

蔬菜中硝酸盐、亚硝酸盐检测方法的研究进展

姚 微, 李 健, 潘秋月, 曲彤旭

(哈尔滨商业大学食品科学与工程学院, 黑龙江 150076)

摘 要:对目前硝酸盐和亚硝酸盐的检测方法进行总结,并分析了各种方法反应机理及特点。结合食品安全问题,提出试纸、试剂盒方法,其特点是操作简单、携带方便、价格便宜、检测快捷、灵敏度高、准确性好。对蔬菜的田间检测、市场流通及质量控制,保障食品安全具有一定的实际意义。

关键词:硝酸盐;亚硝酸盐;蔬菜;快速检测方法

中图分类号:S 63 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)04-0059-02

硝酸盐和亚硝酸盐广泛存在于各种食品中。新鲜水果和蔬菜中富含亚硝酸盐,约占人体摄入量的70%~90%;海水、自来水甚至纯水中也含有少量的亚硝酸盐;亚硝酸盐作为肉制品添加剂赋予肉制品明亮的色泽、独特的风味,还具有抑制肉毒梭菌的功能;另外,腌酱制品中亚硝酸盐含量也颇高。但由于各种原因,其在食品中的残留已对人类健康构成威胁。硝酸盐在人的口腔和胃肠中会在细菌的作用下还原为亚硝酸盐,亚硝酸盐氮作为氮循环的中间产物可与仲胺类生成强致癌性的亚硝胺类物质,长期摄入可诱发消化系统癌变,亚硝酸盐还可使血红蛋白氧化成高铁血红蛋白,失去携氧能力。硝酸盐、亚硝酸盐的限量指标在蔬菜、肉制品、鱼类、蛋类、乳粉、腌酱菜、粮食、饲料、水质、唾液分析中均有检测标准,我国大部分地区的硝酸盐污染已相当严重,所以及时、有效地测定食品中硝酸盐、亚硝酸盐含量是十分必要的。

国内外检测硝酸盐、亚硝酸盐的方法多种多样。主要有:分光光度法、发光分析法、色谱法、生物传感器法、连续自动分析仪法、电分析法等。由于蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐含量甚微(国家标准规定对硝酸盐、亚硝酸盐最高限量分别为432mg/kg和4mg/kg),所以对检测方法的灵敏度要求高。经总结主要包括以下几种方法。

1 分光光度法

1.1 催光光度法

催光光度法检测硝酸盐、亚硝酸盐的原理是某褪色反应在酸性或碱性的条件下能被 NO_2^- 催化,从而显示出退色或退色速度加快的变化,而这种变化值与 NO_2^- 的浓度在某一范围内呈现线性关系,可用分光光度计进

行定量测定。如:利用 NO_2^- 在硫酸介质中过氧化氢—中性红催化光度法,该方法对 NO_2^- 线性范围0~24 $\mu\text{g/L}$,检出线为 $4.3 \times 10^{-10} \text{ g/mL}^{[1]}$ 。催光光度法具有灵敏度高,检出限低等特点,但稳定性较差。

1.2 可见分光光度法

1.2.1 直接显色法 选取某种可与 NO_2^- 直接发生显色的试剂,利用分光光度计对 NO_2^- 进行定量测定。应用0.16mol/L的硫酸介质中的亚硝酸盐氮与番红T体系进行分光光度测定,线性范围在0~0.32g/L,实际检测结果与经典的盐酸萘乙二胺比色法基本一致^[2]。但此方法精确度不高,应用范围小。

1.2.2 重氮偶合显色法 此法为伯芳胺在酸性溶液中与 NO_2^- 作用生成重氮盐再与偶联剂反应发生颜色变化,其变化程度与 NO_2^- 浓度呈相关性。例如,国标盐酸萘乙二胺法(GB/T5009.33-1996)是重氮偶合显色法测定亚硝酸盐的典型方法。该方法虽然重复性较好、准确度较高,但所用试剂易失效需现用现配,而且大多有毒,会对人体造成伤害,因而在实际应用中多只作为对照。因此有人对重氮偶合显色法进行了改进。林仁权等^[3]用4-氨基安替吡啉作重氮化试剂,8-羟基喹啉作重氮偶联试剂,浓度在0~0.6 $\mu\text{g/mL}$ 之间存在线性关系。唐宁莉等^[4]研究中性红与亚硝酸根在盐酸介质中重氮化,然后在氨性溶液中与8-羟基喹啉偶联成黄褐色产物的反应。偶联产物的最大吸收波长在560nm,据此建立了一个简单、快捷、选择性较好的测定亚硝酸根的可见分光光度法。该法测定的线性范围为0~880 $\mu\text{g/L}$ 。用于水样、食品、蔬菜样品中亚硝酸根的测定,结果较好。

1.2.3 褪色显色法 此方法通过 NO_2^- 对有色物质的水溶液具有褪色作用,其褪色程度可通过反应前后吸光度之差得以测定。例如,王治科等^[5]基于硫酸介质中天青1与亚硝酸根的褪色反应,线性范围0~0.8 $\mu\text{g/mL}$ 。但此法灵敏度不高。

2 发光分析法

化学发光是利用鲁米诺试剂(luminol)与亚硝酸盐

第一作者简介:姚微(1980-),女,在读硕士,研究方向为保健食品与食品安全性研究,E-mail:yao1224@163.com。

基金项目:黑龙江省教育厅科技资助项目(GA02B716-06);黑龙江省科技厅科技资助项目(10541074)。

收稿日期:2006-12-10

发生反应,选择性测定亚硝酸盐含量。如:徐顺清^[6]利用亚铁氰化钾- NO_2^- -鲁米诺化学发光测定硝酸盐,最低检测浓度为 $3\mu\text{g/L}$,可应用到蔬菜检测中。

3 色谱法

目前已用于硝酸盐、亚硝酸盐检测的有气相色谱、高效液相色谱、极谱法、离子色谱、气-质联用等方法。高效液相色谱法可用于硝酸根和亚硝酸根的单个测定,而且检测限低,线性范围宽,准确有效。紫外检测-离子色谱法测定食品中的硝酸盐和亚硝酸盐,适用于测定肉制品、奶粉、蔬菜中的硝酸盐和亚硝酸盐^[7]。虽然色谱法灵敏度较高,但需要相应的仪器,不适于现场速检。

4 生物传感器法

用硝酸盐还原酶还原-比色测定硝酸盐、亚硝酸盐法是利用硝酸盐还原酶将硝酸盐还原成亚硝酸盐,后者发生重氮化偶合反应,该法还原率高,无需除蛋白,反应时间短^[8]。目前,使用纯化的硝酸盐还原酶或微生物细胞含有的硝酸盐还原酶的方法,快速测定食品中亚硝酸盐的含量是国内外研究热点。

5 连续自动分析仪

自动分析仪可在标准溶液和待测样品注入后在预设波长下自动显示样品中硝酸盐、亚硝酸盐含量。目前的连续自动分析仪分两种,一种是流动注射分析法(FIA)。例如,吴金苗^[9]应用流动注射法,能简便、快速的测定水中的亚硝酸根,该法适宜于现场即时监测具有快速、简便、抗干扰能力强等特点,线性范围为 $0\sim 60\mu\text{g/L}$;另一种是连续流动分析系统(Continuous-Flow-Systems),它是在反应完全的情况下进行测定。

6 快速检测法

以上五种方法虽然有诸多优点,但检测过程均需要专业仪器、人员,对现场检测有相当的局限性。随着食品安全问题的日趋严峻,如何方便、快捷、准确的检测出蔬菜中的硝酸盐、亚硝酸盐,对于人们选择健康的食品进行消费具有重要的意义。

6.1 便携快速检测仪

廖嘉睿等^[10]提出了一种智能化仪器设计的新方法。通过微控制器控制下的微型电子天平和反射式光电传感器的有机结合,构成集成一体化的智能便携式测量系统。可方便快捷地测算出样液中硝酸盐含量,提供了一种体积小、使用方便的便携式硝酸盐快速测量系统。房彦军等^[11]利用检测试纸条和光电检测仪联用的方法,实现了对食品中亚硝酸盐的现场快速定量检测。该方法通过检测试纸与亚硝酸盐显色反应的原理,将显色的试纸条在光电检测仪的感应窗里测定。李健等^[12]为满足现场检测快速、灵敏、准确、便捷的需要,保证在检测同时,采用无毒试剂,确保检测试剂对环境无污染和对操作者没有健康危害,研制开发出检测样品中硝酸盐、亚硝酸盐的试剂盒。

6.2 快速检测试纸

试纸法作为一种快速的现场检测方法,其特点是操作简单、携带方便、价格便宜、检测快捷,并具有一定的选择性、准确性和灵敏度。对指导生产及市场流通质量控制,保障食品安全具有一定的实际意义,同时也具有广泛的应用价值和开发前景。周传新、吴爱芳、楼明^[13,14]分别利用国标方法制作快速测定用试纸和标准色卡检测肉制品中的亚硝酸盐。杨伟群^[15]利用试纸-酶法还原硝酸盐,再利用已研制的亚硝酸盐检测试纸对亚硝酸盐进行检测,更进一步缩短了检测时间。屈智慧等^[16]确定了检测亚硝酸根含量试纸的混合显色剂和试纸材料,用以检测腌菜和酸菜。

7 结语

综上所述,在选择测定硝酸盐、亚硝酸盐的各种方法时,应结合不同食品中硝酸盐、亚硝酸盐的国家标准限量及该方法的优缺点选择相应的检测方法。尤其是蔬菜的检测应结合实际应用,建立灵敏、快速、简便的检测技术。以上所介绍的各种检测方法虽然各有一些优点,但也有其局限性。要想建立一个完善的测定亚硝酸盐的方法体系,还应从反应机理、反应条件、干扰离子的消除等多方面着手研究,快速检测技术将有更广阔的发展空间。

参考文献:

- [1] 赵登山,钱运华.新体系过氧化氢-中性红催化光度法测定亚硝酸根[J].淮阴工学院学报,2003,12(5):11-13.
- [2] 殷飞,吴艳.番红T分光光度法测定微量亚硝酸盐氮的研究[J].淮海工学院学报,2001,10(2):42-43.
- [3] 林仁权,胡文兰,陈国亮.亚硝酸根-4-氨基安替比林-8-羟基喹啉分光光度法测定亚硝酸根[J].中国卫生检验杂志,2005,15(6):700-701.
- [4] 唐宁莉,李旺明.亚硝酸根-中性红-8-羟基喹啉偶联反应光度法测定亚硝酸根[J].广西科学,2001,8(3):186-188.
- [5] 王治科,刘清玲.靛蓝I比色光度法测定亚硝酸根的研究[J].河南师范大学学报,2003,31(1):71-73.
- [6] 徐顺清,姚大纯,周宜开.化学发光法测定水和食品中亚硝酸盐[J].中华预防医学杂志,1997,31(2):116-117.
- [7] 王心宇,项新华,涂晓明,等.紫外检测-离子色谱法测定食品中的硝酸盐和亚硝酸盐[J].化学分析计量,2002,11(2):28-29.
- [8] 董受岳,石一复.硝酸盐还原酶还原-比色法测定一氧化氮代谢产物[J].陕西医学检验,1999,14(3):5-6.
- [9] 吴金苗,张新中,工萍.流动注射快速测定亚硝酸根研究[J].皮革科学与工,2005,15(2):25-27.
- [10] 廖嘉睿,朱惠忠,王晶.集成便携式硝酸盐浓度快速检测仪[J].仪表技术与传感器,2004,(12):11-13.
- [11] 房彦军,周焕英,杨伟群,等.试纸-光电检测仪快速测定食品中亚硝酸盐的研究[J].解放军预防医学杂志,2003,22(1):18-21.
- [12] 李健,潘秋月,张令文,等.溶剂法提取蔬菜中硝酸盐、亚硝酸盐[J].哈尔滨商业大学学报,2005,21(2):212-215.
- [13] 周传新,于国祥,张昕.速测定亚硝酸盐试纸的研究[J].吉林粮食高等专科学校学报,1998,13(2):8-10.
- [14] 吴爱芳,曾丹,申贵勇.试纸法对肉类熟食制品中亚硝酸盐的快速检测[J].中国食物与营养,2005(6):34-36.
- [15] 杨伟群.利用试纸法-酶法检测食品硝酸盐含量研究[J].化工时刊,2005,19(1):28-29.
- [16] 屈智慧,邹东需,张思相,等.亚硝酸根试纸的开发与研制[J].化学工程师,2005,118(7):1-4.