

詹秀环,王子云,苏亚娟.模拟胃液条件下维生素 C 对蔬菜亚硝酸盐含量的影响[J].江苏农业科学,2016,44(2):312-314.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.091

模拟胃液条件下维生素 C 对蔬菜亚硝酸盐含量的影响

詹秀环,王子云,苏亚娟

(周口师范学院化学化工学院,河南周口 466001)

摘要:采用对氨基苯磺酸-盐酸萘乙二胺分光光度法测定不同种类蔬菜中亚硝酸盐的含量。在模拟胃液条件(pH 值=3, $T=37^{\circ}\text{C}$)下,测定维生素 C 含量以及不同作用时间对各类蔬菜中亚硝酸盐含量的影响。结果表明,不同种类蔬菜中亚硝酸盐含量有所不同,其中生菜>黄瓜>胡萝卜>西红柿;维生素 C 对亚硝酸盐具有清除作用,在质量分数低于 0.06% 时,清除率随着质量分数的增加而迅速增加,当增加到一定程度以后清除率变化不大;维生素 C 对亚硝酸盐的清除率随作用时间的延长而上升,达到 2 h 时清除率最高,为 89.2%。因此,在模拟胃液条件下,维生素 C 对亚硝酸盐具有良好的清除作用,这对人类科学膳食具有一定现实指导意义。

关键词:蔬菜;亚硝酸盐;模拟胃液条件;维生素 C;清除率;科学膳食

中图分类号:TS207 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)02-0312-03

蔬菜由于富含矿物质、维生素、碳水化合物以及膳食纤维等特点,同时又能帮助消化、润肠通便、延缓衰老、降低血脂、调节人体酸碱平衡、预防动脉硬化、抗肿瘤^[1],所以在人们日常膳食中占据非常重要的地位。人体中的硝酸盐 81.2%^[2]以上是通过日常食用蔬菜摄入的,硝酸盐在还原酶的作用下可被还原为亚硝酸盐^[3]。一方面,亚硝酸盐具有较强氧化性,可将二价铁离子氧化成三价铁离子,降低血液的载氧能力,从而引起高铁血红蛋白症^[4];另一方面,亚硝酸盐又能同人体内的蛋白质分解产物次级胺(仲胺、叔胺、酰胺及氨基酸等)结合形成亚硝胺类化合物,从而诱发消化系统癌变^[5]。所以,亚硝酸盐对人体的潜在危害已引起广泛关注^[6-7],目前,蔬菜中亚硝酸盐含量已成为评价蔬菜安全品质的一项重要指标^[8]。根据我国相关标准,新鲜食用蔬菜中亚硝酸盐含量的允许标准一般应控制低于 432 mg/kg^[9]。世界卫生组织还对食品中硝酸盐和亚硝酸盐制订了严格的食用限量标准,规定硝酸盐(按 NaNO_3 计)的日食用最高量为 5 mg/kg,亚硝酸盐(按 NaNO_2 计)为 7 mg/kg^[10]。研究表明,维生素 C 对亚硝酸盐具有明显的清除能力^[11-12]。本试验在模拟胃液条件(pH 值=3, $T=37^{\circ}\text{C}$)下加入不同质量分数的维生素 C,研究其在不同作用时间下对各类蔬菜中亚硝酸盐含量的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 主要仪器 S22 型可见分光光度计(上海棱光技术有限公司)、普通分析天平(上海精科有限公司)、电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)、酸度计(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)、水浴锅(北京市医疗设备厂)、九阳

料理机(山东九阳股份有限公司)。

1.1.2 试剂 柠檬酸(天津市风船化学试剂科技有限公司)、柠檬酸三钠(中国上海试剂一厂)、亚硝酸钠(天津市福晨化学试剂厂)、维生素 C(天津市津北精细化工有限公司)、盐酸萘乙二胺(天津市光复精细化工研究所)、对氨基苯磺酸(无水,中国医药集团上海化学试剂公司)、亚铁氰化钾(天津市科密欧化学试剂有限公司)、四硼酸钠(硼砂,开封化学试剂总厂)、乙酸锌(天津市凯通化学试剂有限公司)、盐酸和冰乙酸为无机化学实验室准备,所用试剂均为分析纯。

1.1.3 蔬菜样品 生菜、胡萝卜、黄瓜、西红柿,均购于超市。

1.2 试验方法

1.2.1 蔬菜样品处理 称取 20.0 g 经打碎混匀的各蔬菜样品,分别置于 250 mL 烧杯中,加入 25 mL 饱和硼砂溶液,摇匀,加入 150 mL 70℃ 的蒸馏水,沸水浴 15 min,取出后冷却至室温,将试样洗入 250 mL 容量瓶中。依次加入 5 mL 亚铁氰化钾溶液,摇匀,再加入 5 mL 乙酸锌溶液,以沉淀蛋白质。定容至刻度,摇匀,放置 0.5 h,将上层脂肪除去,用滤纸对上层清液进行过滤,弃去初滤液 30 mL,取剩余滤液备用。

1.2.2 样品测定 吸取不同蔬菜样品提取液各 5 mL,分别置于 25 mL 具塞比色管中,依次加入 2 mL 0.4% 对氨基苯磺酸溶液,摇匀,静置 3~5 min 后各加入 1 mL 0.2% 盐酸萘乙二胺溶液,定容至刻度,摇匀,静置 15 min,用 1 cm 比色管,以零管调节零点,于波长 550 nm 处测吸光度,并按下式计算 NaNO_2 含量:

$$X = \frac{m_1}{m_2} \times \frac{V_1}{V_0}$$

式中: X 为蔬菜样品中 NaNO_2 的含量,mg/kg; m_1 为测定所用样液中 NaNO_2 的质量,μg; m_0 为试样的质量,g; V_1 为试样处理液的总体积,mL; V_0 为测定所用样液的体积,mL。

1.2.3 作用时间对维生素 C 清除率的影响 取质量分数为 0.04% 的维生素 C 溶液,分别在模拟胃液条件(pH 值为 3 的柠檬酸-柠檬酸三钠缓冲液, $T=37^{\circ}\text{C}$)下与 5.0 μg/mL 亚硝酸钠标准应用液作用 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 h,并进行亚

收稿日期:2015-01-09

作者简介:詹秀环(1964—)女,河南商人,硕士,教授,主要从事食品污染物分析检测工作。E-mail:zhanxiuhuan@126.com。

通信作者:王子云,硕士,教授,主要从事植物生长调节剂研究。E-mail:zkswyzy@163.com。

硝酸盐的清除试验。

1.2.4 模拟胃液条件下维生素 C 含量对蔬菜亚硝酸盐的清除反应 吸取 0.5 mol/L 柠檬酸-柠檬酸三钠缓冲溶液 (pH 值=3) 5.0 mL 置于 25 mL 具塞比色管中,取所配梯度溶液各 5 mL,依次加入盛有缓冲溶液的具塞比色管中,再分别加入 5 mL,各类蔬菜样品提取液,在 37℃ 恒温水浴锅中反应 30 min,同时做蔬菜样品提取液标准管和试剂空白参比管,取出后立即加入 2 mL 0.4% 对氨基苯磺酸溶液,混匀,静置 3~5 min 后加入 1 mL 0.2% 盐酸萘乙二胺溶液,定容至刻度,混匀,静置 15 min,用厚度为 1 cm 的比色皿于 550 nm 波长处测定吸光度,用下式计算清除率:

清除率 = $(D_0 - D_1) / D_0 \times 100\%$ 。

式中: D_0 为未加维生素 C 的标准管的吸光度; D_1 为加入不同质量分数维生素 C 的反应液的吸光度。

1.2.5 亚硝酸盐回收率的测定 以生菜样品为例,准确移取 5.0 μg/mL 亚硝酸钠标准应用液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL,分别加入到 25 mL 具塞比色管中,再分别加入 10 mL 的生菜样品提取液 (含亚硝酸钠 1.08 μg),混匀后依次加入 2 mL 0.4% 对氨基苯磺酸溶液,混匀,静置 3~5 min 后,再各加入 1 mL 0.2% 盐酸萘乙二胺溶液,定容至刻度,混匀,静置 15 min,用 1 cm 比色管,测吸光度 $D_{550\text{ nm}}$,计算 NaNO₂ 的回收率。

2 结果与分析

2.1 最大吸收波长的测定

用移液管精确移取 2.00 mL 5.0 μg/mL 亚硝酸钠标准应用液于 25 mL 具塞比色管中,加入 2 mL 0.4% 对氨基苯磺酸溶液,混匀,静置 3~5 min 后,再加入 1 mL 0.2% 盐酸萘乙二胺溶液,混匀,静置 15 min,用厚度为 1 cm 的比色皿,于 λ = 510~590 nm 处测其吸光度,并以试剂空白为参比溶液,所测数据见表 1。由表 1 可知,亚硝酸盐的最大吸收波长在 550 nm 处。

表 1 亚硝酸钠在不同波长处的吸光度

波长 (nm)	吸光度
510	0.172
520	0.221
530	0.264
540	0.295
550	0.312
560	0.308
570	0.285
580	0.226
590	0.152

2.2 标准曲线的绘制 用移液管精确移取 0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.50、2.00、2.50 mL 亚硝酸钠标准应用液 (相当于 0、1、2、3、4、5、7.5、10、12.5 μg NaNO₂),分别置于 25 mL 具塞比色管中,分别加入 2 mL 0.4% 对氨基苯磺酸溶液,混匀,静置 3~5 min 后各加入 1 mL 0.2% 盐酸萘乙二胺溶液,定容至刻度,混匀,静置 15 min,用厚度为 1 cm 的比色皿,以空白试剂为参比溶液,于波长 550 nm 处测吸光度,所测数据见表 2,并以亚硝酸钠的质量 (m) 为横坐标、对应吸光度 $D_{550\text{ nm}}$ 为纵坐标,绘制亚硝酸钠的标准曲线。

表 2 亚硝酸钠标液的吸光度

V_{NaNO_2} (标液, mL)	吸光度
0	0
0.2	0.007
0.4	0.023
0.6	0.041
0.8	0.052
1.0	0.072
1.5	0.106
2.0	0.145
2.5	0.181

由图 1 可知,亚硝酸钠质量与吸光度的线性方程为 $D = -0.0046 + 0.01485m$,其中相关系数 $r = 0.99917$ 。

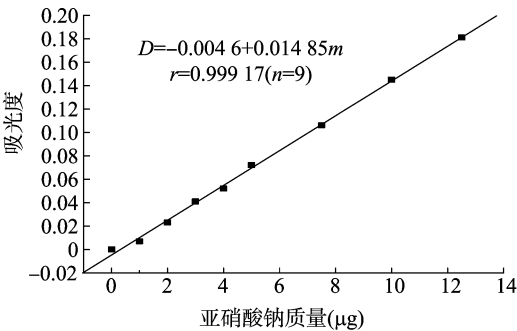


图1 亚硝酸钠的标准曲线

2.3 不同种类蔬菜样品中亚硝酸盐的含量

取不同种类蔬菜样品提取液,对其进行亚硝酸盐含量测定,所测数据见表 3。由表 3 可知,不同种类蔬菜中亚硝酸盐含量存在明显差异,主要表现为生菜 > 黄瓜 > 胡萝卜 > 西红柿,但均符合国家标准 (432 mg/kg)。

表 3 不同蔬菜样品中亚硝酸盐含量

蔬菜种类	吸光度	亚硝酸盐含量 (mg/kg)
生菜	0.076	1.36
黄瓜	0.048	0.88
胡萝卜	0.036	0.68
西红柿	0.028	0.55

2.4 不同作用时间下维生素 C 对亚硝酸盐的清除率

取质量分数为 0.04% 的维生素 C 溶液,在模拟胃液条件 (pH 值=3, $T = 37^\circ\text{C}$) 下与亚硝酸盐标准应用液作用不同时间,所测数据见表 4。由表 4 可知,当作用时间从 0.5 h 增加至 1 h 时,清除率明显上升,增加至 2 h 时清除率升至 89.2%,继续增加作用时间,清除率基本保持不变,说明在—

表 4 不同作用时间下维生素 C 对亚硝酸盐的清除率

作用时间 (h)	吸光度	清除率 (%)
0	0.367	0
0.5	0.148	59.6
1.0	0.069	81.2
1.5	0.044	88.1
2.0	0.040	89.2
3.0	0.042	88.6
4.0	0.041	88.7

定时间内维生素 C 对亚硝酸盐的清除率与作用时间呈正相关,超出一定时间范围清除率保持不变。

2.5 模拟胃液条件下维生素 C 含量对蔬菜中亚硝酸盐清除率的影响

取不同种类蔬菜样品提取液,在模拟胃液条件(pH 值 = 3, T = 37℃)下,测定维生素 C 含量对其亚硝酸盐清除率的影响,所测数据见表 5。

表 5 体外模拟胃液条件下维生素 C 对蔬菜中亚硝酸盐的清除率

维生素 C 质量分数 (%)	吸光度				清除率(%)			
	生菜	黄瓜	胡萝卜	西红柿	生菜	黄瓜	胡萝卜	西红柿
0	0.076	0.048	0.036	0.028	0	0	0	0
0.01	0.058	0.036	0.027	0.021	24.2	24.1	24.4	24.4
0.02	0.045	0.029	0.021	0.017	40.2	40.1	40.5	40.7
0.04	0.033	0.021	0.015	0.012	56.8	57	57.1	57.3
0.06	0.022	0.014	0.010	0.008	70.5	71.3	71.3	71.5
0.08	0.019	0.012	0.009	0.007	75.1	75.6	75.7	75.7
0.10	0.015	0.010	0.007	0.005	79.8	80.1	80.3	80.5
0.15	0.011	0.007	0.005	0.004	85.1	85.2	85.7	85.9
0.20	0.009	0.005	0.004	0.003	88.5	88.9	89.0	89.1

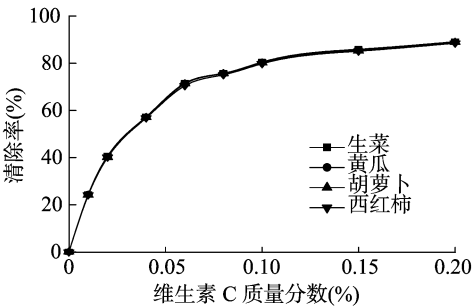


图2 模拟胃液条件下维生素 C 质量分数对不同种类蔬菜亚硝酸盐清除率的影响

2.6 回收率

由表 6 可知,以生菜样品为例的亚硝酸盐回收率均高于 91%,表明试验所采用的测定方法准确可靠。

表 6 亚硝酸盐的回收率

生菜提取液中亚硝酸盐含量(μg)	加入亚硝酸钠的量(μg)	所测亚硝酸盐的量(μg)	回收率(%)
1.08	0.5	1.48	93.7
1.08	1.0	1.92	92.3
1.08	1.5	2.36	91.5
1.08	2.0	2.87	93.2
1.08	2.5	3.37	94.1

3 结论

试验在模拟胃液条件下围绕维生素 C 对亚硝酸盐的清除作用进行研究。维生素 C 质量分数在 0.06% 以下时,清除率随质量分数增加而迅速增加,此后随维生素 C 质量分数的增加,清除率升高的趋势趋于平缓,当质量分数达到 0.2% 时,清除率最高,可达 88.9%,结果表明在模拟胃液条件下维生素 C 对亚硝酸盐具有良好的清除效果。

在模拟胃液条件下,不同的作用时间也会影响维生素 C 对亚硝酸盐的清除率,清除率在 0.5 ~ 2 h 范围内明显提高;作用 2 h 时,清除率最高,为 89.2%;时间超过 2 h 后,清除率基本保持不变。由于维生素 C 对蔬菜中的亚硝酸盐具有较

好的清除作用,所以建议人们在日常生活中可以多食用一些富含维生素 C 的食物如橙子、柠檬、辣椒等。同时,维生素 C 能够在胃酸条件下对亚硝酸盐表现出良好的清除作用,说明它具有良好的耐酸性,对人体健康具有潜在的保健功能。本研究为降低蔬菜制品中亚硝酸盐残留提供一定的理论参考,为指导人们合理膳食、预防亚硝酸盐对人体潜在的危害、提高人们的健康水平具有一定的实际意义。

参考文献:

[1] 赵甲元,贾冬英,姚开,等. 发酵蔬菜中亚硝酸盐的消减方法[J]. 中国调味品,2009,34(12):36-39.

[2] 刘瑾,燕平梅,邸建文,等. 大蒜对发酵白菜中亚硝酸盐含量影响的研究[J]. 食品工程,2009(3):31-34.

[3] 张庆乐,王浩,李瑞,等. 食前处理方式对蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐含量的影响[J]. 中国食品卫生杂志,2008,20(3):267-269.

[4] 李铁欣,王玉田,查恩辉. 亚硝酸盐在肉制品加工中的作用及其替代品研究进展[J]. 肉类工业,2009(5):51-53.

[5] 赵甲元,贾冬英,姚开,等. 亚硝酸胺体内外合成阻断作用的研究进展[J]. 食品与发酵科技,2010,46(1):35-38.

[6] 吴晖,刘冬梅,余以刚,等. 泡菜中亚硝酸盐的研究进展[J]. 现代食品科技,2007,23(7):63-66.

[7] 燕平梅,张振中,赵欢. 甘蓝发酵过程中亚硝酸盐含量累积原因的研究[J]. 现代食品科技,2010,26(6):569-572.

[8] 冯晓群,雍东鹤. 蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐的来源及监控措施[J]. 甘肃科技,2011,27(4):143-147.

[9] 陈秋生,梁淑轩,李科,等. 蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐的不同提取方法及含量测定[J]. 河北大学学报:自然科学版,2007,27(2):174-178.

[10] 程安玮,杜方岭,刘丽娜,等. 酸浓度对酸黄瓜中亚硝酸盐含量的影响[J]. 安徽农业科学,2010,38(3):1414-1415,1456.

[11] 高毓嵘. 维生素 C 对成品泡菜中亚硝酸盐含量的影响[J]. 中国调味品,2010,35(5):102-104.

[12] 周才琼,周张章,范勇,等. 不同茶样冲泡浸出液对 NO₂⁻清除作用的体外试验研究[J]. 茶叶科学,2004,24(3):201-206.