

文章编号: 1672 - 058X(2009)01 - 0057 - 04

食品中亚硝酸盐含量分析方法

李 宁, 王凤霞, 李建兰, 黄 容

(重庆工商大学 环境与生物工程学院, 重庆 400067)

摘 要:综述了近年来食品中亚硝酸盐 (NO_2^-) 含量的检测方法。对蔬菜、肉制品等食物中的 NO_2^- 检测中所用的光度法 (盐酸萘乙二胺法、格里试剂比色法、催化光度法、紫外光度法)、色谱法、电化学法的测定原理及其适用范围等进行了比较分析, 并对各种方法的优缺点作了评述。

关键词:亚硝酸盐; 光度法; 色谱法; 电化学法

中图分类号: O 69

文献标识码: A

亚硝酸盐 (NO_2^-) 是氮循环的中间产物, 不稳定, 广泛存在于各类食品中。另外, NO_2^- 还是肉类加工中常用的添加剂, 具有抑制肉毒梭状芽孢杆菌、使肉制品发色以及增强风味的作用, 目前还没有理想的替代物。 NO_2^- 可使人体正常的血红蛋白 (低铁血红蛋白) 氧化成为高铁血红蛋白, 发生高铁血红蛋白症, 失去血红蛋白在人体内输送氧的能力, 导致出现组织缺氧症状, NO_2^- 也是潜在的致癌物质, 在人胃肠中, NO_2^- 还可与仲胺类物质反应, 生成具有致癌性的亚硝胺类物质。因此, NO_2^- 成为食品重要检测项目之一, 研究其含量分析方法也变成了热点。

1 光度法

光度法在 NO_2^- 的测定中一直占据有十分重要的地位, 目前主要的方法有盐酸萘乙二胺法、格里试剂比色法、催化分光光度法、紫外光度法、荧光法、原子吸收光谱法等。

1.1 盐酸萘乙二胺法

在弱酸性溶液中, NO_2^- 与对氨基苯磺酸反应生成重氮化合物后, 再与盐酸萘乙二胺偶联生成紫红色的偶氮染料, 用分光光度法在 540 nm 处测定, 与标准曲线比较定量。检测几种常见腌制蔬菜中的 NO_2^- 含量, 不仅简单、方便, 而且快捷、实用, 但是此法所用的试剂和显色反应的稳定性差, 易受温度和显色时间的影响, 并且所用试剂已被确认有明显的致癌作用。周文斌^[1]对泡菜中亚硝酸盐测定方法进行了研究, 通过试验发现: 在进行泡菜样品中亚硝酸盐提取时, 提取的最佳条件是在 70 °C 的水浴中提取 30 ~ 45 min; 样品液中加入 2 g 活性炭粉, 能有效的排除色素和抗坏血酸对亚硝酸盐测定造成的干扰; 显色剂先加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液, 5 min 后再加入 1 mL N - 1 - 萘乙二胺盐酸溶液, 使显色稳定。

1.2 格里试剂比色法

GB5009. 033 - 2003 测定方法中, 其中一种方法就是格里试剂比色法, 其原理是在弱碱性条件下, 用热水

收稿日期: 2008 - 11 - 06; 修回日期: 2008 - 11 - 22。

作者简介: 李宁 (1975 -), 男, 四川安岳县人, 副教授, 从事应用化学、材料学等方面的研究。

从样品中提取 NO_2^- , 然后用亚铁氰化钾和乙酸锌沉淀蛋白, 过滤后, 在弱酸条件下, NO_2^- 与对氨基苯磺酸发生重氮化后, 再和 N - 1 - 萘基乙二胺耦合形成红色偶氮染料, 最大吸收波长为 538 nm, 所选择的显色剂不一样, 最大吸收波长也有所不同。

魏敬等^[2]研究了 GB5009. 33 - 85 方法(盐酸萘乙二胺法)与国标 GB/T5009. 33 - 96 方法(格里试剂比色法)的异同。后者主要是在标准溶液及样品液中加入氯化铵缓冲溶液, 并且在样品处理时加入了 NaOH 和 ZnSO_4 。而前者是用饱和硼砂溶液、活性炭、 ZnSO_4 溶液及亚铁氰化钾溶液处理样品, 且样品中没有加氯化铵缓冲溶液, 只加入了显色剂。针对国家对西式蒸煮、烟熏火腿卫生标准 GB13101 - 1991 的规定和工艺的不同, 以及检测过程中 pH、温度、放置时间对显色的影响, 在检测火腿中 NO_2^- 时, 格里试剂比色法的准确性和稳定性均高于盐酸萘乙二胺法。金会友等^[3]对上述方法提出了改进方案, 用对氨基苯磺酰胺代替对氨基苯磺酸, 其灵敏度、精密度均得到提高。

1.3 催化分光光度法

主要原理是在一定的温度和酸性条件下, NO_2^- 对 KBO_3 氧化染料(或指示剂)而褪色的反应具有较明显的催化作用, 且在一定 NO_2^- 的浓度范围内, 吸光度变化与 NO_2^- 浓度成较好的线性关系, 因此, 可用该原理定量溶液中 NO_2^- 的浓度。吴定等^[4]研究了 NO_2^- 加速 KBO_3 氧化溴甲酚紫, 使溴甲酚紫褪色, 在 0.2 ~ 1.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ NO_2^- 浓度范围内呈线性相关。黄志勇等^[5]利用硫酸介质中 NO_2^- 对 KBO_3 氧化结晶紫的催化作用, 建立了室温下反相流动注射催化动力学光度法测定自来水及食品中的 NO_2^- 。此法灵敏度高, 选择性好, 试剂消耗量少, 适于饮用水及其他食品中微量 NO_2^- 的测定。常用的染料或指示剂还有吡啶橙、亮绿 SF、亚甲蓝等。

1.4 紫外分光光度法

刘瑟荣等^[6]将系数补偿双波长分光光度法检测蔬菜中 NO_2^- 。样品经处理后在浓硫酸介质中, 以间苯二酚为显色剂, 同时测定 NO_3^- 和 NO_2^- 的含量。刘梦琴等^[7]研究了在稀盐酸介质中, NO_2^- 与碱性品红发生重氮反应, 用 8 - 羟基喹啉作偶联剂, 在弱碱性条件下, 生成茶红色偶氮染料来定量测定 NO_2^- 含量。

光度法是测定 NO_2^- 的经典方法, 其检测所需费用较低, 灵敏度较高, 不经分离可直接同时测定样品中 NO_3^- 和 NO_2^- , 具有较好的选择性, 操作简便。但是由于其所用试剂的不稳定, 实验中受其他杂质离子的干扰, 促使人们寻求其他方法来测定其含量。

2 色谱法

近几年来色谱法用于 NO_2^- 检测的报道越来越多, 常见的有离子色谱法、高效液相色谱法、气相色谱法等。

2.1 离子色谱法

主要原理是当淋洗液携带样品进入分离柱后, 样品离子便与离子交换功能基的平衡离子争夺树脂的离子交换位置。经过多次竞争达到交换平衡。由于不同离子对树脂固定相的亲和力不同, 通过淋洗液的不间断淋洗, 各种离子便先后从色谱柱上被洗脱下来, 实现了分离。通过检测器, 即可经检测器检测各种离子, 得到一个个色谱峰, 然后与标准进行比较, 根据保留时间定性, 根据峰面积或峰高定量。

姚敬等^[8]用紫外检测离子色谱法对酱腌菜中的 NO_2^- 与 NO_3^- 进行了定量。样品经过超声提取后, 以 1.8 mmol/L NaCO_3 及 1.7 mmol/L NaHCO_3 为淋洗液, 经 D DNEX I npac AS4A - SC 分析柱分离, 于 210 nm 处紫外检测。该法可以采用其他类型的色谱柱进行分离, 所用的检测器也可选用化学抑制型电导检测器(可大幅度降低淋洗液的电导值)。

离子色谱法所用的化学试剂较少,并且实验耗时相对来说较少。

2.2 高效液相色谱法

彭景龙^[9]探讨了食品中 NO_2^- 含量的重氮化耦合高效液相色谱法测定方法,将食品样品中蛋白质、脂肪除去后, NO_2^- 与对氨基苯磺酸重氮化,再与 N-1-萘乙二胺耦合之后,进行 HPLC 分析。杨华梅^[10]采用反相高效液相色谱法-二极管阵列检测器法测定卤肉制品中 NO_3^- 及 NO_2^- 的含量,该方法选择四丁基溴化铵作为离子对试剂,与 NO_3^- 和 NO_2^- 阴离子形成中性缔合物,在甲醇-混合磷酸盐流动相中,被非极性键合相柱(ODS)分离并定量检测。该方法灵敏度高,并且样品中其他成分如色素、动物性蛋白等对检测不构成干扰。

液相色谱和连续流动分析与 Griess 法相结合,拓宽了亚硝酸盐测定的样品多样性,使其能够测定一些更为复杂样品中的 NO_2^- ,例如生物液体、食品中的 NO_2^- ,这是分光光度法研究中的一个新热点。Kazemzadeh 等^[11]使用连续流动分光光度法同时测定多种样品中的亚硝酸盐和硝酸盐,每小时可测 20 ± 3 个样品,方法简单、快速、灵敏度高,对水、食品样中硝酸盐和亚硝酸盐的测定取得了满意的结果。

2.3 气相色谱法

在硫酸介质中, NO_2^- 与环己基磺酸钠反应生成环己醇亚硝酸钠,环己醇亚硝酸钠在常温下成气态,顶空进样,用 FD 检测器进行检测。该方法的取样量较少、简单快速,抗其他离子干扰的能力强,提高了灵敏度和准确度。也可利用 NO_2^- 用 KMnO_4 氧化为 NO_3^- ,用酸作催化剂,控制一定温度,使 NO_3^- 与苯发生反应生成硝基苯,萃取,然后利用选择性强的电子捕获检测器检测该生成物,从而测出样品中 NO_2^- 的含量^[12]。

3 电化学法

3.1 示波极谱法

GB 5009.033-2003 测定方法中,另外一种方法是示波极谱法,试样经沉淀蛋白质、除去脂肪后,在弱酸性的条件下, NO_2^- 与对氨基苯磺酸重氮化后,在弱碱性条件下再与 8-羟基喹啉耦合形成橙色染料,该染料在汞电极上还原产生电流,电流与 NO_2^- 的浓度呈线性关系,可与标准曲线比较定量。李琼等^[13]测定香肠中 NO_2^- 含量时,对此法进行了改进:采用品红的 NO_2^- 溶液,在弱碱性条件下与 8-羟基喹啉耦合生成偶氮化合物,此偶氮化合物在 -0.70 V 下具有非常灵敏的极谱波,易于检测。

3.2 伏安法

郑志祥等^[14]研究了在酸性介质中以玻碳电极(GCE)为工作电极的铁氰化钾电催化还原亚硝酸盐的电化学行为及电分析方法。当 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 浓度一定时,电催化还原峰电流与 NO_2^- 浓度在 $4.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 范围时有良好的线性关系,运用方波伏安法在优化条件下测定了水样中亚硝酸盐含量,测定结果令人满意。郭昌山等^[15]也系统研究了用导数伏安法测定肉类食品中的亚硝酸盐的含量的方法。

4 结 语

目前,还有一些新的方法已应用于食品中 NO_2^- 含量的测定:如化学发光法^[16]、荧光法^[16,17]、原子吸收光谱法^[18]等。光度法所用仪器设备简单、价廉、灵敏度较高,具有实用性和可操作性,易于在基层单位使用。近年来连续流动分析技术的发展,分光光度法与连续流动分析技术相结合,大大提高了方法的灵敏度,可同时测定 NO_3^- 和 NO_2^- ,操作更为简便、快速,消耗的反应液和样品量小,已成为光谱分析法研究的一个新热点,具有广阔的应用前景。由于 NO_2^- 在固体电极(如 GCE, Au 和 Pt 等)上氧化(或还原)一般需要较高的过

电位,因而不易直接发生电化学氧化(或还原)反应,故电化学方法的使用范围不如光度法使用范围广。荧光法、化学发光法等对仪器的要求较高,但其测量的灵敏度高,具有进一步的研究价值。

参考文献:

- [1] 周文斌. 泡菜中亚硝酸盐测定方法研究 [J]. 食品科学, 2006, 27(2): 241 - 243
- [2] 魏敬, 党文玲. 亚硝酸盐测定方法的比较与分析 [J]. 肉类工业, 2004(7): 37 - 38
- [3] 金会友, 王桂月, 张连波. 食品中亚硝酸测定方法的改进 [J]. 哈尔滨医药, 2007, 27(2): 45 - 45
- [4] 吴定, 路桂红, 姚明兰, 等. 亚硝酸加速溴酸钾氧化溴甲酚紫测定食品亚硝酸盐含量 [J]. 分析检测, 2005 (1): 178 - 190
- [5] 黄志勇, 张强, 许锦标, 等. 反相停留流动注射——催化光度法测定自来水及食品中微量亚硝酸盐含量 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(3): 404 - 406
- [6] 刘瑟容, 徐晓辉, 梁香. 分光光度法测定蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐 [J]. 广东化工, 2007, 34(1): 81 - 82
- [7] 刘梦琴, 冯泳兰, 莫运春, 等. 食品中亚硝酸盐含量测定实验的绿色化学探讨 [J]. 衡阳师范学院学报, 2008, 29(3): 84 - 86
- [8] 姚敬, 钟志雄. 紫外检测离子色谱法测定酱腌菜中的亚硝酸盐、硝酸盐 [J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(3): 306 - 307
- [9] 彭景龙. 重氮化耦合 HPLC法测定食品中亚硝酸盐含量 [J]. 粮油食品科技, 2006, 14(5): 48 - 50
- [10] 杨华梅. 反相离子色偶法测定卤制肉制品中硝酸盐及亚硝酸盐 [J]. 中国热带医学, 2008, 8(3): 469 - 470
- [11] KAZEMZADEH E Simultaneous determination of nitrite and nitrate in various samples using flow - injection spectrophotometric detection [J]. Microchemical Journal, 2001, 69: 159 - 166
- [12] 史东坡. 蔬菜中的硝酸盐、亚硝酸盐的气相色谱法测定 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(2): 245 - 247
- [13] 李琼, 奚旦立, 陆光汉, 等. 单扫描示波极谱法测定香肠中的亚硝酸盐 [J]. 食品研究与开发, 2006, 27(2): 106 - 108
- [14] 郑志祥, 犹卫, 高作宁. 酸性介质中铁氰化钾电催化还原亚硝酸盐的电化学行为及电分析方法研究 [J]. 化学传感器, 2007, 27(4): 55 - 59
- [15] 郭昌山, 展海军. 导数伏安法测定肉类食品中的亚硝酸盐 [J]. 肉类研究, 2007, 97(3): 41 - 43
- [16] 吴婉娥, 王天生, 张泽洋. 溴酸钾 - 酸性格蓝 K 化学发光法检测水样中微量 NO_2^- [J]. 分析科学学报, 2008, 24(3): 327 - 330
- [17] KE J H, HONG W, YUE - HONG G, etc Spectrofluorimetric determination of trace nitrite in food products with a new fluorescent probe 1, 3, 5, 7 - tetramethyl - 2, 6 - dicarboxy - 8 - (3, 4 - diamino phenyl) - difluoroboradiazine - s - indacene Talanta, 2006, 69(1): 73 - 78
- [18] 陈闽子, 高丽华, 周艳萍, 等. 原子吸收光谱法间接测定腌制和熏制食品中亚硝酸盐含量 [J]. 分析仪器, 2008(4): 45 - 48

Study on the nitrite's detective in foods

L I Ning, WANG Feng - xi, L I Jian - an, HUANG Rong

(School of Environmental and Biological Engineering, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

Abstract: The detection methods of nitrite (NO_2^-) in food, especially in vegetables, meat and so on, was reviewed. The principle, measurement parameter and application fields of various methods which include Spectrophotometry (Hydrochloric acid naphthylethylenediamine, Griess colorimetric, Catalytic Spectrophotometry and Ultraviolet spectrophotometric methods), Chromatography, Electrochemical method and so on, had been comparatively analyzed. Moreover, advantages and disadvantages of each method were commented.

Keywords: nitrite; spectrophotometry; chromatography; electrochemical method

责任编辑:田 静