	
5	5	0.2	223.8	0.4
5	5	0.4	224.1	0.1
5	5	0.5	224.2	0
5	5	0.8	224.2	0
5	5	1.0	224.1	-0.1
5	0	0	224.5	
5	10	0.5	224.1	0.4
5	10	1.0	224.4	0.1
5	10	1.5	224.2	0.3
5	10	2.0	224.2	0.3
5	10	2.5	224.2	0.3

试验结果说明,当存在一定含量的亚硝酸盐时,加入 $1\%\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 的ml数应是 NaNO_2 浓度($\mu\text{g/ml}$)的 $1/10$ 即可消除干扰。

1.2.4 测定液 pH 条件的选择 分别准确吸取 $1000\mu\text{g/ml NaNO}_3$ 标准液 0.25ml 和 0.50ml 于 50ml 烧杯中,加入 1mol/l 的 Na_2SO_4 5ml ,分别用 NaOH 或 H_2SO_4 调 pH 后定容,用电极测定电位,结果如表 6 和图 5。试验说明在 pH $3.2-5.5$ 之间,电极测定 NO_3^- 时电位最稳定, pH 的影响最小。考虑到下列三个因素: a. 采用 $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 掩蔽 NO_2^- 有一个合适酸度; b. $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 在 pH >4.3 时产生水解; c. 用 H_2O_2 氧化 NO_2^- 酸性愈强,氧化愈完全。

此我们选择的 pH 为 3.4 ± 0.1 。

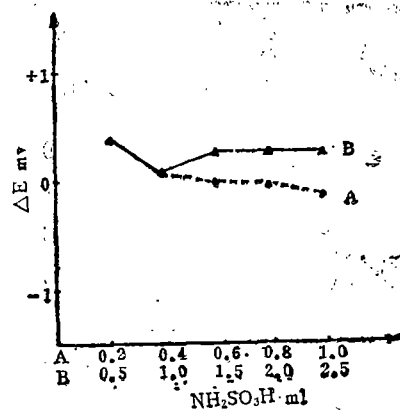
图 4 NO_2^- 干扰的去除

表 6 pH的选择

NaNO ₃ 含量(μg/ml)	pH	测得电位(-mV)	ΔE(mV)
5	没有调	218.5	
5	2.87	219.6	-1.1
5	3.34	218.6	-0.1
5	4.52	218.5	0
5	5.11	218.5	0
5	6.82	217.3	1.2
10		185.7	
10	2.52	186.6	-0.9
10	3.12	185.9	-0.2
10	4.31	185.7	0
10	5.57	185.7	0
10	6.55	184.9	0.8

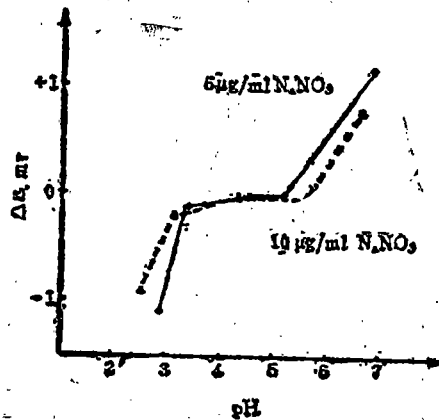


图 5 pH 的选择

1.2.5 过氧化氢的用量根据理论计算氧化 100μg NaNO₂ 需 0.02mol/l H₂O₂ 0.24ml, 考虑到 H₂O₂ 极易分解, 因此需适当扩大用量, 待完成氧化后, 将溶液煮沸除去过量的 H₂O₂。表 7 是试验结果。

表 7 H₂O₂的用量

NaNO ₃ 含量(μg/ml)	加入NaNO ₂ 量(μg)	H ₂ O ₂ 加入量(ml)	测得NaNO ₂ 量(μg)
10	25	0.5	22.1
10	25	0.6	23.2
10	25	0.7	23.9
10	25	0.8	24.9
10	25	1.0	25.0
10	50	1.2	46.7
10	50	1.4	47.8
10	50	1.6	48.9
10	50	1.8	50.0
10	50	2.0	50.0

试验结果证明25 μg 的 NaNO_2 加入1.0ml0.02mol/l的 H_2O_2 可完全被氧化。

1.2.6 NO_3^- 电极测定电位的重复性试验 根据以上选择的各种条件,我们对 NO_3^- 电极进行了重复性试验,以观察电极测定的平行性。结果如表8。

表 8 电极测定电位的重复性

NaNO_3 含量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	测得电位(-mV) $N=7$	平均值	变异系数
5.0	212.0 211.9 212.1 212.0 211.9 212.2 212.0	212.0	0.05%

1.3 样品测定

1.3.1 样品中 NO_3^- 和 NO_2^- 的提取 称取切碎混匀试样10.0g,于100ml烧杯中加入25ml饱和硼砂溶液搅拌均匀,用35ml70 $^\circ\text{C}$ 左右温水将样品全部洗入250ml容量瓶中,置75 $^\circ\text{C}$ 水浴中浸取0.5h并不停搅动,取出后冷至室温,一边转动,一边加入5ml ZnSO_4 溶液,滴加1mol/l NaOH 调pH至8—9,加水至刻度,混匀。冷却后除去上层脂肪,过滤。弃初滤液30ml,其它滤液供测定用。

1.3.2 测定步骤

a. 吸取上述样品滤液25.0ml于50ml烧杯中,用1mol/l H_2SO_4 滴加至pH3.0,加入1.0ml 0.02mol/l H_2O_2 ,摇匀,1min后,置电炉上加热煮沸2min,除去过量的 H_2O_2 。冷却后依次加入5ml 1mol/l Na_2SO_4 , 5ml0.03mol/l $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 和 H_3BO_3 混合液,调pH至 3.4 ± 0.1 ,加入0.175g Ag_2SO_4 固体,电磁搅拌1min,全部转移入50ml容量瓶中,加入一定量标准 NaNO_3 后稀释至刻度^[13],摇匀。用定量滤纸过滤,弃去初滤液10ml,吸取25.0ml滤液测定电位值 E_0 ,用定量加液器加入0.10ml2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的硝酸钠标液;测得电位 E_1 ,用一次标准加入法公式计算 NaNO_3 的总量。

电极在使用前应用标准 NaNO_3 求得实际的mV/PNO $_3^-$ 因子。

b. 另吸取25.0ml样品滤液于50ml烧杯中,依次加入5ml 1mol/l Na_2SO_4 , 5ml0.03mol/l $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 和0.06mol/l H_3BO_3 混合液,1ml1% $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$,调pH至 3.4 ± 0.1 ;再加入0.175g Ag_2SO_4 ,电磁搅拌1min,全部转移入50ml容量瓶中,加入一定量标准 NaNO_3 后稀释至刻度^[13],摇匀。用定量滤纸过滤,弃去初滤液10ml,吸去25.0ml滤液测定,测定方法同a一致。得 NaNO_3 分量。

c. 亚硝酸钠量为 NaNO_3 总量减 NaNO_3 分量,除化学因素1.232,用算法求得。

1.3.3 计算公式

$$C_x = \frac{C_s V_s}{V_x + V_s} \cdot \frac{1}{(10^{AE/s} - 1)}$$

式中

C_s ——加入的 NaNO_3 标准溶液(浓度为2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

V_s ——加入的 NaNO_3 标准溶液的体积(ml)

V_x ——25ml滤液

E_0 ——25ml滤液测得的电位值

E_1 ——25ml滤液加入0.10ml标准 NaNO_3 后测得的电位值

ΔE —— $E_1 - E_0$

S ——电极实际斜率

C_x ——25ml 测定液中 NaNO_3 含量($\mu\text{g}/\text{ml}$)

样品中:

$$\text{NaNO}_3 \text{ 总量 } (\mu\text{g}/\text{g}) = (C_x \cdot 25 - 0.1 \times 2000) \times \frac{50}{25} \times \frac{250}{50} \times \frac{1}{W}$$

0.1×2000为25ml样品滤液中添加标准 NaNO_3 量

W ——样品重量(g)

NaNO_3 分量亦采用上述公式求得

$$\text{NaNO}_2 \text{ 量 } (\mu\text{g}/\text{g}) = [\text{NaNO}_3 \text{ (总量)} - \text{NaNO}_3 \text{ (分量)}] / 1.232$$

2 样品测定结果与讨论

2.1 样品测定值

样品测定值见表9。

样品名称及产地	n	表9 样品测定值			单位($\mu\text{g}/\text{g}$)		
		NaNO_3	S	C.V.(%)	NaNO_2	S	C.V.(%)
西式火腿(无锡)	6	9.7	0	0	7.6	1.39	7.72
香肠(1)(成都)	6	132.5	3.00	2.26	115.2	5.34	1.95
香肠(2)(成都)	6	45.0	2.75	6.11	10.9	2.88	4.93
香肠(3)(成都)	6	101.3	2.85	2.81	21.3	2.94	2.31
午餐肉(1)(扬州)	6	17.9	1.76	9.83	5.6	1.81	7.30
午餐肉(2)(扬州)	6	22.3	1.81	8.12	6.2	1.43	4.77
午餐肉(3)(上海)	6	26.0	2.25	8.64	5.8	2.31	6.94
火腿罐头(扬州)	6	24.7	1.86	7.53	7.8	2.11	6.15
火腿(金华)	6	70.5	2.07	2.93	2.7	2.14	2.90
香肚(南京)	6	144.7	4.03	2.79	3.4	4.27	2.87
午餐牛肉(扬州)	6	35.7	1.81	5.07	5.3	1.47	3.48
肉脯(靖江)	6	52.1	1.51	2.90	3.1	1.51	2.70
肉脯(江阴)	6	66.3	2.01	3.03	7.5	2.07	2.74

2.2 回收率试验

回收率试验结果见表10。

表10 回收率试验

样品名称 及产地	样品 含量	NaNO ₃ (μg/g)			NaNO ₂ (μg/g)			
		加入 量	测得 量	回收率 (%)	样品 含量	加入 量	测得 量	回收率 (%)
西式火腿(无锡)	9.7	50	59.2	100.2	7.6	10	17.4	98.0
香肠(1)(成都)	132.5	100	236.4	104.4	115.2	50	169.4	108.4
香肠(2)(成都)	45.0	100	144.6	99.6	10.9	10	20.4	95.0
香肠(3)(成都)	101.3	100	198.3	97.3	21.3	50	71.6	100.5
午餐肉(1)(扬州)	17.9	50	68.6	101.6	5.6	10	15.4	98.0
午餐肉(2)(扬州)	22.3	50	71.0	99.0	6.2	10	15.8	96.0
午餐肉(3)(上海)	26.0	50	76.6	100.6	5.8	10	16.0	102.0
火腿罐头(扬州)	24.7	50	75.2	101.2	7.8	10	17.9	101.0
火腿(金华)	70.5	100	171.2	101.2	2.7	10	12.6	99.0
香肚(南京)	144.7	100	239.2	95.2	3.4	10	13.1	97.0
午餐牛肉(扬州)	35.7	50	83.0	95.0	5.3	10	15.2	99.0
肉脯(靖江)	52.1	50	99.2	95.2	3.1	10	12.5	94.0
肉脯(江阴)	66.3	100	165.7	98.7	7.5	10	17.4	99.0

2.3 对照试验

本法测定结果硝酸钠与镉柱还原法,亚硝酸钠与茶基乙二胺法进行了对照试验。结果见表11。

表11 对照试验

样品名称及产地	LSE法(μg/g)		国标法(μg/g)	
	NaNO ₃ 含量	NaNO ₂ 含量	NaNO ₃ 含量	NaNO ₂ 含量
西式火腿(无锡)	9.7	7.6	9.0	8.4
香肠(1)(成都)	132.5	115.2	130.8	112.5
香肠(2)(成都)	45.0	10.9	44.5	10.3
香肠(3)(成都)	101.3	21.3	99.5	20.7
午餐肉(1)(扬州)	17.9	5.6	17.2	5.8
午餐肉(2)(扬州)	22.3	6.2	22.0	5.9
午餐肉(3)(上海)	26.0	5.8	26.3	5.3
火腿罐头(扬州)	24.7	7.8	24.4	7.3
火腿(金华)	70.5	2.7	69.4	2.4
香肚(南京)	144.7	3.4	142.7	2.9
午餐牛肉(扬州)	35.7	5.3	35.1	4.9
肉脯(靖江)	52.1	3.1	添加色素	添加色素
肉脯(江阴)	66.3	5.5	添加色素	添加色素

参 考 文 献

- 1 黄梅丽, 江小梅. 食品化学. 中国人民大学出版社, 1986
- 2 刘志民. 现代实用毒物分析. 人民卫生出版社, 1984
- 3 食品卫生国家标准汇编, 1988
- 4 I.S.O. 1984, (E)6635
- 5 Usher, J Sci Food Agnc, 1975; 26(11): 1793—1805
- 6 魏国勤. 食品与发酵工业, 2 1987
- 7 曲长菱等译. 阴离子测定手册. 冶金工业出版社, 1987
- 8 黄德培. 离子选择性电极的原理及应用. 新时代出版社, 1982
- 9 Dig Regor10 J S. Anal Chem. 1970; 42, 94
- 10 Morie G D. Anal Chim Acta. 1972; 60, 297
- 11 Pferiffer, J A O AC, 1975; 58(5): 915—919
- 12 Chol K K. Analyst, 1980; 105, 241—245
- 13 李永波. 离子选择电极通讯. 1983; 35, 3

Determination of Nitrate and Nitrite in Meat Products by Nitrate Selective Electrode

Zhou Xinyi Zhang Tiao Liu Jie
(Dept. of Food Sci. and Eng.)

Abstract The determination of nitrate and nitrite in meat products by I. S.E. is investigated. The chloride in the sample isolate is precipitated with silver sulfate. Aluminium sulfate, orthoboric acid and sulfoamidic acid and sulfoamidic acid are added to eliminate the interference of organic acid anion and nitrate in the filtrate. 0.1 mol. sodium sulfate is used as T.I.S.A.B. At pH 3.4 ± 0.1 , the response of nitrate electrode is line up to $4.0-30 \text{ NaNO}_3 \mu\text{g/ml}$. On the other hand, nitrite in the isolate is oxidized with hydrogen peroxid at acidic condition. Then the nitrite is determined by different methods. The concentration of nitrate and nitrite in thirteen meat products is determined by applying the standard addition method. The precision and recovery of this method are within 2.31%—9.83% and 95.0%—108.4% respectively.

Keywords Nitrate; Nitrite; Nitrate selective electrode