

蔬菜中亚硝酸盐含量的测定—消除Vc干扰法

福建龙岩地区卫生防疫站

张亚平 邱卿如 陈惠琴

编者按 本文对Vc对测定 NO_2^- 干扰进行了系统的研究,并提出了改进的方法,有一定的参考价值,但各地在监督工作中仍应按国家规定的方法进行测定。

亚硝酸盐可在人体内外与二级胺类作用合成强致癌性的N—亚硝基化合物。蔬菜是易于富集硝酸盐的植物性食品,在存放期间所含硝酸盐可转化为亚硝酸盐,故一些报道^{〔1-3〕}研究了蔬菜中硝酸盐及亚硝酸盐存在的情况并作卫生学评价。目前测定蔬菜中 NO_2^- 量的样品处理方法有果蔬抽提剂(酸性pH1)浸提法^{〔4-5〕},水浸(中性)提取法^{〔2-6〕}。由于蔬菜一般含有一定量维生素C(Vc),样品中Vc和 NO_2^- 均为水溶性而同时进入溶液,在提取或显色条件下, NO_2^- 会被Vc还原而受损失。已有资料^{〔7〕}提示重氮偶合比色法不适直接用于含Vc样品的 NO_2^- 测定,现有文献^{〔1-7〕}报导了测定食品中 NO_2^- 方法,但未见报道消除Vc干扰的方法,为消除Vc干扰准确测定样品中 NO_2^- ,进而作较客观的卫生学评价,我们探索建立了以活性炭在碱性条件下破坏Vc后测定 NO_2^-

的方法,方法简便快速。结果满意。

1 测定方法

1.1 原理:在处理样品时,必须保护 NO_2^- 不被Vc还原,并在 NO_2^- 重氮化前消除Vc。根据Vc是个还原剂,其在酸性及碱性条件都易被氧化; NO_2^- 在酸性条件呈现氧化性(标准电位 $E^\circ = +0.99$ 伏),而在碱性条件不呈现氧化性($E^\circ = -0.46$ 伏)的化学性质^{〔8〕},又由Vc检测法可用活性炭氧化Vc^{〔5〕}的提示,采用在碱性条件下处理样品保护 NO_2^- ,加活性炭氧化Vc为无干扰的脱氢Vc而消除其干扰,并同时起样液脱色作用。

1.2 主要仪器和试剂:7520型数显式分光光度计(上分厂);组织捣碎机; NaNO_2 标准溶液:5 $\mu\text{gNO}_2^-/\text{ml}$;1mol/LNaOH溶液;活性炭(粉末状);抗坏血酸(Vc)溶液,2mg/ml;重氮偶合比色试剂依法^{〔9〕}配制。试剂用分析纯,水为去离子水。

相应的作用物氧化后,能还原无色的TTC形成红色化合物从而使菌体染成红色,而杂质不被着色,使菌落计数清晰可辨、客观准确。此外,采用涂抹法还有利于检出需氧菌。有关资料表明,用涂抹法检出菌落数较倾注法为优^{〔2-3〕},本文应用之结果也证明了这一点。当然,在应用TTC—涂抹法时应注意以下两点影响因素:

3.5 在制备TTC琼脂平板和测定过程中均要在严格的无菌条件下进行,以免受到杂菌的污染。

3.6 所用吸管要进行校正,因本法的取样

量为0.2ml,因此吸量要准确,以减少取样所致的结果误差。

总之,应用TTC—涂抹法检出食品中细菌总数具有操作简单、受影响因素少、菌落计数准确客观、检出结果较国家标准法高等特点,更能反映样品的实际卫生状况,具有一定的实用价值。

参 考 资 料

1. 卫生部·食品卫生检验方法(微生物学部分)·1985, P8—10.
2. 李兆普,等·中国公共卫生学报·1988, 7(5), 290
3. 芮期义·解放军预防医学杂志·1989, 7(2), 216.

1.3 操作步骤: 取检样 10~30g, 加 1 mol/L NaOH 溶液 2ml, 加水 100ml, 制成匀浆液, 此浆液盛于 250ml 具塞锥形瓶, 加入活性炭 5g, 振摇 1 分钟, 放置 30 分钟后, 用布氏漏斗抽滤, 滤液定容待测。取适量滤液适当稀释定容, 按重氮偶合比色法^[9]测定 NO_2^- 。

2 结果和讨论

2.1 样品处理方法的条件试验

2.1.1 NaOH 用量及活性炭用量: 系列试验表明, 对样品加水 100ml 提取, 1mol/L NaOH 用量 1~4ml, 活性炭用量 4~8g, 测定 NO_2^- 结果基本一致, 且回收率较好, 本法选用加 1mol/L NaOH 2ml, 活性炭 5g。

2.1.2 碱性条件下 Vc 对 NO_2^- 的影响: 试

表 1

不同量 Vc 对本法测定 NO_2^- (25 $\mu\text{g}/100\text{ml}$) 吸光度的影响

加 Vc 量 (mg)	5	10	20	30	40	未加 Vc 和活性炭
测得吸光度值 A	0.414	0.414	0.410	0.363	0.335	0.414
A/A ⁰ (%)	100.0	100.0	99.03	87.68	80.92	Δ ₀

(表 1), 本实验溶液中即使 Vc 量达 20mg, 经本法处理, 测定 NO_2^- 基本无干扰。本法所取检样 10~30g, 其中还原型 Vc 量一般不会超过 20mg。

2.2.2 本法处理测定 NO_2^- 的重现性和回收率: 结果表明本法处理消除 Vc 干扰测定

表 2

本法重现性试验结果

加 NO_2^- 量 ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	加 Vc 量 (mg/100ml)	各次测得 NO_2^- 量 ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)						均值	标准差	变异系数 (%)
		1	2	3	4	5	6			
25	20	24.49	23.82	24.77	23.70	23.54	23.93	24.04	0.48	2.00
50	20	50.45	49.66	50.00	49.66	47.18	47.49	49.07	1.38	2.81
100	20	95.72	99.55	96.17	95.50	98.42	99.10	97.41	1.82	1.86

表 3

本法回收试验结果

蔬菜编号	1	2	3	1	2	3
样原含量 ($\mu\text{g}/20\text{g}$)	67.88	41.00	51.80	67.88	41.00	51.80
加入 NO_2^- 量 (μg)	25.0	25.0	25.0	50.0	50.0	50.0
测得量 (μg)	91.92	64.82	75.96	118.23	88.98	100.34
回收量 (μg)	24.04	23.82	24.16	50.35	47.98	48.54
回收率 (%)	96.16	95.28	96.64	100.7	95.96	97.08

验表明在碱性溶液 100ml 中加入 NO_2^- 25~100 μg 与 Vc 20mg, 放置 0~40 分钟后, 才加入活性炭处理, 不同放置时间测定加同量的 NO_2^- 液结果无差别, 且回收率符合准确度要求, 故本法于样品制浆前加入 NaOH 溶液可在制浆和浸取过程中保护 NO_2^- 不受 Vc 作用。

2.1.3 加活性炭后放置时间的影响: 碱性实验溶液 100ml 中含 NO_2^- 25~100 μg , Vc 10~30mg, 加活性炭后放置 5~40 分钟, 再过滤测定 NO_2^- , 结果表明放置消除 Vc 时间与 Vc 存在量有关, 放置 20 分钟以上, 测定 NO_2^- 回收率较高, 本法选用放置 30 分钟。

2.2 本法测定 NO_2^- 消除 Vc 干扰的效果

2.2.1 不同量 Vc 对本法的影响: 结果表明

NO_2^- 重现性良好(表 2)。取蔬菜样品依本法处理测定 NO_2^- 原含量后, 于处理液中加入标准量 NO_2^- , 进行回收试验(表 3, 表中 1. 小白菜; 2. 包菜; 3. 萝卜), 结果得回收率平均为 96.97%, 标准差 1.93%, 符合分析准确度要求。

2.2.3 不同处理方法测定 NO_2^- 的比较: 平行试验了本法, 水浸提取法(中性法)和pH1浸提法(酸性法)在同量Vc存在下处理测定 NO_2^- , 结果表明(表4)酸性法和中性法测定结果均显著偏低, 不符合分析准确度要求, 而本法结果较为满意。同一蔬菜样切细

混匀等分后, 分别以本法和中性法平行处理测定 NO_2^- , 结果表明(表5)两法测定值有显著性差异($P < 0.01$), 差异大小应与蔬菜样中Vc含量有关, 本法测定值应可较真实反映样品中 NO_2^- 量。

表 4 不同处理方法受Vc(20mg/100ml)影响的比较

加 NO_2^- 量 (ug/100ml)	10	25	50	100	150
本法测得量 (ug)	9.26	23.93	47.49	99.10	148.6
中性法测得量(ug)	0.398	1.30	2.23	3.38	5.84
酸性法测得量(ug)	0.114	1.510	1.72	2.48	3.69

表 5 两种处理方法测得蔬菜 NO_2^- 量的比较

蔬菜名称	本法测得量 (mg/kg)	中性法测得量 (mg/kg)
油菜(1)	3.74	0.721
油菜(2)	3.52	0.601
包菜	8.02	4.93
小白菜	9.07	4.39
韭菜	6.31	3.45
白萝卜(1)	0.287	0.024
白萝卜(2)	6.68	1.52
丝瓜	0.428	0.264
南瓜	0.186	0.118

3 结语

本文研究了以活性炭消除Vc对测定 NO_2^- 干扰的适宜条件, 提出了测定蔬菜中 NO_2^- 的适宜的样品处理方法, 避免了原有方法处理样品测定 NO_2^- 受Vc严重干扰的不足。本法处理样品简便, 既消除Vc的干扰又同时使样液脱色, 处理测定重现性和准确度均较好, 适于实际应用。其它类含Vc食品中 NO_2^- 的测定亦可参照本文提出的样品处理方法。

参 考 文 献

- [1] 聂国等, 长沙地区成人硝酸盐亚硝酸盐及总抗坏血酸摄入水平, 中华预防医学杂志1987, 21(3), 144.
- [2] 黄连珍, 等·食品中亚硝酸盐及其含量的调查·食品科学1988, (4), 51,
- [3] 杨惠芬等·蔬菜中硝酸盐、亚硝酸盐含量及卫生学评价、卫生研究1989, 18(3), 45.
- [4] 无锡轻工业学院等·食品分析·第一版·北京, 轻工业出版社。1985, 233~239.
- [5] 黄伟坤等编著·食品检验与分析·第一版·北京, 轻工业出版社, 1989, 161~165; 98~100.
- [6] 胡国刚·镉柱比色法测定饮水、食物和生物样品中硝酸盐、亚硝酸盐·中华预防医学杂志1983, 17(5), 304.
- [7] 郑州粮食学院译·日本食品工业学会《食品分析方法》编委编·食品分析方法·下册·第一版·成都, 四川科学技术出版社, 1986, 66; 207.
- [8] 甘肃师范大学化学系·简明化学手册·第一版·兰州, 甘肃人民出版社, 1980, 987,
- [9] 中华人民共和国卫生部·食品卫生检验方法理化部分第一版·北京, 中国标准出版社, 1986, 121~122.