

# 增加沉淀剂用量对食品亚硝酸盐检测的影响

李怡 王兴婷 高芸芸 杨帆 甘肃省食品检验研究院 兰州 730000

**摘要:** 试验按照《食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》第二法检测食品中亚硝酸盐,发现个别样品溶液加入蛋白沉淀剂过滤后滤液呈浑浊现象,无法进行比色实验,当沉淀剂加入量增加一倍时,除了乳粉制品之外,其余样品滤液均呈现澄清透明状态,达到紫外可见分光光度计比色实验要求。同样,乳粉制品按照《食品安全国家标准食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》第三法进行检测试验,加入 535g/L 硫酸锌溶液,172g/L 亚铁氰化钾溶液各 30mL 后样品溶液均呈现澄清透明状态,达到紫外可见分光光度计比色实验要求。

**关键词:** 蛋白沉淀剂; 样品滤液; 亚硝酸盐; 比色实验

## 1 引言

亚硝酸盐是一类含氮无机化合物的总称,是自然界中最普遍的含氮化合物。我们现在提到的亚硝酸盐,一般主要指的是亚硝酸钠,亚硝酸钠是白色或淡黄色的粉末,有时也呈颗粒状,味道微微带咸,易溶于水。食物生产中亚硝酸盐主要作为发色剂和防腐剂来使用。亚硝酸盐作为肉制品护色剂,可与肉制品中的肌红蛋白反应生成玫瑰色亚硝基肌红蛋白,增进肉的色泽。此外,还可增进肉的风味和防腐剂的作用,防止肉毒梭菌的产生和延长肉制品的货架期。但是,亚硝酸盐在食品生产中过量也可能引发中毒和疾病。测定亚硝酸盐的含量是食品安全检测中非常重要的项目。

食品中亚硝酸盐的检测方法为(GB 5009.33-2016)第二法,也是常用方法之一。这种检测法要求

前处理时加入蛋白沉淀剂为亚铁氰化钾溶液(106g/L),乙酸锌(220g/L)各 5mL。本研究在对样品溶液中加入沉淀剂后,过滤的滤液为浑浊液,无法进行比色实验的问题进行分析。然而,实验在增加蛋白沉淀剂的加入量后,能使样品滤液澄清透明从而达到比色分析的要求。

## 2 试验方法

### 2.1 试剂与材料

亚硝酸钠基准试剂(NaNO<sub>2</sub> CAS号:7632-00-0);四硼酸钠(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司);亚铁氰化钾(分析纯,天津市凯信化学工业有限公司);乙酸锌(分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司);硫酸锌(分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司)冰乙酸(分析纯,天津市百



世化工有限公司)；盐酸(分析纯，上海沪试化学试剂有限公司)；对氨基苯磺酸(分析纯，上海中泰化学试剂有限公司)；盐酸萘乙二胺(分析纯，上海化学试剂厂)。样品均来源于本地市场购买。

## 2.2 仪器与设备

实验仪器有：ME204 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)，UV-2700 紫外可见分光光度计(日本岛津)，HH-4 恒温水浴锅(北京科伟仪器有限公司)。

## 2.3 试验方法

### 2.3.1 标准物质和主要溶液的配制

亚硝酸钠标准溶液的配制：参照国标 GB5009.33-2016 的方法配置成浓度为 200 μg/mL 的标准储备液。临用前，吸取 2.50mL 亚硝酸钠标准储备液，置于 100mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，配置成 5.0 μg/mL 的标准使用液。

50g/L 饱和硼砂的配置：称取四硼酸钠 5.0g，溶于 100mL 热水中，冷却后备用。

106g/L 亚铁氰化钾溶液：称取 106.0g 亚铁氰化钾，用水溶解后定容 1000mL。

220g/L 乙酸锌溶液：称取 220.0g 乙酸锌，先加入 30mL 冰乙酸溶解，再用水稀释至 1000mL。

4g/L 对氨基苯磺酸溶液：称取 0.4g 对氨基苯磺酸，溶解于 100mL(20%) 盐酸中，混匀，置于棕色瓶中避光保存。

2g/L 盐酸萘乙二胺溶液：称取 0.2g 盐酸萘乙二胺，溶于 100mL 水中，混匀，置于棕色瓶中避光保存。

硫酸锌溶液：将 53.5 g 的硫酸锌 (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) 溶于水中，并稀释至 100 mL。亚铁氰化钾溶液：将 17.2 g 的三水亚铁氰化钾 [K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>·3H<sub>2</sub>O] 溶于水中，稀释至 100 mL。

### 2.3.2 样品的制备

样品经过研磨混合均匀，根据 GB5009.33-2016

第二法要求称取适量样品，置于 250mL 具塞三角瓶中，加 12.5mL 50g/L 饱和硼砂溶液，加入纯净水(70℃左右)的水约 150mL，混匀，与沸水浴中加热 15min，取出置冷水浴中冷却，并放置至室温。定量转移上述提取液至 200mL 容量瓶中，加入 5mL 106g/L 亚铁氰化钾溶液，摇匀，再加入 5mL 220g/L 乙酸锌溶液，以沉淀蛋白质。加水至刻度，摇匀，放置 30min，除去上层脂肪，上清液用滤纸过滤，弃去初滤液 30mL，滤液备用。同时做试剂空白。

## 3 试验讨论

3.1 取 24 个不同类别样品，加入 106g/L 亚铁氰化钾溶液和 220g/L 乙酸锌溶液蛋白沉淀剂各 5mL 后，沉淀效果如下列各表。

表一 样品溶液中加入各 5mL 蛋白沉淀剂后滤液澄清程度

样品名称	火腿	皮冻	腌黄瓜	卤牛肉	牛肉干	卤鸭脖	陇西腊肉	风味羊杂
样品滤液澄清程度	澄清	浑浊	澄清	澄清	浑浊	澄清	澄清	浑浊

表二 样品加入各 5mL 蛋白沉淀剂后滤液澄清程度

样品名称	虾滑	香菜肉丸	牛板筋	五香驴肉	腊排骨	烧鸡	牦牛肉	鱼肉丸
样品滤液澄清程度	浑浊	澄清	浑浊	澄清	澄清	浑浊	澄清	浑浊



表三 样品加入各 5mL 蛋白沉淀剂后滤液澄清程度

样品名称	酸豆角	虎皮辣子	泡椒莲花菜	酸辣萝卜条	纯牛奶	去脂乳粉	加糖乳粉	婴幼儿乳粉
样品滤液澄清程度	澄清	澄清	澄清	澄清	澄清	浑浊	浑浊	浑浊

由表一、表二、表三所得结果可知，酱腌菜类，液体乳类、火腿类和个别卤肉类含蛋白脂肪少的食品样品，样品滤液呈现澄清透明，虾滑，皮冻、牛板筋、乳粉制品样品滤液呈现浑浊现象。

3.2 根据 2.1 过滤后不同样品滤液浑浊程度，加入不同量的沉淀剂后滤液的澄清程度如下列各表：

表四 样品溶液加入各 8mL 蛋白沉淀剂后滤液澄清程度

样品名称	皮冻	牛肉干	风味羊杂	虾滑	牛板筋
加入 106g/L 亚铁氰化钾 (mL)	8	8	8	8	8
加入 220g/L 乙酸锌 (mL)	8	8	8	8	8
样品滤液澄清程度	浑浊	澄清透明	澄清透明	浑浊	浑浊

  

样品名称	鱼肉丸	去脂乳粉	加糖乳粉	婴幼儿乳粉	烧鸡
加入 106g/L 亚铁氰化钾 (mL)	8	8	8	8	8
加入 220g/L 乙酸锌 (mL)	8	8	8	8	8
样品滤液澄清程度	澄清透明	浑浊	浑浊	浑浊	澄清透明

表五 样品加入各 10mL 蛋白沉淀剂后滤液澄清程度

样品名称	皮冻	去脂乳粉	加糖乳粉	婴幼儿乳粉	牛板筋
加入 106g/L 亚铁氰化钾 (mL)	10	10	10	10	10
加入 220g/L 乙酸锌 (mL)	10	10	10	10	10
样品滤液澄清程度	澄清透明	浑浊	浑浊	浑浊	澄清透明

由表四所得结果可知，牛肉干、风味羊杂、鱼肉丸和烧鸡样品溶液当加入各 8mL 蛋白沉淀剂后，滤液呈现澄清透明状态。由表五所得结果可知，皮冻、牛板筋、乳粉制品在加入各 10mL 蛋白沉淀剂后，除乳粉制品外其余滤液均呈现澄清透明状态。

3.3 乳粉制品再次加大蛋白沉淀剂加入量，从 15mL ~ 20mL 加入不同剂量后滤液澄清程度如下表：

表六 乳粉溶液中加入各 15mL 蛋白沉淀剂后滤液澄清程度

样品名称	去脂乳粉	加糖乳粉	婴幼儿乳粉
加入 106g/L 亚铁氰化钾 (mL)	15	15	15
加入 220g/L 乙酸锌 (mL)	15	15	15
样品滤液澄清程度	浑浊	浑浊	浑浊

表七 乳粉溶液中加入各 15mL 蛋白沉淀剂后滤液澄清程度

样品名称	去脂乳粉	加糖乳粉	婴幼儿乳粉
加入 106g/L 亚铁氰化钾 (mL)	20	20	20
加入 220g/L 乙酸锌 (mL)	20	20	20
样品滤液澄清程度	浑浊	澄清透明	浑浊

由表六所得结果可以看出，乳粉样品溶液在加入各 15mL 蛋白沉淀剂后，滤液均呈现浑浊现象。由



表七可知,乳粉样品溶液在加入各 20mL 蛋白沉淀剂后,加糖乳粉滤液澄清透明,去脂乳粉、婴幼儿乳粉滤液均呈现浑浊现象,无法达到紫外可见分光光度计比色要求。

3.4 根据 GB5009.33-2010 第三法《乳及乳制品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》方法要求,沉淀蛋白和脂肪的溶液为 535g/L 硫酸锌溶液和 172g/L 亚铁氰化钾溶液,本研究将该两种溶液作为蛋白沉淀剂加入乳粉样品溶液中,沉淀效果如下表。

表八 乳制品溶液中加入各 24mL 蛋白沉淀剂后滤液澄清程度

样品名称	纯牛奶	巴氏杀菌乳	去脂乳粉	加糖乳粉	婴幼儿乳粉
加入 535g/L 硫酸锌溶液 (mL)	24	24	24	24	24
加入 172g/L 亚铁氰化钾 (mL)	24	24	24	24	24
样品滤液澄清程度	澄清透明	澄清透明	澄清透明	澄清透明	浑浊

表九 乳粉制品溶液中加入各 30mL 蛋白沉淀剂后滤液澄清程度

样品名称	婴幼儿乳粉
加入 535g/L 硫酸锌溶液 (mL)	30
加入 172g/L 亚铁氰化钾 (mL)	24
样品滤液澄清程度	澄清透明

表八结果可以看出,液体乳、去脂乳粉、加糖乳粉在 GB5009.33-2010 要求下加入 535g/L 硫酸锌溶液和 172g/L 亚铁氰化钾溶液各 24mL 后,滤液均能呈澄清透明状,婴幼儿乳粉样品滤液浑浊。表九结果可知,加入各 30mL 后,婴幼儿乳粉样品滤液呈现澄清透明状,可以进行下一步比色实验分析。

## 4 结论

根据 GB5009.33-2016《食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》中规定食品样品在进行亚硝酸盐检测时,应首先要加入沉淀剂去除蛋白和脂肪,食品基质成分不同,蛋白沉淀效果也不同。经过上述分析发现,样品溶液在加入 106g/L 亚铁氰化钾溶液和 220g/L 乙酸锌溶液各 5mL 来沉淀蛋白后,酱腌菜类、液体乳类、火腿肠类蛋白质含量低的样品滤液都呈现澄清透明状。皮冻、牛肉干、虾滑、牛板筋等蛋白质含量高的样品在加入蛋白沉淀剂各 10mL 后样品溶液滤液均能呈现澄清透明状。所有的乳粉制品滤液在沉淀剂加入量加大到 20mL 后,滤液始终呈浑浊状态。

根据 GB5009.33-2010 第三法《乳及乳制品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》中使用 535g/L 硫酸锌溶液和 172g/L 亚铁氰化钾溶液作为蛋白沉淀剂,来去除样品溶液中的蛋白和脂肪。去脂乳粉和加糖乳粉在标准要求各加 24mL 下滤液均达到澄清透明状,而婴幼儿奶粉将蛋白沉淀剂加大剂量到 30mL 后,滤液才呈现澄清透明状。■

## 参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.33-2010 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定方法. 中国标准出版社, 2010
- [2] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. GB5009.33-2016 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定方法. 中国标准出版社, 2016
- [3] 王燕燕, 高希武, 梁沛, 史雪岩. 蛋白质沉淀剂对小舟蛾谷胱甘肽 S-1-转移酶的部分纯化. 林业科技开发-应用研究, 2010,24(2): 44-46
- [4] 吴春莲. 分光光度法测定肉制品中亚硝酸盐的含量研究. 河北农业科学, 2007,11(4): 97-99
- [5] 卞玲娟, 何浩. 改进分光光度法测定食品中的亚硝酸盐含量. 食品安全质量检测学报, 2017,8(4): 1490-1493
- [6] 吴云普, 梁晓文, 潘锦秀等. 可见分光光度法测定惠州梅菜中亚硝酸盐含量的方法. 天津农业科学 2014,20(12): 16-18

