

文章编号: 0254 - 5357(2013)02 - 0330 - 04

# 液态乳及乳粉中硝酸盐的污染分析

胡平<sup>1</sup>, 王淑惠<sup>1</sup>, 刘印平<sup>2</sup>, 杨立新<sup>2</sup>

(1. 石家庄市疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050019;

2. 河北省疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050011)

**摘要:** 采用固相萃取-离子色谱法和国家标准中化学法(镉柱还原光度法)分析石家庄市售110份液态乳及奶粉中硝酸盐含量。离子色谱法中将制备好的样品加入适量乙酸沉淀蛋白,离心取上清液,通过固相萃取柱去除脂肪等疏水性化合物,采用AS11-HC型阴离子色谱柱进行分析,同时对液态乳样品采用镉柱还原法进行比对实验。两种方法测得液态乳中硝酸盐的平均含量分别为10.05 mg/kg和9.95 mg/kg,奶粉中硝酸盐的平均含量分别为25.74 mg/kg和25.66 mg/kg。经 $t$ 检验分析,显示 $t=0.07, P>0.05$ ,即无显著性差异,研究结果证实了离子色谱法的准确性,实验过程也进一步验证了离子色谱法的简易性。依据我国目前对乳粉中硝酸盐的限量要求,所测乳粉中的硝酸盐均在限量规定范围内,对食用的安全性不产生负面影响;而液态乳中的硝酸盐进行污染评价发现,超标率大约为14%。

**关键词:** 液体乳; 乳粉; 硝酸盐; 离子色谱法; 镉柱还原法

**中图分类号:** TS252.5; O657.75

**文献标识码:** B

植物、霉菌、人的口腔和肠道细菌具有将硝酸盐转化为亚硝酸盐的能力,因此,硝酸盐往往表现为亚硝酸盐的毒性。持续摄入少量的硝酸盐会引起消化不良、精神抑郁和头痛<sup>[1]</sup>;而大量摄入更会对人体健康产生极大的危害<sup>[2-4]</sup>。当前准确检出硝酸盐,控制其在食品的含量和摄入量已经引起高度重视。

乳与乳制品中往往含有硝酸盐,食品卫生国家标准已定为乳与乳制品的重要指标之一。美国、欧盟及我国对乳粉中硝酸盐的限量标准分别为200 mg/kg、120 mg/kg和100 mg/kg<sup>[5]</sup>,可见我国对乳粉中硝酸盐含量的限量比美国和欧盟较更为严格。

关于硝酸盐的测定,国家标准的检测方法是化学法<sup>[6]</sup>,即镉柱还原法。但是镉柱还原法过程繁琐,干扰因素多,易出现各种异常问题。目前很多研究采用离子色谱法进行大批量样品中硝酸盐的检测<sup>[7-9]</sup>。作者的前期工作已经开展了大量实际样品中硝酸盐的监测,实验的具体过程与离子色谱法应用的相关文献基本一致,即将制备好的乳及乳制品加入适量乙酸沉淀蛋白,离心取上清液,经固相萃取去除脂肪等疏水性化合物后采用离子色谱仪直接进

样<sup>[10]</sup>。本文是在前期工作的基础上,应用离子色谱法,选用无毒无害的乙酸作为蛋白质沉淀剂,以选择性和pH适应范围较高的DIONEX OnGuard II RP作为固相萃取柱<sup>[10]</sup>,分析了110份液态乳及乳粉中硝酸盐的污染情况。同时采用国家标准方法(镉柱还原光度法),针对准确性和可操作性对两种测定方法进行比对实验,一方面进一步验证离子色谱法的可行性,以便尽快建立统一科学、灵敏、准确、快速的分析方法,另一方面可以掌握牛奶制品中硝酸盐的污染情况,为牛奶的安全饮用提供科学依据。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与主要试剂

ICS-2000型离子色谱仪(美国Dionex公司)。

DIONEX OnGuard RP固相萃取柱(1cc):先后用5 mL甲醇溶液和10 mL去离子水以4 mL/min流速淋洗备用。

硝酸盐标准溶液(1000  $\mu\text{g/mL}$ )。

水中硝酸根成分分析标准物质GBW(E)080264(中国计量科学研究院国家标准物质研究中心)。

收稿日期: 2012-08-16; 接受日期: 2012-09-03

基金项目: 国土资源部《变质岩岩石矿物鉴定技术方法研究》项目(201011029-3)

作者简介: 胡平,主管检验师,从事色谱研究工作。E-mail: article88@163.com。

## 1.2 离子色谱条件

色谱柱: AG11-HC + AS11-HC 4 mm。

流动相: DIONEX EG, 30 mmol/L 的 KOH 溶液;流速 1.0 mL/min;定量环 25  $\mu$ L。

抑制器: ASRS-4 mm 阴离子抑制器,抑制电流 75 mA;电导检测器。

## 1.3 实际样品分析方法

抽取 78 份市售液态乳样品和 32 份奶粉样品,每份样品按文献[10]方法经前处理后进样,以峰面积计算硝酸盐浓度。主要步骤为:准确称取 3.00 g 液态乳样品于 30 mL 离心管中,准确称取 1.00 g 乳粉样品于 30 mL 离心管中,以少量 50~55 $^{\circ}$ C 的去离子水溶解。在样品中加入 0.5 mL 3% 的乙酸作为沉淀剂沉淀蛋白,以去离子水定容至 30 mL。混匀放置 5 min 后离心 10 min(转速 7000 r/min)。取上清液以 4 mL/min 的速度通过提前准备好的固相萃取柱,弃去前 3 mL 滤液,收集剩余样品滤液用双层 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜过滤后,置于样品瓶中待测。

同时对以上样品采用国标化学法——镉柱还原光度法测定硝酸盐含量<sup>[6]</sup>。主要步骤为:试样经提取后,在提取液中加入亚铁氰化钾溶液和乙酸锌溶液,以沉淀蛋白质。然后加入氨基苯磺酸溶液,混匀,静置后加入盐酸萘乙二胺溶液,于波长 538 nm 处测量吸光度,绘制标准曲线得到亚硝酸盐含量。吸取经镉柱还原后的滤液再次于波长 538 nm 处测量吸光度,得到硝酸盐还原后的亚硝酸总量。由此总量减去亚硝酸盐含量,即得试样中硝酸盐含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 化学法和离子色谱法的前处理方法比对

镉柱还原法,以亚硝酸盐在弱酸条件下与苯磺酸和萘乙二胺反应,生成紫红色螯合物为理论基础。主要过程即样品经沉淀蛋白质除去脂肪后,溶液通过镉柱或加入镉粉,使其中的  $\text{NO}_3^-$  还原成  $\text{NO}_2^-$ ,再重氮偶合成红色染料比色定量,测得亚硝酸盐总量,由总量减去亚硝酸盐含量得到硝酸盐含量。而离子色谱法的具体过程为将制备好的乳及乳制品加入适量乙酸沉淀蛋白,离心取上清液,经固相萃取去除脂肪等疏水性化合物后采用离子色谱仪直接进样测定。

很明显,镉柱还原法虽然准确度较高,但镉柱制备过程复杂,干扰因素较多,操作中经常会出现各种异常问题,对操作者技术要求较高,技术人员难以掌握<sup>[11]</sup>。而离子色谱法中样品前处理简便快速,易操

作,可重现性较好。但是离子色谱柱寿命一般为 2~3 年,使用时最好加保护柱,以延长使用寿命,每天用完柱子应及时冲洗。

### 2.2 化学法和离子色谱法的测定结果比对

分别采用镉柱还原法和离子色谱法对全部样品(包含 78 份液态乳样品和 32 份乳粉样品)中的硝酸盐含量进行了检测,结果见表 1。两种方法测得牛奶中硝酸盐的平均含量分别为 10.05 mg/kg 和 9.95 mg/kg,奶粉中硝酸盐的平均含量分别为 25.74 mg/kg 和 25.66 mg/kg。经过  $t$  检验分析,结果显示  $t=0.07, P>0.05$ ,即无显著性差异。可见两种方法的测定结果基本一致,可比性好,从而证实了固相萃取-离子色谱法用于测定硝酸盐,不仅样品前处理简便快速,且检测结果准确。

表 1 液态乳及奶粉样品中硝酸盐含量

Table 1 Content of nitrate in liquid milk and milk powder

测定方法	液态乳中硝酸盐含量 (现无国标限量值)		乳粉中硝酸盐含量 (国标限量值 100 mg/kg)	
	$w(\text{NO}_3^-)/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$		$w(\text{NO}_3^-)/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	
	测定平均值	含量范围	测定平均值	含量范围
离子色谱法	10.05	2.96~16.6	25.74	9.9~46.8
国标化学法	9.95	3.02~16.3	25.66	10.1~47.2

### 2.3 液态乳及乳粉中硝酸盐污染分析

依据我国目前对乳粉中硝酸盐的限量要求,本实验所测乳粉样品中硝酸盐含量均在限量规定范围内,远低于国家对乳粉中硝酸盐的限量要求,因此对消费者食用的安全性不产生负面影响。由于目前我国还没有关于液态乳中硝酸盐的限量规定,因此粗略地将乳粉中硝酸盐的限量折算成液态乳中硝酸盐限量(按照牛奶中含水量大约为 85%~90% 计算),大约为 10~15 mg/kg。按照此限量对液态乳中硝酸盐进行污染评价发现,超标率大约为 14%。

该研究结果与文献[12~14]的研究结果是基本一致的,但相对于李官浩等<sup>[15]</sup>对市售牛乳中硝酸盐和亚硝酸盐的检测结果(硝酸盐含量在 0.9027~1.0840 mg/kg 之间)高出很多倍。乳及乳制品中可能因为各种原因混入了硝酸盐:一是草料在消化过程中自身产生;二是在饲喂过程中产生,如喂给了硝酸盐含量较高的蔬菜<sup>[16-18]</sup>;三是生产用水;四是人为添加。因此有必要进一步研究牛奶中硝酸盐含量较高的原因。

### 2.4 质量控制

以上述离子色谱条件对系列标准工作液(2.0、

4.0、8.0、16.0、32.0、64.0  $\mu\text{g/mL}$ ) 进行分析,以峰面积对  $\text{NO}_3^-$  浓度进行线性回归,线性相关系数  $r > 0.999$ 。并将同一标准工作液(10  $\mu\text{g/mL}$ )在不同日期内连续进样10次,测定日内和日间精密度。测定结果相对标准偏差分别为4.2%和6.9%。

按1.2节离子色谱条件取已知浓度样品溶液,用逐步稀释法测得信噪比为3时硝酸盐的最小检出限为400  $\mu\text{g/kg}$ ,其灵敏度与国标化学法相比显著提高。

按照上述离子色谱实验方法,对某奶粉样品进行不同浓度水平的加标回收试验,称样量为1 g(加标浓度分别为10  $\text{mg/kg}$ 、20  $\text{mg/kg}$ 、30  $\text{mg/kg}$ ),测得方法回收率为78.3%~111.0%(见表2)。

表2 离子色谱法测定乳粉中硝酸盐的回收率试验

Table 2 Recovery results of nitrate in milk powder by ion chromatography

加标浓度 $w(\text{NO}_3^-)/$ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$m/\mu\text{g}$		平均回收率/%		RSD/%
	加入量	平均测定值	(n=6)		
10.0	10.0	7.83	78.3	6.3	
20.0	20.0	8.08	80.8	10.8	
30.0	30.0	11.1	111.0	9.3	

### 3 结语

采用固相萃取-离子色谱法测定乳与乳制品中硝酸盐,样品前处理简便快速,通过与国家标准方法中的镉柱还原法的检测结果比对证实了实验结果的准确性。可见,本研究中的离子色谱法条件满足实际工作中大批量乳及乳制品中硝酸盐的检测,具有很强的可行性,为建立统一科学、灵敏、准确、快速的分析方法提供了参考。

自从“三聚氰胺”事件后,人们对食品质量安全意识逐步增强,特别对牛奶及其制品的质量安全尤为关注。本研究首次对石家庄市市售的牛奶及奶粉中硝酸盐的含量进行了初步调查分析,虽然所测样品基本在限量规定的范围内,对消费者食用的安全性不产生负面影响;但限于监测数量和区域的局限性,建议对全省乃至全国液态乳及乳制品中硝酸盐及亚硝酸盐的污染情况作进一步深入调查。

### 4 参考文献

[1] Clandia P. Nitrate, nitrite, and volatile nitrosamines in Whey-containing food products [J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1995, 43(4): 967-969.  
[2] 杨彦国,叶桦,李瑞忠,张丽英. 乳及乳制品中硝酸盐

亚硝酸盐测定方法改进[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(9): 1705-1711.  
[3] 李智文,张乐,王丽娜. 硝酸盐、亚硝酸盐及N-亚硝基化合物与人类先天畸形[J]. *环境与健康杂志*, 2005, 22(6): 491-493.  
[4] 叶宇飞,许秀琴,朱勇,江潇潇. 蔬菜中硝酸盐、亚硝酸盐含量测定与储存条件的研究[J]. *安徽农学通报*, 2007, 13(21): 82-83.  
[5] Radzyńska M, Smoczyński S S, Kopeć M. Persistent organochlorine pesticide, lead, cadmium, nitrate(+5) and nitrate(+3) in polish milk and dairy products [J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2008, 17(1): 95-100.  
[6] GB/T 5009.33-2010, 食品卫生检验方法理化部分; 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S].  
[7] 吕岱竹. 离子色谱法测定豆奶粉中硝酸盐、亚硝酸盐含量[J]. *食品科学*, 2010, 31(10): 272-274.  
[8] 成需,刘邻渭. 离子色谱法检测液体乳和乳粉中的硝酸盐、亚硝酸盐及硫氰酸盐[J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(7): 135-137.  
[9] 冯伟科,熊珺,罗佳玲,赖毅东. 离子色谱法同时测定牛奶及其制品中的亚硝酸盐、硝酸盐、硫酸盐和硫氰酸盐[J]. *现代食品科技*, 2011, 27(9): 1157-1159.  
[10] 胡平,王淑惠,王军,赵伟. 固相萃取-离子色谱法测定乳与乳制品中可致癌物硝酸盐的研究[J]. *现代科学仪器*, 2006(2): 71-73.  
[11] 赵秋伶,程良义,张振宇. 乳粉硝酸盐和亚硝酸盐测定的影响因素探讨[J]. *应用化工*, 2011, 40(8): 1398-1400.  
[12] 林玉娜,罗晓燕,刘莉治. 离子色谱法快速测定牛奶中硝酸盐的研究[J]. *现代预防医学*, 2005, 32(4): 339-345.  
[13] 周虹,钮伟民,宗荣芬,余晓雷,刘文卫. 乳品中硝酸盐的离子色谱测定法[J]. *职业与健康*, 2003, 19(11): 47-49.  
[14] 赵佳,董永,马晓杰,马桂玲,张晓明. 我国29省、市、自治区市售纯牛奶亚硝酸盐含量普查[J]. *中国奶牛科技*, 2011(12): 55-58.  
[15] 李官浩,郑贵花,权伍荣. 4种市售牛乳中硝酸盐亚硝酸盐的检测与分析[J]. *食品科技*, 2010, 35(3): 267-271.  
[16] 朱雅兰,李于晓. 黄石市蔬菜硝酸盐污染现状及评价[J]. *广东农业科学*, 2010(3): 212-214.  
[17] 杨国义,罗薇,张天彬. 广东省典型地区蔬菜硝酸盐亚硝酸盐污染状况评价[J]. *生态环境*, 2007(2): 476-479.  
[18] 于立红,王孟雪. 大庆市蔬菜硝酸盐污染现状及防治对策[J]. *黑龙江农业科学*, 2009(4): 96-99.

## Analysis of Nitrate in Liquid Milk and Milk Powder

HU Ping<sup>1</sup>, WANG Shu-hui<sup>1</sup>, LIU Yin-ping<sup>2</sup>, YANG Li-xin<sup>2</sup>

(1. Shijiazhuang Center for Disease Prevention and Control, Shijiazhuang 050019, China;

2. Hebei Center for Disease Prevention and Control, Shijiazhuang 050011, China)

**Abstract:** Solid Phase Extraction-Ion Chromatography and the national standard chemical method (cadmium column reduction method) were used for the determination of nitrate in liquid milk and milk powder sold in Shijiazhuang. The Ion Chromatography method was achieved by adding acetic acid to precipitate protein in the prepared samples. After being centrifuged, the top clear solution was loaded to the DIONEX OnGuard RP solid phase extraction column to remove fat and other hydrophobic compounds. The AS11-HC anion chromatographic column was used for analysis. All samples were analyzed by the cadmium column reduction method for comparison. The average contents of nitrate in liquid milk were 10.05 mg/kg and 9.95 mg/kg, respectively. The average contents of nitrate in the milk powder were 25.74 mg/kg and 25.66 mg/kg, respectively. T test analysis it showed revealed that no significant difference was observed ( $t=0.07$ ,  $P>0.05$ ). The results support the accuracy of ion chromatography and the convenience of the procedure, which is in concordance with literature. The method of Ion Chromatography was easy to operate. According to the requirements on nitrate in milk powder in China, the evaluated results were within the prescribed limits. Meanwhile, the unqualified ratio of nitrate in liquid milk was about 14%.

**Key words:** liquid milk; milk powder; nitrate; Ion Chromatography; cadmium column reduction method