

亞硝酸鹽之檢驗

王佩蓮 呂美芳

國立臺灣師範大學化學系

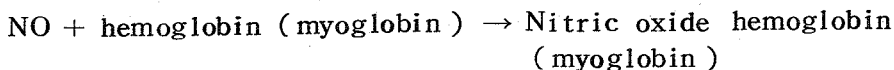
一、目的：

定量肉類製品中之亞硝酸鹽。

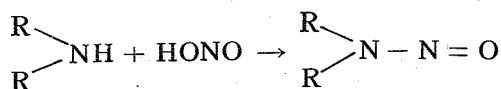
二、原理：

在我國亞硝酸鹽與硝酸鹽同是合法的食品添加物，列屬於保色劑之中，用以保持香腸、火腿等肉類製品的鮮紅色。

鮮肉中因有血紅蛋白（hemoglobin）及肌紅蛋白（myoglobin）而成鮮紅色，此二種蛋白質受熱或腐壞後即會變性而呈灰黑色，亞硝酸鹽在還原狀態下會轉變成一氧化氮（Nitric oxide, NO），可與上述二種蛋白結合成穩定的變性蛋白一氧化氮亞鐵血紅質，呈現紅色。



本質上硝酸鹽對哺乳動物是沒有毒的，被消化的硝酸離子很容易由尿中排出，但是，含有硝酸鹽的食品在貯存期間，由於細菌的作用使硝酸鹽易還原成亞硝酸鹽，亞硝酸鹽除了有上述的反應以外，過多的亞硝酸鹽是具有毒性的，其毒性主要是可以和胺作用，形成N-亞硝基化合物或亞硝酸胺（N-Nitrosoamine），尤其是二級胺（在食品中主要是游離胺基酸）與亞硝酸鹽作用，會產生致癌性的物質。



三、儀器及藥品

(1) 儀器：錐形瓶500毫升2只，漏斗1個，Nessler氏比色管5支（或用光電比比色計管5支），量筒100毫升，10毫升各1支，量瓶1000毫升1只，溫度計1支，三梁天平一台，本生燈1支，鐵架及鐵環1付。

(2) 藥品：8%昇汞飽和溶液（ HgCl_2 solution）7毫升

亞硝酸鈉（Sodium Nitrite）2克

氯仿（Cloroform）1~3毫升

氨基苯磺酸 α -萘胺試液

取對氨基苯磺酸500毫克，溶於醋酸150 c.c. 中，另取鹽酸 α -萘胺100毫克，溶於醋酸150 c.c. 中，將兩溶液混合。

四、實驗操作

A. 標準亞硝酸鹽溶液之配製

- (1) 取純的亞硝酸鈉1克，溶於純水中，加入6滴氯仿，再以水稀釋到1000毫升。
- (2) 取(1)液100毫升，加入6滴氯仿，再稀釋成1000毫升。
- (3) 取(2)液10毫升，加入6滴氯仿，再稀釋成1000毫升，如此則每一毫升中含有亞硝酸鈉0.001毫克。

B. 調製檢液

- (1) 將10克左右的待檢肉剉細，並稱其重量。
- (2) 將肉放入燒杯中，加入100毫升65°C的溫水，攪至肉屑分散後移入500毫升的錐形瓶內（有刻度）。
- (3) 添加溫水約至400毫升，旋轉振盪後置蒸氣浴上半小時，注意溶液溫度不可高過65°C。
- (4) 離火後加入8%昇汞溶液7毫升，將瓶置流水下冷卻。
- (5) 添足水量至500毫升，充分搖盪後，用乾濾紙入另一只乾淨的錐形瓶中。

C. 定量

爲了要真正瞭解本方法之可適用性，首先以4.507克的肉（新鮮）浸漬於1 ppm之2毫升的亞硝酸鹽溶液中（即含有0.44 ppm之亞硝酸鹽），待隔夜（全部溶液已被

吸)，再取出，依(B)法調製成檢液，利用下列二種方法檢驗此肉中所含亞硝酸鹽之含量。

A. 觀察法

(1) 取檢液 20.0 毫升，放入 Nessler 氏比色管中，同樣量取標準 1 ppm 的亞硝酸鹽溶液 1.0 毫升，2.0 毫升放入 Nessler 氏比色管中。

(2) 於各管中加入 2.0 毫升之氨基苯磺酸 α - 萘胺試液。

(3) 以不含亞硝酸之水加滿至刻度，倒轉三次使之充分混合後，彼此比較色度之深淺。

(4) 若比色結果無法顏色完全一致，再配其中之濃度的標準液，發現其在 1.0 毫升，2.0 毫升的顏色之間，再配製間隔較小的標準液，如取 1.2，1.4，1.6，1.8，2.0 毫升等之標準亞硝酸鹽，依(2)，(3)比色結果，所浸漬的調成之檢液相當於 1.56 毫升之 1 ppm 之標準溶液 ($1.56/25 = 0.06 \text{ ppm}$)。故檢測體所含亞硝酸鹽為

$$0.06 \times \frac{25}{20} \times \frac{500}{20} / 4.5 = 0.42 \text{ ppm}。$$

但恐這種顏色判斷只是相近的濃度，會有人為的誤差存在，因此再用光電比色計方法，來測定標準溶液之吸收度，再以 Beer's Law A (吸收度) 對 C (濃度) 作圖，得到一條校正曲線，依同樣的方法測定檢液之吸收度，內插而得檢液之濃度。

B. 光電比色計定量法

先以 25 毫升之量瓶，取 1.2 毫升，1.4 毫升，1.6 毫升，1.8 毫升之標準亞硝酸鹽溶液，加入指示劑然後以不含亞硝酸鹽之蒸餾水稀釋到刻度，倒轉三次，再測其吸收度，標準物調成之檢液，取 20 毫升於 25 毫升之量瓶，依 A 之(2)(3)，取出測其吸收度，以內插法求得其濃度為 0.065 ppm。

$$\text{由測得濃度 } 0.065 \times \frac{25}{20} \times \frac{500}{20} / 4.5 = 0.45 \text{ ppm，其結果是相當一致，因此}$$

更進一步來探測市面上之火腿、香腸之亞硝酸鹽之定量檢測。

以市面上出售之香腸實驗結果如下：

A. (1) 首先配製 1 ppm 之標準硝酸鹽溶液，待用。

(2) 調製檢液。

取市面上的香腸，稱取約 10 克，剁細，將肉加入燒杯中，加入 100 毫升 65°C 的溫水，再依步驟(B)操作，調配成檢液。

B. 定量

(1) 觀察法

① 以配好之 1 ppm 硝酸鹽 2 毫升，4 毫升，6 毫升別放入 Nessler 氏比色管中。取檢液 20 毫升放入 Nessler 氏比色管中。

② 於各管中加入 2.0 毫升之氨基苯磺酸 α - 萘胺試液。

③ 以不含亞硝酸之水加滿至刻度，倒轉三次，混合後，彼此比較色度之深淺。

④ 比較其顏色與 5 毫升之標準亞硝酸鹽稀釋到 25 毫升之刻度的標準溶液顏色一致 ($5/25 = 0.2$ ppm)，故檢液之含有亞硝酸鹽的量為

$$0.2 \times \frac{25}{20} \times \frac{500}{20} / 10.0 = 0.63 \text{ ppm}。$$

(2) 光電比色計法定量

以上述方法配之 2 毫升，4 毫升，6 毫升，8 毫升，10 毫升之 1 ppm 亞硝酸鹽，及 20 毫升檢液，各放入 25 毫升之量瓶，再各加入 2 毫升之氨基苯磺酸 α - 萘胺試液，稀釋至刻度。

① 先測標準溶液之吸收度。

② 以吸收度(A)對濃度(C)作圖，得一條校正曲線，如右圖。

③ 測檢液之吸收度。

$$\textcircled{4} \quad 0.21 \times \frac{25}{20} \times \frac{500}{20} / 10.0 = 0.65 \text{ ppm}。$$

由上面二種方法實驗結果，可知定量亞硝酸鹽含量是簡易可行的。

