

## 研究报告

## 冷藏对蔬菜中亚硝酸盐及硝酸盐含量的影响

刘春叶,张雪娇,张文举

(西安医学院药学院,陕西 西安 710021)

**摘要:**目的 探索冰箱冷藏(4℃)条件下蔬菜中亚硝酸盐和硝酸盐含量随时间的变化,对冷藏食品的安全性进行评价。方法 分别采用重氮偶合分光光度法和麝香草酚分光光度法对生菜、菠菜、油麦菜及苦苣4种常用蔬菜在冷藏条件下其亚硝酸盐及硝酸盐的含量变化进行测定。结果 1~4 d内,生菜、苦苣中的亚硝酸盐含量随着时间的延长逐渐增加;菠菜、油麦菜中亚硝酸盐含量分别在第2天和第3天达到最大,之后逐渐降低,而菠菜中亚硝酸盐含量在第4天又出现上升趋势。4种蔬菜中亚硝酸盐含量4 d中最大值仅为0.419 4 mg/kg(生菜),均<4 mg/kg的限量值。苦苣和油麦菜中硝酸盐含量在1~4 d内逐渐上升。菠菜中硝酸盐含量第2天达到418.48 mg/kg,之后又降低至20.83 mg/kg。生菜中硝酸盐含量在第3天达到最大值317.26 mg/kg,之后逐渐下降,但均在安全范围内(432 mg/kg)。结论 在4℃下冷藏4 d后,4种常见蔬菜均可安全食用。可见,冷藏能有效减缓亚硝酸盐和硝酸盐含量的升高。

**关键词:**蔬菜;亚硝酸盐;硝酸盐;储藏温度;储藏时间;含量变化;食品污染物

中图分类号:R154;R155.5<sup>+</sup>4;TS205.7 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2013)04-0324-04

## Effects of cold storage on nitrite and nitrate contents in vegetables

LIU Chun-ye, ZHANG Xue-jiao, ZHANG Wen-ju

(School of Pharmacy, Xi'an Medical University, Shaanxi Xi'an 710021, China)

**Abstract: Objective** In order to understand the effects of cold storage on the nitrite and nitrate contents of four kinds of green vegetables and evaluate the safety of cold storage processing. **Methods** Diazotization-coupling reaction spectrophotometer and tnmol spectrophotometer method were used to analysis the nitrite and nitrate contents in four kinds of green vegetables including lettuce, spinach, leaf lettuce and endive in four days stored at 4℃. **Results** The results indicated that nitrite content in lettuce and endive rose up through storage time. The nitrite content in spinach and leaf lettuce reached the maximum on the second and third day, respectively. Then the content began to decrease. However, it rose again on the fourth day in spinach. The peak value of nitrite in the vegetables in four days was 0.419 4 mg/kg (in cucumber) which was far less than the limit of 4 mg/kg. Nitrate content in endive and leaf lettuce was gradually increasing through four days. The nitrate content in spinach reached 418.48 mg/kg on the second day, but decreased to 20.83 mg/kg a few days later. The nitrate content in lettuce reached 317.26 mg/kg on the third day and decreased later. The contents of nitrate in four vegetables were within the safety range (432 mg/kg). **Conclusion** Compared with nitrite, four vegetables had more nitrates in four days. Meanwhile, contents of nitrate were all in the safety range. Cold storage could effectively slow down the increase of nitrite and nitrate contents in vegetables.

**Key words:** Vegetables; nitrite; nitrate; storage temperature; storage time; content variation; food contaminants

研究证明蔬菜易富集硝酸盐,人体摄入的硝酸盐81.5%来自于蔬菜<sup>[1]</sup>。蔬菜中亚硝酸盐含量高低主要与氮肥施用量有关,还受农药的影响。近

年来,由于施用化肥、储存方法不当以及农药滥用等原因,蔬菜的硝酸盐、亚硝酸盐污染问题越来越引起人们的关注。蔬菜在冰箱中冷藏储存现象非常普遍,冷藏蔬菜的硝酸盐和亚硝酸盐含量变化及是否在安全范围内应予以重视。本试验选取了4种蔬菜(菠菜、生菜、油麦菜、苦苣)作为研究对象,测定了其硝酸盐和亚硝酸盐含量,研究蔬菜在冷藏条件下硝酸盐和亚硝酸盐含量的动态变化。对评价食用蔬菜的安全性以及指导民众合理地储存并食用安全放心蔬菜具有重要意义。

收稿日期:2013-05-14

基金项目:国家自然科学基金(81202492);中国博士后基金(20100481356);陕西省科技厅自然科学基金项目(2012JQ4002);陕西省教育厅自然科学基金项目(12JK0708)

作者简介:刘春叶 女 副教授 研究方向为生物与药物分子的分析检测 E-mail:doris8976@163.com

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

Unic UV-2102 PCS 型紫外可见分光光度计、KQ5200E 型超声波清洗器、琅玕智能型电热恒温鼓风干燥器、ALC-210.4 型电子分析天平、西乐快乐小贝榨汁机。

硝酸盐氮标准样品(1 000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 国家有色金属及电子材料分析测试中心)、亚硝酸盐氮标准溶液(1 000  $\text{mg}/\text{ml}$ , 天津市微然精细化工研究所)、食品检测用硝酸钠及亚硝酸钠溶液标准物质(北京海岸鸿蒙标准物质技术有限责任公司, 样品编号 13100156)、氨基磺酸胺、麝香草酚、*N*-(1-萘基)乙二胺二盐酸盐、磺胺、硫酸银、冰乙酸、浓氨水、乙酸锌、十水合四硼酸钠、亚铁氰化钾(均为分析纯)。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 检测方法

亚硝酸盐含量采用国标 GB/T 5750.5—2006 的重氮偶合分光光度法测定<sup>[2]</sup>。

硝酸盐含量测定采用麝香草酚分光光度法:硝酸盐和麝香草酚在浓硫酸溶液中形成硝基酚化合物,在碱性溶液中发生分子重排,生成黄色化合物,比色定量<sup>[3-4]</sup>。

#### 1.2.2 溶液配制

亚硝酸盐氮标准溶液(5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、对氨基苯磺酰胺溶液(10  $\text{g}/\text{ml}$ )、盐酸 *N*-(1-萘基)-乙二胺溶液(1.0  $\text{g}/\text{ml}$ )、硝酸盐氮标准使用液(10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、1+4 乙酸溶液、氨基磺酸铵溶液、麝香草酚乙醇溶液(5  $\text{g}/\text{L}$ )与硫酸银硫酸溶液等分别按照 GB/T 5750.5—2006<sup>[2]</sup>中 10.1.3.5、5.4.3.16、5.4.3.17、5.2.3.4、5.1.3.2、5.1.3.3、5.1.3.4 及 5.1.3.5 方法进行配制,亚铁氰化钾溶液、乙酸锌溶液及饱和硼酸溶液配制:称取 10.6  $\text{g}$  亚铁氰化钾溶于水,稀

释至 100  $\text{ml}$ ;称取 22.0  $\text{g}$  乙酸锌加 3  $\text{ml}$  冰醋酸溶解,用水稀释至 100  $\text{ml}$ ;称取 5.0  $\text{g}$  硼酸钠溶于 100  $\text{ml}$  热水(50  $^{\circ}\text{C}$ )中,冷却备用<sup>[3]</sup>。

#### 1.2.3 样品处理

新鲜菠菜、生菜、油麦菜、苦苣购于西安市某菜市场。均在冰箱中冷藏保存(4  $^{\circ}\text{C}$ )不同时间后,称取 10.0  $\text{g}$  左右,依次用自来水、去离子水清洗干净,用榨汁机绞碎成匀浆。放入 250  $\text{ml}$  锥形瓶内,加适量去离子水至 150  $\text{ml}$ ,再加入 12.5  $\text{ml}$  饱和硼酸溶液和适量活性炭粉,摇匀。70  $^{\circ}\text{C}$  下超声提取 10  $\text{min}$ <sup>[5]</sup>。然后加入 2  $\text{ml}$  亚铁氰化钾溶液和 2  $\text{ml}$  质量分数为 22% 的乙酸锌溶液沉淀蛋白质,用纯水定容至刻度,摇匀。静置 10  $\text{min}$ ,过滤,得清亮待测液。

#### 1.2.4 亚硝酸盐含量测定

##### 1.2.4.1 样品测定

取 1.2.3 项下澄清待测液,采用国标 GB/T 5750.5—2006 的重氮偶合分光光度法测定<sup>[2]</sup>,由标准曲线计算样品中亚硝酸盐的浓度。

##### 1.2.4.2 亚硝酸盐标准曲线的绘制

在 8 个 10  $\text{ml}$  容量瓶中,分别加入亚硝酸盐氮标准液(5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )0、0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5  $\text{ml}$ ,再向各容量瓶中加入 0.2  $\text{ml}$  对氨基苯磺酰胺溶液,摇匀后放置 2~8  $\text{min}$ 。加入 0.2  $\text{ml}$  *N*-(1-萘基)乙二胺溶液,用去离子水稀释至刻度,立即混匀。

在 540  $\text{nm}$  下,使用光程 1  $\text{cm}$  石英比色皿,以去离子水作参比,在 10~120  $\text{min}$  内分别测定 1~8 号溶液吸光度,得标准曲线,见图 1(A)。标准曲线回归方程为  $y = 3.3541x + 0.0127$ ,  $r = 0.9998$ ,相关性良好,符合精度要求。

#### 1.2.5 硝酸盐含量测定

##### 1.2.5.1 样品测定

麝香草酚分光光度法测定样品中硝酸盐含

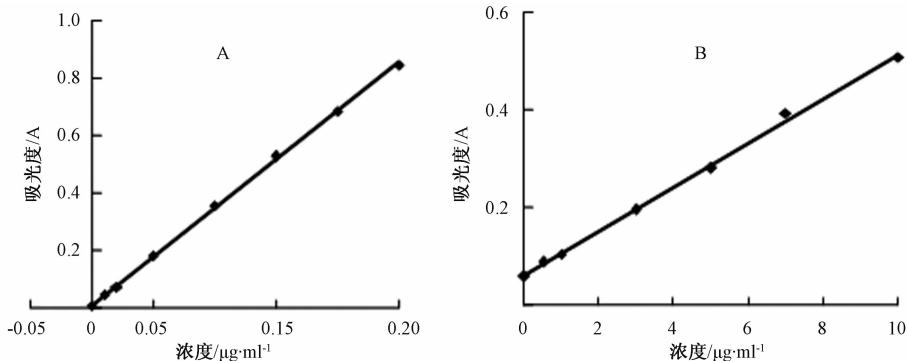


图 1 亚硝酸盐(A)和硝酸盐(B)标准曲线

Figure 1 Standard curves of nitrite(A) and nitrate(B)

量<sup>[3]</sup>。按绘制标准曲线的步骤测量吸光度。由标准曲线计算样品中硝酸盐的浓度。

### 1.2.5.2 硝酸盐标准曲线的绘制

在波长 420 nm 处,使用光程 1 cm 玻璃比色皿,以氨水为参比,测量吸光度,得标准曲线<sup>[3]</sup>,见图 1 (B)。标准曲线回归方程为  $y = 0.0453x + 0.0320$ ,  $r = 0.9990$ ,符合精度要求。

## 2 结果与讨论

### 2.1 亚硝酸盐含量变化

按照 1.2.4.1 项下方法,对菠菜等 4 种常见蔬菜在低温条件下(4 ℃)冷藏不同时间后的亚硝酸盐含量进行测定。本文亚硝酸盐和硝酸盐含量均以  $\text{NaNO}_2$  和  $\text{NaNO}_3$  计。连续 4 d 中,亚硝酸盐的含量变化如图 2 所示。

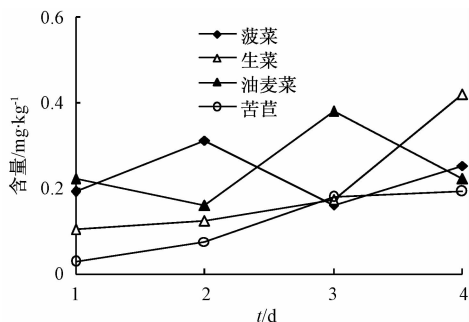


图 2 低温冷藏下 4 种蔬菜中亚硝酸盐含量随时间的变化  
Figure 2 Changes of nitrite content in four kinds of vegetables after stored in cold condition for different time

我国制定的无公害蔬菜亚硝酸盐含量限量标准<sup>[6]</sup>为亚硝酸盐(以  $\text{NaNO}_2$  计)  $\leq 4.0 \text{ mg/kg}$ ,试验结果表明,1~4 d 内 4 种蔬菜中亚硝酸盐含量均低于这一标准。可见,冰箱冷藏能有效地减缓亚硝酸盐含量的增加。菠菜中亚硝酸盐含量在 1~4 d 内出现先增加后减小的趋势。出现这种现象的原因可能是蔬菜在采收时因为受伤而使植物组织呼吸强度增强,植物组织内的硝酸还原酶活性增强<sup>[7]</sup>,导致植物组织中亚硝酸盐含量在短时间内迅速提高。而冷藏的低温会降低硝酸还原酶的活性,同时也会抑制细菌等微生物的发酵分解作用,亚硝酸盐含量则会下降。菠菜在第 4 天亚硝酸盐含量又升高了,这可能是由于随着贮藏时间延长植物组织出现低温胁迫,引起自我保护,使各种酶促反应提高,硝酸还原酶的活性提高<sup>[8]</sup>,从而使亚硝酸盐含量上升。

4 d 中生菜、苦苣中亚硝酸盐含量一直上升,这可能是由于硝态氮积累量因作物种类、品种和器官不同而有明显的差别。硝酸还原酶的活性也存在很大差异。1~4 d 内生菜和苦苣中的硝酸还原酶活性强,生成的亚硝酸盐含量一直升高。

### 2.2 硝酸盐含量变化

按照 1.2.5.1 项下方法,对菠菜等 4 种常见蔬菜在低温条件下(4 ℃)冷藏不同时间后的硝酸盐含量进行测定。4 种蔬菜中硝酸盐含量随冷藏时间的变化如图 3 所示。

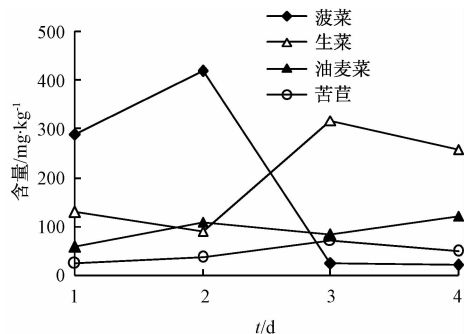


图 3 低温冷藏下 4 种蔬菜中硝酸盐含量随时间的变化  
Figure 3 Changes of nitrate content in four kinds of vegetables after stored in cold condition for different time

从图 3 可以看出,4 种蔬菜中硝酸盐的含量差异较大。这可能是由不同蔬菜之间硝酸还原酶活性差异所造成的<sup>[9]</sup>。菠菜硝酸盐含量较高,第 1 天时含量几乎是油麦菜、苦苣的 6 倍,冷藏 1 d 后含量达到 418.48 mg/kg,之后又明显降低至 20.83 mg/kg。菠菜中硝酸盐含量较高可能是由植物自身的特性(如生长习性等)决定的。生菜硝酸盐含量在冷藏第 3 天大幅上升,达到 317.26 mg/kg,之后又逐渐下降。根据世界卫生组织(WHO)和联合国粮农组织(FAO)1995 年的规定<sup>[10]</sup>,硝酸盐的 ADI 值为  $3.7 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ ,按成人平均体重 60 kg,每天摄入蔬菜 0.5 kg 计算,则蔬菜的硝酸盐允许量为 444 mg/kg。油麦菜、苦苣硝酸盐含量变化幅度不大,且低于这个标准,说明这两种蔬菜在冷藏条件下可放心食用。与亚硝酸盐相比,4 种蔬菜中硝酸盐含量较高,但也均在安全范围内(432 mg/kg)。

### 2.3 加样回收率试验

本试验还对亚硝酸盐及硝酸盐含量测定方法进行了加样回收率试验。向存放一周后的样品中分别加入不同含量的标准溶液,按照前文上述的试验方法处理,测定亚硝酸盐、硝酸盐含量,计算方法的回收率。结果如表 1 所示。

从表 1 可以看出,该测定方法对硝酸盐和亚硝酸盐的加样回收率在 92%~105% 之间,说明本试验方法具有较好准确度。为了评价蔬菜中含有的干扰物是否会对检测结果产生影响,本试验采用该方法对已知准确浓度的亚硝酸钠( $1.0 \mu\text{g/ml}$ )和硝酸钠( $3.0 \mu\text{g/ml}$ )标准物质进行检测以验证检测结果的准确性(见表 2)。结果显示,测量值与真实值的偏差均在 -3.0% 以内。

表1 硝酸盐和亚硝酸盐加标回收率

Table 1 Recovery of standard addition of nitrate and nitrite

测定离子	蔬菜	本底值 / $\mu\text{g}$	加入值 / $\mu\text{g}$	测得值 / $\mu\text{g}$	回收率 /%
$\text{NO}_2^-$	菠菜	0.035	0.05	0.090	101
	生菜	0.046	0.05	0.094	96
	油麦菜	0.11	0.10	0.21	100
	苦苣	0.043	0.05	0.089	92
$\text{NO}_3^-$	菠菜	18.08	20	37.88	99
	生菜	25.92	20	48.56	105
	油麦菜	12.25	10	21.92	96
	苦苣	8.62	10	19.65	101

表2 已知浓度硝酸盐和亚硝酸盐的测定

Table 2 Detection of nitrate and nitrite the method

次数	浓度/( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
	$\text{NaNO}_2$	$\text{NaNO}_3$
1	0.98	2.89
2	1.03	3.01
3	0.92	2.93
4	0.95	2.83
5	1.03	2.96
平均值	0.98	2.92
偏差/%	-1.80	-2.50

### 3 小结

本文分别采用重氮偶合分光光度法和麝香草酚分光光度法对生菜、菠菜、油麦菜及苦苣4种常用蔬菜在冷藏条件下其亚硝酸盐及硝酸盐的含量变化进行测定。试验结果表明:4种蔬菜在新鲜采摘后硝酸盐含量是符合安全标准的,菠菜在存放1d后硝酸盐含量较高,接近安全的限量标准,虽然在第3天含量又下降,但蔬菜营养成分有损失,故建议

应尽量食用新鲜的菠菜。生菜、油麦菜、苦苣在低温冷藏条件下硝酸盐含量虽有增加,但总量仍符合安全标准,可放心食用。于4℃冰箱中冷藏1~4d后,4种常见蔬菜中硝酸盐含量高于亚硝酸盐含量,但含量都是安全合格的,可见冰箱冷藏能有效减缓亚硝酸盐和硝酸盐含量的升高。

### 参考文献

[1] 邱孝宣. 化学氮肥对蔬菜累积硝酸盐的影响[J]. 植物营养与肥料报, 1997, 3(1): 81-84.

[2] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5750.5—2006 生活饮用水标准检验方法 无机非金属指标[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[3] 蒲朝文, 封雷, 谢超怀. 麝香草酚法测定食品中硝酸盐氮[J]. 中华预防医学会杂志, 2002, 36(1): 50-51.

[4] 张宏陶. 生活饮用水标准检验方法注解[M]. 重庆: 重庆大学出版社, 1993.

[5] 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.

[6] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/2762—2005 食品中污染物限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.

[7] 陈利梅, 李德茂, 曾庆华, 等. 不同条件下蔬菜中亚硝酸盐含量的变化[J]. 食品与机械, 2009, 25(3): 103-105.

[8] 龚士琛. 玉米幼苗硝酸还原酶活性受低温的影响[J]. 玉米科学, 2003, 11(2): 73-74, 88.

[9] 陈新平, 邹春琴, 刘亚萍, 等. 菠菜不同品种累积硝酸盐能力的差异及其原因[J]. 植物养与肥料学报, 2000, 6(1): 30-34.

[10] 王晶. 蔬菜中 $\text{NO}_3^-$ 的危害和管理标准[J]. 中国蔬菜, 2003, 1(2): 1-3.

### · 请示批复 ·

## 关于食品中使用菌种标签标示实施时间的复函

卫办监督函〔2013〕419号

中国乳制品工业协会:

你协会《关于请求给予添加菌种婴幼儿配方食品标签改版过渡期的请示》(中乳协〔2013〕35号)收悉。经研究,现函复如下:

食品生产企业应当自2014年1月1日起,按照我委《关于食品中使用菌种标签标示有关问题的复函》(卫办监督函〔2013〕367号),在预包装食品标签上标示相关菌种。2014年1月1日前已生产销售的预包装食品,可继续使用现有标签,在食品保质期内继续销售。

专此函复。

国家卫生和计划生育委员会办公厅  
二〇一三年五月二十二日