

原料牛乳中亚硝酸盐的几种检测方法

王瑞珍 (锡林郭勒职业学院 026000)

硝酸盐随食物进入体内,经肠道微生物作用,还原成亚硝酸盐。婴儿肠道对微生物的还原作用比成人强,易发生肠源性青紫癍,即亚硝酸盐中毒。所以,婴儿是硝酸盐和亚硝酸盐含量超标的最大受害者。我国国家标准规定婴儿配方乳粉中硝酸盐和亚硝酸盐的残留量不得超过 100 毫克/千克和 2 毫克/千克,原料牛奶中亚硝酸盐的含量标准为小于 0.2 毫克/升。正常情况下,纯净的鲜牛乳一般不会出现亚硝酸盐超标。牛饲料或饮水中含有硝酸盐或亚硝酸盐,因为牛瘤胃微生物有分解、利用作用,通过乳汁可排出少量,一般小于 0.3 毫克/升,制成乳粉后,一般含量小于 2.5 毫克/升。

1 亚硝酸盐超标的原因分析

乳制品生产过程中经常接触饮用水,使得饮用水中的硝酸盐有机会进入到原料牛乳中,造成成品乳制品中硝酸盐含量提高,升高的量一般为 10~40 毫克/升。原料中乳硝酸盐和亚硝酸盐含量出现超标的原因,主要源于沿海高含量盐碱地的地表水污染了地下水,多种农业和非农业活动。如肥料的应用、动物的粪便、农作物残渣含氮物的分解,某些矿物、化粪池、城市垃圾等,也会使地下水中硝酸盐等物质含量升高。一旦其量超过植物的利用能力,即可积聚在下层土壤或是渗透至地下水中,在环境中某些微生物等作用下,会转换成亚硝酸盐。我国主要出现在沿海沙质土和低水位水井地区,原料牛乳收购中,偶见少数人为掺入水或化肥所致。

因此,通过检测手段控制原料牛乳中硝酸盐和亚硝酸盐含量,是保证乳制品中亚硝酸盐含量低于标准值的唯一有效途径。

2 定性检测

亚硝酸盐的定性检测是根据亚硝酸根离子(NO_2^-)与对氨基苯磺酸在酒石酸溶液中发生重氮化反应后,再与 α -萘胺偶合成紫红色的偶氮化合物来完成的。检测中使用试剂酒石酸、无水对氨基苯磺酸和 α -萘胺,3 种试剂分别称好后在研钵中研细,充分混合,密封保持干燥存放于棕色瓶中,该固体试剂称为“格里斯”干试剂。测定操作时取生鲜乳样于试管中,加入定量上述“格里斯”干试剂,振荡,若试管中呈桃红色,说明该生鲜牛乳中亚硝酸根离子的

含量超过正常值。这种方法适用于在生鲜牛乳收购现场的简单验收,检测限为 0.5 毫克/升。此方法操作简单快速,能在短时间内得出是否合格的结论,但缺点是不能确定亚硝酸盐的含量。

3 光度法

测定亚硝酸盐因仪器设备简单、易操作、准确度高而在分析中占据重要的地位。其特点是灵敏度高、准确度高、相对误差较小、仪器价廉、操作简单和应用广泛。

目前,光度法测定牛乳硝酸盐、亚硝酸盐的方法除经典的“格里斯”试剂比色法及其改良法外,还有一些报道,如催化(褪色)光度法、流动注射系统分光光度法、顺序注射系统分光光度法、导数光度法等。常用分光光度法主要有 3 种,即目视比色法、可见分光光度法、紫外分光光度法。

目视比色法是以“格里斯”试剂显色原理为基础,使用专用比色管,用眼睛观察比较标准样液和待测样液的颜色,确定其含量的方法。该方法多用于教学中,便于准确理解比色分析基础,测定过程方便简单,但准确度差(相对误差一般在 5%~20%),常用于进行限界分析。

可见分光光度法测定原理与定性检测相同,在定性测定基础上对“格单斯”试剂比色法进行了改进。对牛乳试样经沉淀蛋白质除去脂肪后,在弱酸条件下亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化,与氮-1-萘基-乙二胺二盐酸盐偶合形成紫红色染料,再与标准溶液进行比较定量。硝酸盐测定需要把乳样用沉淀剂处理过形成的滤液,经过镉柱还原处理后,再加入酸性物质和显色液剂,以可见分光光度计;在最大吸收波长为 538 纳米处测其吸光度,再与标准曲线比较定量而测得的待测物质含量。亚硝酸盐和硝酸盐检测限分别为 0.2 毫克/升和 1.4 毫克/升,因此,适用于乳粉的测定,对原料牛乳检测尚不完全符合灵敏度要求。采用本法重现性好,而且操作简便,适用于批量测定。

紫外分光光度法采用紫外分光光度计测定牛乳中亚硝酸盐的含量。在酸性条件下,亚硝酸盐与间苯二酚及铅氧离子反应生成有色螯合物,于 382 纳米处测吸光度。实验表明, NO_2^- 在 0.01~2.00 毫克/升范

围内与吸光度呈线性关系,成为简易、快速的测定食品中微量亚硝酸盐的方法,通过对原料乳及几种乳制品样品中的亚硝酸盐进行测定具有良好的重现性。该分析方法操作简便、快速、干扰少,有良好的选择性,显色反应产物的稳定性高,是种较为理想的测定乳制品中亚硝酸盐的方法。 NO_2^- 检测限为 9.5 微克/升,符合检测要求。

4 示波极谱法

是指在特殊条件下进行电解分析,以测定电解过程中所得到的电流-电压曲线来做定量、定性分析的电化学方法。示波极谱法是新的极谱技术之一,该方法具有灵敏度高、适用范围广、检测限低和测量误差小等优点。示波极谱法测定原料牛乳 NO_2^- 的原理是,将牛乳样品经沉淀蛋白质、除去脂肪后,在弱酸条件下亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化后,在弱碱性条件下再与 8- 羟基喹啉偶合成染料,该偶合染料在汞电极上还原产生电流,电流与亚硝酸盐浓度成线性关系,可与标准曲线比较定量。在示波极谱仪上采用三电极体系,以滴汞电极为工作电极,饱和甘汞电极为参比电极,铂电极为辅助电极进行测定。

采用单扫描示波极谱法测定牛乳中的亚硝酸盐的含量,测定结果与分光光度法测定的结果基本一致。该法的检测限为 3 微克/升,测定时须严格控制显色条件,8- 羟基喹啉溶液的配制及样品的前处理。

5 荧光分析法

属光谱分析法,测定原理是,原料牛乳中的亚硝酸盐与过量的对氨基苯磺酸重氮化后,剩余的对氨基苯磺酸与荧光胺作用,生成稳定的荧光团和无荧光的水解产物,在激发波长 436 纳米和荧光波长 495 纳米下其荧光强度与对氨基苯磺酸的量成正比。对氨基苯磺酸原始量与重氮化后过剩的对氨基苯磺酸的差值为与亚硝酸盐发生重氮化反应的对氨基苯磺酸的量,进而算出亚硝酸盐的含量。

该方法的优点是灵敏度高、选择性好、试样用量小,且不受检测液本身颜色和浑浊的干扰,也不受样品稀释度的影响。但是操作较为复杂,对环境因素敏感,干扰因素较多。有机物的存在会增加或减弱荧光强度,导致相对偏差较大,适用范围不广,食品检测中应用较少,一般用于医学病理研究测试。

6 离子色谱法

测定乳及制品中亚硝酸盐含量,是 2010 年国家标准中新编入的测定方法,属液相色谱法。该方法是将乳粉样品温水浴,经沉淀蛋白质,以 3% 乙酸溶液和 0.1 摩尔/升氢氧化钾溶液为淋洗液除去脂肪后,

采用超声萃取的方法进行提取和净化,用阴离子交换柱分离,电导检测器检测,以保留时间定性,外标法定量的液相色谱测定方法。目前,国家标准对食品中的 NO_2^- 和硝酸根离子 (NO_3^-) 的检测方法采用传统的比色法和离子色谱法。比色法前处理十分烦琐,存在共存离子干扰的问题,运用电导检测器检测时,氯离子 (Cl^-) 的干扰较大。可采用紫外检测离子色谱法对乳制品中的 NO_2^- 和 NO_3^- 进行同时测定,可较好地避免 Cl^- 的干扰,无需前处理,直接进样,操作简单、快速准确。

离子色谱法测定 NO_2^- 和 NO_3^- ,其检出限分别为 0.2 毫克/千克和 0.4 毫克/千克。该方法简单、快速、灵敏度高,适用于原料乳及乳制品中硝酸盐和亚硝酸盐含量的同时测定,应用范围十分广泛。

7 红外吸收光谱分析法

FT-120 乳品分析仪是含有传统技术、既精确又稳定的红外吸收光谱仪,是专门用于牛乳生产过程控制、成品控制以及按值论价的专用仪器。傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR) 是干扰型光谱仪,是 FT-120 的测量部分,主要由光源、干扰仪、检测器、计算机软件系统和记录系统组成。测定中由来自红外光源的红外光束加热光束分解器,光束分解后利用干扰仪将两束光程差按一定速度变化的复色红外光相互干涉,形成干涉光,再与样品作用,红外光束在他们达到探测器之前发生反射并且重新结合。所有频率的红外光束在相同时间通过干扰仪,能同时产生完整的红外光谱,探测器能观察到整个红外光谱,并搜集来自整个同时发生的红外光谱中的数据,将得到的全部干扰信号送入到计算机进行傅里叶变化的数学处理,把干涉图还原成光谱图后进行数据分析。

相对于传统方法来说,干扰方法是非常具有竞争性的。来自红外光谱源的所有频率都是一起处理,没有先后的选择,样品中所有成分均可被准确检测出来。因此,为全新应用和分析样品开辟了新领域。测试新的样品仅仅是产生 1 次校准,因为特殊信息已在软件中安装,并且在使用过程中要使用基准方法对各项数据进行定期校准。

FT-120 乳品分析仪在测定原料牛乳和成品乳制品成分方面远远优于其他分析测定方法,尽管仪器昂贵且较为复杂,但操作非常简单,只需要极少的培训就可以完成本仪器的操作。操作时只需要对样品分析进行 1 次最小量的处理过程,除了仪器吸样,所有的操作都是通过个人电脑来完成,是目前国内、外高端乳制品生产厂家不可或缺的检测仪器。