衍生化-富集-表面增强拉曼光谱法快速筛查奶粉中亚硝酸盐

陈 泳[1], 薛 平[2], 胡陈珊[1], 宋 欢[2], 花 锦[2*], 曾勇明[3], 叶少清[3]

(1. 漳州海关综合技术服务中心, 漳州 363005; 2. 太原海关技术中心, 太原 030024;
3. 厦门市普识纳米科技有限公司, 厦门 361013)

摘 要: 目的 建立衍生化-富集-表面增强拉曼光谱法快速检测奶粉中亚硝酸盐的分析方法。**方法** 样品水溶液通过除蛋白、衍生化后, 采用阳离子小柱 PSY-001 对衍生化合物进行富集, 再使用表面增强拉曼光谱对样品中的亚硝酸盐含量进行定性检测。**结果** 7 类不同奶粉, 采用本研究所建立的方法进行检测, 根据不同的批处理量, 单个样品检测全过程只需 3~15 min, 定性检测限为 0.4 mg/kg, 远低于国家安全标准对亚硝酸盐的限量要求(2 mg/kg)。方法的灵敏度在 96% ~ 100%, 特异性为 100%, 假阴性率为 0% ~ 4%, 假阳性率为 0%, 相对准确度为 98% ~ 100%。**结论** 该方法操作简单、快速, 易于掌握, 适用于奶粉中亚硝酸盐的快速筛查。

关键词: 表面增强拉曼光谱法; 衍生化; 富集; 奶粉; 亚硝酸盐; 快速筛查

Rapid detection of nitrite in milk powder by derivatization-enrichment-surface enhanced Raman spectroscopy

CHEN Yong[1], XUE Ping[2], HU Chen-Shan[1], SONG Huan[2], HUA Jin[2*], ZENG Yong-Ming[3], YE Shao-Qing[3]

(1. *Integrated Technical Service Center*, *Zhangzhou Customs*, *Zhangzhou* 363005, *China*; 2. *Taiyuan Customs Technical Center*, *Taiyuan* 030024, *China*; 3. *Xiamen PERSer Nanotechnology Co.*, *Ltd.*, *Xiamen* 361013, *China*)

ABSTRACT: Objective To eatablish a method for the rapid detection of nitrite in milk powder by derivatization-enrichment-surface enhanced Raman spectroscopy. **Methods** The aqueous solutions of samples were deproteinized and derivatized, and the derived compounds were enriched by cationic cartridge PSY-01, finally, the nitrite in samples were qualitative detected by surface enhanced Raman spectroscopy. **Results** Seven kinds of milk powders were tested by this method, which took only 3–15 minutes per sample, depending on batch processing capacity. The limits of detection (LOD) of this method was 0.4 mg/kg and much less than maximum residue limit (MRL) of nitrite specified in national food safety standard of China (2 mg/kg). The sensitivity of this method was 96%–100%, the specificity was 100%, the false negative rate was 0%–4%, the false positive rate was 0%, and the relative accuracy was 98%–100%. **Conclusion** This method is simple, quick and easy to operate, and therefore suitable for the rapid screening of nitrite in milk powder.

KEY WORDS: surface enhanced Raman spectroscopy; derivatization; enrichment; milk powder; nitrite; rapid detection

---

基金项目: 海关总署科研项目(2019HK120)

Fund: Supported by the Research Project of the Gerneral Administration of Customs of China (2019HK120)

***通信作者:** 花锦, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 13835149925@163.com

***Corresponding author:** HUA Jin, Master, Senior Engineer, Taiyuan Customs Technical Center, 1 Xieyuan Road, Jinyuan District, Taiyuan 030024, China. E-mail: 13835149925@163.com

0　引　言

亚硝酸盐是一种食品添加剂, 具有发色和防腐的作用, 适当的亚硝酸盐用于肉制品中, 可以使产品保持色泽, 同时延长保质期[1]。一些婴幼儿配方奶粉为了使其蛋白质组分更接近于母乳, 在生产过程中加入大豆蛋白质, 从而也带进了亚硝酸盐成分[2]。此外, 产奶牲畜在放牧和饮水过程中对硝酸盐和亚硝酸盐的摄食, 加工设备在卫生处理过程中使用的硝酸, 以及乳品在加热喷雾干燥器中产生的亚硝基氧化物等亦可使乳制品中带进亚硝酸盐[3–4]。研究表明, 食入 0.3~0.5 g 的亚硝酸盐即可引起中毒, 3 g 导致死亡[5]。摄入的亚硝酸盐会在人体中转化为亚硝胺, 亚硝胺能够在不同种属动物中诱发肿瘤, 越来越多的流行病学研究发现, 世界不同地区人群的食管癌和胃癌发病风险与亚硝胺及前体化合物的膳食摄入量密切相关[6]。乳制品中的亚硝酸盐含量往往是痕量的, 但新生儿对污染物特别敏感, 食用亚硝酸盐浓度高的食品可能导致高铁血红蛋白症, 表现为紫绀, 甚至死亡[5]。国家标准 GB 2762—2017《食品安全国家标准 食品中污染物限量》规定: 作为食品发色剂添加, 亚硝酸盐用量不得超过 150 mg/kg, 婴儿配方奶粉中亚硝酸盐的含量则不得超过 2 mg/kg。鉴于亚硝酸盐在食品中的普遍存在, 以及现场执法快检作为政府部门日常监管手段的日渐普及, 建立高效、灵敏、准确、便捷的快检方法显得尤其重要。

目前, 测定食品中亚硝酸盐含量的方法有催化荧光法[7]、催化光度法[8]、化学发光法[9]、纳米材料电化学传感法[10]、气相分子吸收光谱法[11]、液相色谱法[12]、离子色谱法[13]、气动电流分析法[14]、修饰电极伏安法[15]等。传统的比色法由于成本低, 易于实施, 仍占据主导地位。但这种方法耗时较长、灵敏度不高, 且易受其他离子干扰。化学发光法检测的稳定性和再现性差。用于测定亚硝酸盐的电化学发光方法尚未成熟, 有待进一步开发。而液相、气相、离子色谱法等需要使用大型仪器, 操作复杂, 并不适用于现场执法快检。

近年来, 拉曼光谱在食品检测中的应用成为新热点。借助纳米结构金属基底的表面等离激元诱导的表面电磁场增强效应, 表面增强拉曼光谱法(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)可将待测目标物的信号放大数百万倍[16–18]。相比色谱法和质谱法, SERS 光谱法检测速度快, 仪器携带方便, 操作步骤简单, 因此可以将SERS技术发展成快检技术[18]。杨青青[19]研究了一种检测肉制品和饮用水中亚硝酸盐含量的 SERS 检测方法, 检测限达到 0.01~0.05 mg/L, 测定实际样品得到的回收率为 86.9%~103.4%。孙帅等[20]将 SERS 技术应用到乳制品中亚硝酸盐的检测, 用 SERS 技术对亚硝酸盐标准工作溶液进行测定, 检出限为 0.014 mg/L。该研究还对 3 种脱脂奶粉开展添加回收实验, 添加水平为 0.1 mg/L 和 0.5 mg/L, 回收率和精密度取得较理想效果。然而, 该研究的实际研究对象仅仅是脱脂奶粉, 而且是使用奶粉兑水之后的液体状态来进行添加回收, 奶粉与水的比例研究中没有给出。本研究在孙帅等[20]方法的基础上增加了固相萃取富集步骤, 利用固相萃取技术来提高亚硝酸盐的浓度, 同时对蛋白沉淀剂和衍生化试剂添加量、萃取小柱以及洗脱液的类型进行优化, 选择了 7 种有代表性的奶粉进行了充分的验证评估, 旨在开发一种适用于各种奶粉, 灵敏且操作简单快捷, 可应用于现场查验的快检方法。

1　材料与方法

1.1　材料、仪器与试剂

1.1.1　样　品

如表 1 所示, 本研究在市面上采购了 7 种不同品牌和型号的奶粉, 作为实验样品。品牌上选择了国内外销量排名前列的奶粉品牌; 产地上覆盖了中国以及爱尔兰、荷兰和澳大利亚 3 个主要的国际奶粉产地; 奶粉种类涵盖了牛奶粉以及近年来备受青睐的羊奶粉; 消费群则包括了婴儿、幼儿、儿童、孕妇、普通成年人以及中老年群体。因此, 这 7 种样品基本可以代表目前市面上最常见的奶粉。

表 1　7 种代表性样品信息一览表
Table 1　Information sheet of 7 representative samples

品牌/型号	产地	种类	消费群
惠氏启赋迪拜版一段	爱尔兰	牛奶粉	婴儿
爱他美白金版三段	荷兰	牛奶粉	幼儿
飞鹤星飞帆四段	中国	牛奶粉	儿童
美素佳儿妈妈	荷兰	牛奶粉	孕妇
CapriLac 羊奶粉	澳大利亚	羊奶粉	成人
美可卓全脂牛奶粉	澳大利亚	牛奶粉	成人
雀巢怡养中老年奶粉	中国	牛奶粉	中老年

1.1.2　仪　器

iRaman Plus 便携拉曼光谱仪[785 nm, 500 mmol/L, 必达泰克光电科技(上海)有限公司]; Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司); BSA224S 电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

1.1.3　试　剂

亚硝酸钠标准品(纯度 100%)、N-(1-萘基)乙二胺二盐酸盐(纯度>98%)[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司]; 无水乙酸锌(纯度≥99.0%)、亚铁氰化钾(纯度≥99.0%)、对氨基苯磺酸(纯度≥99.0%)、浓盐酸(36.0%~38.0%)、氢氧化钠(500 g, 分析纯)(国药集团化学试剂有限公司); 团聚剂 ZJ-1、萃取柱 PSY-001、银纳米增强试剂(CP-S1)(厦门市普识纳米科技有限公司); 超纯水(美国 Milli-Q 超纯水仪)。

1.2 实验方法

1.2.1 增强试剂的制备

利用经典的柠檬酸钠还原 $AgNO_3$ 的方法制备得到粒径约为 40~50 nm 的银纳米粒子[21], 该粒子由厦门市普识纳米科技有限公司提供。制备过程如下: 1 mL 1%柠檬酸钠迅速加入到含有 1 mmol/L $AgNO_3$ 的 100 mL 沸水溶液中, 并继续剧烈搅拌 60 min, 从而得到红色粒径在 40~50 nm 左右的银纳米溶胶。

1.2.2 溶液配制

亚硝酸钠标准溶液: 称取亚硝酸钠标准品 10.0 mg, 用超纯水溶解并定容至 10 mL 棕色容量瓶中, 于 4 ℃条件下密封避光保存。使用时再用水稀释成 0.01~10.0 mg/L 的标准工作溶液。

蛋白沉淀剂 A: 称取 22.0 g 无水乙酸锌, 以超纯水溶解后, 定容至 100 mL 容量瓶中, 得 220 g/L 的蛋白沉淀剂 A, 备用。

蛋白沉淀剂 B: 称取 10.6 g 亚铁氰化钾, 以超纯水溶解后, 定容至 100 mL 容量瓶中, 得 106 g/L 的蛋白沉淀剂 B, 备用。

衍生试剂 A: 称取 0.4 g 对氨基苯磺酸, 以超纯水溶解后, 再加入 20 mL 盐酸溶液混匀, 定容至 100 mL 容量瓶中, 得 4 g/L 的衍生试剂 A, 避光保存, 备用。

衍生试剂 B: 称取 0.2 g 盐酸萘乙二胺, 以超纯水溶解后, 定容至 100 mL 容量瓶中, 得 2 g/L 的衍生试剂 B, 避光保存, 备用。

1.2.3 样品前处理和 SERS 检测

取 3 g 奶粉样品于 15 mL 离心管中, 加入超纯水溶解, 定容到 10 mL。加入 1 mL 的蛋白沉淀剂 A 和 1 mL 蛋白沉淀剂 B, 涡旋振荡 20 s。用 8000 r/min 离心机离心 5 min。取出上层清液于另一离心管中。加入 250 μL 衍生试剂 A 和 250 μL 衍生试剂 B。摇匀, 静置 10 min。取经衍生后的溶液上萃取柱 PSY-001, 用 3 mL 盐酸溶液(0.01 mol/L)预处理 2 次, 控制流速在每秒 2 滴。用 0.5 mL 超纯水淋洗 2 次, 用 1 mL 氢氧化钠溶液(0.1 mol/L)洗脱。收集洗脱液待用拉曼光谱仪检测。

SERS 检测: 银纳米颗粒因光电场的作用产生极化而产生局域电场使信号得到增强。一些颗粒间隙局域电场比外部电场大的多, 称之为“热点”。当分子处于热点中, 会产生很强的拉曼散射。通过加入无机盐团聚剂 ZJ-1 可以产生更多的 SERS 热点, 增强目标物的拉曼信号。取 100 μL 待测溶液于 SERS 孔板中, 加入 100 μL 团聚剂 ZJ-1, 再加入 100 μL 纳米银溶胶, 运用移液枪在孔板中对溶液进行混合, 混匀后在拉曼光谱仪上采集谱图。亚硝酸盐的主要 SERS 特征峰的拉曼位移范围在 300~1800 cm^{-1}, 光谱分辨率为 4.5 cm^{-1} @ 912 nm, 扫描次数 5 次, 温度为 25 ℃, 为减少分析时间且达到快速检测的目的, 积分时间在 2~5 s 间调整。

1.2.4 优化方案的设计

本研究分别从蛋白沉淀剂和衍生化试剂添加量、萃取小柱和洗脱液选择几个方面对前处理方案进行优化。

选择经 GB 5009.33—2016《食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》(下文简称: GB 5009.33)方法检测, 确认为阴性的雀巢怡运全家营养奶粉为测试样品。称取 3 g 奶粉于 15 mL 离心管中, 添加 2 mg/kg 水平的亚硝酸盐, 加入超纯水溶解, 定容到 10 mL, 按 1.2.3 所述步骤进行前处理。在蛋白沉淀步骤和衍生化步骤, 分别加入不同体积的蛋白沉淀剂和衍生化试剂, 其他步骤不变。通过对比不同处理的拉曼光谱信号强度, 最终确定蛋白沉淀剂和衍生化试剂的最佳添加量。

萃取小柱选择上, 由于对氨基苯磺酸中带有磺酸根($[SO^3]^-$)基团, 且衍生后的偶氮染料亦存在磺酸根($[SO^3]^-$)基团, 所以考虑使用阳离子吸附柱来进行吸附。本研究分别采用了聚酰胺粉小柱(弱阳离子吸附柱)、强阳离子小柱 MCX 以及专为偶氮类染料富集设计的阳离子柱 PSY-001 作为固相萃取柱对衍生后的样液进行净化和富集。选定萃取小柱后, 根据萃取小柱洗脱特点再行设计洗脱方案。最终确立拉曼光谱信号最强的萃取小柱+洗脱液组合为最终前处理方案。

1.2.5 方法的评估

参考食药监办科〔2017〕43 号《总局办公厅关于印发食品快速检测方法评价技术规范的通知》[22]的技术评估方法, 称取 1.1.1 所述 7 种样品 50 份作为阴性样品, 另称取 50 份, 添加检测限水平的亚硝酸盐作为阳性样品, 采用 1.2.3 方法进行前处理和检测, 以 GB 5009.33 第二法作为参比方法, 根据表 2 所示指标对本研究方法进行评估。

2 结果与分析

2.1 亚硝酸盐标准溶液的拉曼光谱图

按 1.2.3 所述衍生步骤在不同浓度亚硝酸盐标准溶液中加入衍生化试剂, 形成的偶氮染料加入 100 μL 团聚剂 ZJ-1 以及 100 μL 纳米银溶胶, 用拉曼光谱进行测定。结果如图 1 所示, 从上往下 5 条谱线分别为 1、0.5、0.1 和 0.05、0.01 mg/L 的拉曼增强光谱图。第 6 条谱线为空白溶液, 即: 用同体积的超纯水加入等量的衍生化试剂、团聚剂以及纳米银溶胶, 测定的增强拉曼光谱图。谱线 6 表明: 不含有亚硝酸盐的衍生化试剂与团聚剂和纳米银溶胶结合未产生明显的拉曼峰, 不会干扰衍生化后形成的偶氮染料特征峰的判断。由图 1 可知, 衍生化后形成的偶氮染料的特征峰谱峰强度随着亚硝酸盐浓度的降低而减弱, 当浓度低至 0.01 mg/L 时, 部分特征峰的信噪比为 3, 因此, 亚硝酸盐标准溶液的检测限可以确定为 0.01 mg/L, 这与孙帅等[20]方法得到的亚硝酸盐标准溶液检测限为 0.014 mg/L 的结论也基本一致。

表 2　快速检测方法性能指标计算表

Table 2　Calculation table for performance index of rapid assay method

样品情况 a	检测结果 b		总数
	阳性	阴性	
阳性	N11	N12	N1.=N11+N12
阴性	N21	N22	N2.=N21+N22
总数	N.1=N11+N21	N.2=N12+N22	N=N1.+N2.或 N.1+N.2
灵敏度(p+, %)		p+=N11/N1.	
特异性(p–, %)		p–=N22/N2.	
假阴性率(pf–, %)		pf–=N12/N1.=100–灵敏度	
假阳性率(pf+, %)		pf+=N21/N2.=100–特异性	
相对准确度, % c		(N11+N22)/(N1.+N2.)	

注：a：由参比方法 GB 5009.33 检验得到的结果或者样品中实际的公议值结果；b：由本研究方法检验得到的结果。灵敏度的计算使用确认后的结果；c：为方法的检测结果相对准确性的结果，与一致性分析和浓度检测趋势情况综合评价。

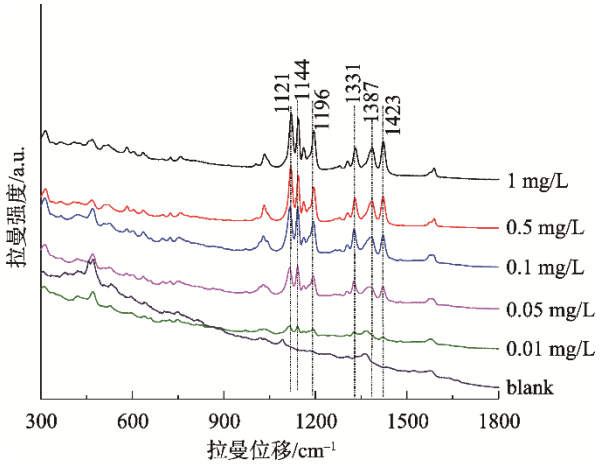


图 1　不同浓度亚硝酸盐标准溶液处理后的拉曼光谱图

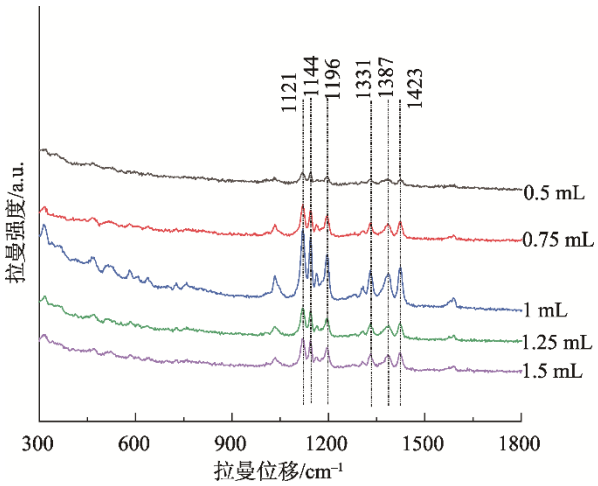
Fig.1　Raman spectrograms of nitrite solutions with various concentration after treatment

2.2　蛋白沉淀剂添加量优化

按 1.2.4 设计方案进行前处理，在蛋白沉淀步骤，往处理液中分别加入 0.5、0.75、1、1.25、1.5 mL 的蛋白沉淀剂 A 和蛋白沉淀剂 B，其他步骤不变。如图 2 所示，当蛋白沉淀剂 A 和蛋白沉淀剂 B 的加入量均为 1 mL 时，拉曼光谱信号最强。因此，选择 1 mL 的蛋白沉淀剂 A+B 组合进行蛋白沉淀。

2.3　衍生化试剂添加量优化

按 1.2.4 设计方案进行前处理，在衍生化步骤，往处理液中分别加入 150、200、250、300、350 μL 的衍生试剂 A 和衍生试剂 B 进行衍生，其他步骤不变。如图 3 所示，当衍生试剂 A 和衍生试剂 B 的添加量为 250 μL 时，拉曼光谱信号最强。因此，选择 250 μL 的衍生化试剂 A+B 组合进行亚硝酸盐的衍生。



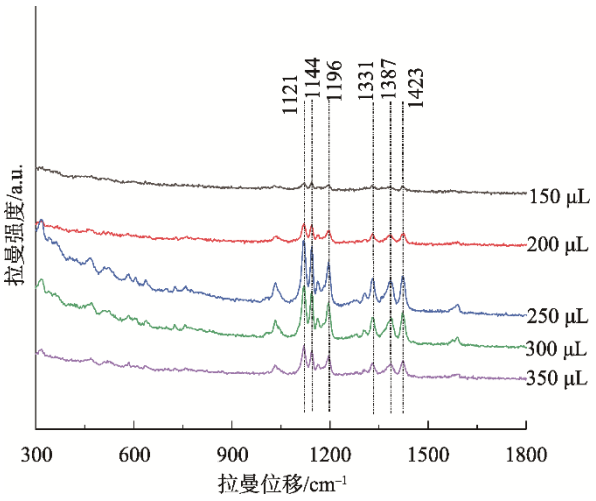
注：亚硝酸盐添加水平为 2 mg/kg。

图 2　不同添加量蛋白沉淀剂处理后的拉曼光谱图

Fig.2　Raman spectrograms of the sample treated by different amount of addtion of protein precipitant

2.4　萃取小柱的选择

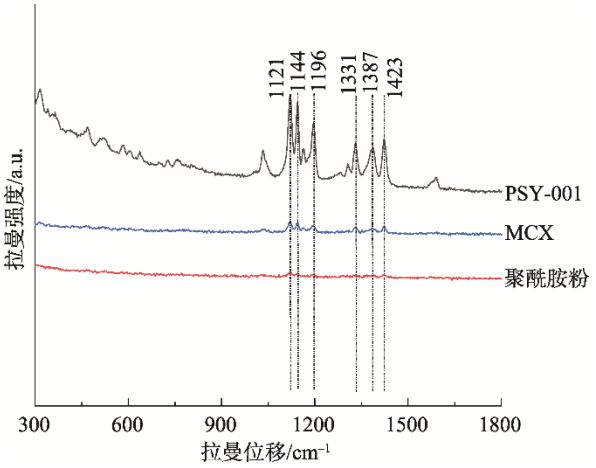
采用了聚酰胺粉小柱、强阳离子小柱 MCX 以及阳离子柱 PSY-001 作为固相萃取柱对衍生后的样液进行净化和富集。如图 4 所示，使用 PSY-001 萃取柱时，拉曼光谱信号明显强于其他两款萃取小柱。所以，选择 PSY-001 小柱作为本研究的萃取柱。



注：亚硝酸盐添加水平为 2 mg/kg。

图 3 不同添加量衍生试剂处理后的拉曼光谱图

Fig.3 Raman spectrograms of the sample treated by different amount of addition of derivation reagent



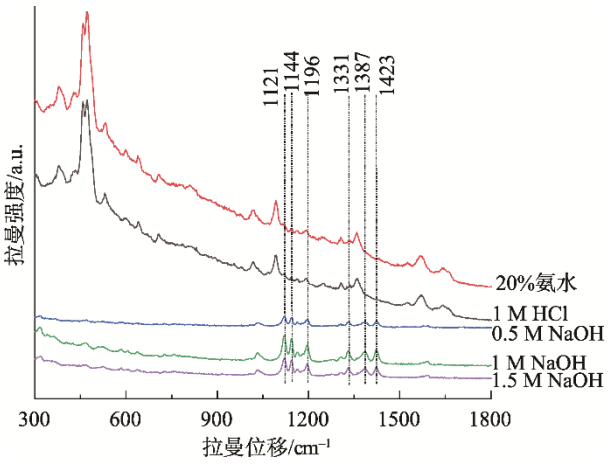
注：亚硝酸盐添加水平为 2 mg/kg。

图 4 不同萃取小柱处理后的拉曼光谱图

Fig.4 Raman spectrograms of the sample treated by different cartridge

2.5 洗脱液的选择

针对 PSY-001 萃取柱特点，可以选择 2 种方式的洗脱方案：(1)使用碱性溶液破坏目标物分子与萃取柱之间作用力的方式；(2)使用位点竞争替换的方式。选择 20%氨水溶液(方式 1)、1 mol/L 氢氧化钠溶液(方式 1)和 1 mol/L 盐酸溶液(方式 2)进行洗脱，发现使用 1 mol/L 氢氧化钠溶液洗脱时，信号最好。在此基础上又采用 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液、1.5 mol/L 氢氧化钠溶液进行洗脱比较，仍然是采用 1 mol/L 氢氧化钠溶液洗脱时，信号最强(图 5)。所以，本研究采用 1 mol/L 氢氧化钠溶液作为洗脱液。



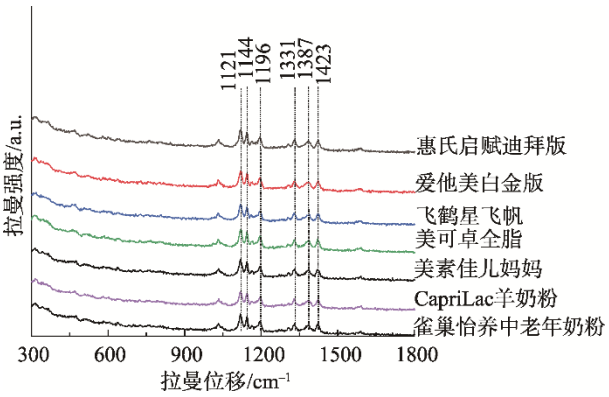
注：亚硝酸盐添加水平为 2 mg/kg。

图 5 不同洗脱液处理后的拉曼光谱图

Fig.5 Raman spectrograms of the sample treated by different eluent

2.6 方法的检测限

7 种代表性样品经 GB 5009.33 第二法方法检测，确认为阴性。对这 7 种奶粉进行亚硝酸盐加标实验，采用 1.2.3 方法进行前处理和检测。结果如图 6 所示，当添加水平为 0.4 mg/kg 时，7 种奶粉中亚硝酸盐的信噪比都接近 3。因此，本研究检测奶粉中亚硝酸盐的检测限可以确定为 0.4 mg/kg。



注：亚硝酸盐添加水平为 0.4 mg/kg。

图 6 不同奶粉添加亚硝酸盐的拉曼光谱图

Fig.6 Raman spectrograms of the sample treated by different eluent

2.7 方法的技术评估

根据 1.2.5 评估方案对本研究方法进行评估。表 3 结果表明：本研究方法的灵敏度在 96%～100%，特异性为 100%，假阴性率为 0%～4%，假阳性率为 0%，相对准确度为 98%～100%，总体性能指标优越，非常适用于奶粉中的亚硝酸盐快速定性检测。

表 3　7 种样品快速检测方法性能指标
Table 3　Performance index of rapid assay method of 7 samples

奶粉品牌类型	灵敏度/%	特异性/%	假阴性率/%	假阳性率/%	相对准确度/%
惠氏启赋迪拜版	100	100	0	0	100
爱他美白金版	98	100	2	0	99
飞鹤星飞帆	96	100	4	0	98
美可卓全脂	100	100	0	0	100
美素佳儿妈妈	100	100	0	0	100
CapriLac 羊奶粉	100	100	0	0	100
雀巢怡养中老年奶粉	98	100	2	0	99

2.8　实际样品的测定

选取市售的 12 种不同品牌或型号的奶粉, 产地覆盖进口和国产产品, 种类覆盖全脂奶粉、脱脂奶粉、牛奶粉、羊奶粉、配方奶粉、孕妇调制奶粉、中老年奶粉等, 如表 4 所示。运用便携式拉曼设备, 采用本研究所建立的方法进行检测, 根据不同的批处理量, 检测一个样品的全过程只需要 3~15 min, 结果在 12 种样品中均未检出亚硝酸盐。同时采用 GB 5009.33 方法检测, 结论与本研究方法一致。

表 4　12 种测试样品信息一览表
Table 4　Information sheet of 12 test samples

品牌/型号	产地	种类
惠氏启赋迪拜版一段	爱尔兰	婴儿配方牛奶粉
爱他美白金版三段	荷兰	幼儿配方牛奶粉
飞鹤星飞帆四段	中国	儿童配方牛奶粉
美赞臣铂睿 A2 三段	荷兰	幼儿配方牛奶粉
美素佳儿妈妈	荷兰	孕妇牛奶粉
CapriLac 羊奶粉	澳大利亚	成人全脂羊奶粉
金领冠悠滋小羊二段	中国	婴儿配方羊奶粉
雀巢怡运全家营养奶粉	中国	通用早餐牛奶粉
西淳全家营养羊奶粉	中国	通用羊奶粉
美可卓全脂牛奶粉	澳大利亚	成人全脂牛奶粉
美可卓脱脂牛奶粉	澳大利亚	成人脱脂牛奶粉
雀巢怡养中老年奶粉	中国	中老年牛奶粉

3　结论与讨论

本研究通过对蛋白沉淀剂、偶氮化合衍生试剂用量的优化, 同时采用阳离子小柱 PSY-001 对衍生化合物进行富集, 使用表面增强拉曼光谱对奶粉中的亚硝酸盐含量进行定性检测, 取得良好的效果, 方法检测限为 0.4 mg/kg, 适用于市面销售的各种类型奶粉。该方法操作简单, 易于掌握, 根据不同的批处理量, 单个样品检测只需 3~15 min, 尤其适用于便携式拉曼光谱仪设备现场筛检, 可应用于食品安全监管部门以及食品生产企业的现场奶粉亚硝酸盐快速筛查。

参考文献

[1] 邱怡筠, 都芸, 左惠君. 亚硝酸盐对肉制品的抗氧化及抑制微生物的作用[J]. 中国饲料, 2020, (16): 9–12.
QIU YJ, DU Y, ZUO HJ. The effect of nitrite on anti-oxidation of meat products and inhibition of microorganisms [J]. Chin Feed, 2020, (16): 9–12.

[2] 戴智勇, 张岩春, 刘跃辉, 等. 婴幼儿配方乳粉中蛋白质、脂肪及碳水化合物的调整[J]. 中国乳业, 2011, (4): 58–61.
DAI ZY, ZHANG YC, LIU YH, *et al*. Adjustment of protein, fat and carbohydrate in infant formula milk powder [J]. Chin Dairy, 2011, (4): 58–61.

[3] 刘建凤. 奶牛亚硝酸盐中毒的病因、临床特征、诊断和防治措施[J]. 现代畜牧科技, 2020, (1): 78–79.
LIU JF. Etiology, clinical characteristics, diagnosis and control of nitrite poisoning in dairy cows [J]. Mod Anim Husb Sci Technol, 2020, (1): 78–79.

[4] GENUALDI S, MATOS MPV, MANGRUM JB, *et al*. Investigation into the concentrations and sources of nitrates and nitrites in milk and plant-based powders [J]. J Agr Food Chem, 2021, 68(6): 1725–1730.

[5] 曹会兰. 亚硝酸盐对人体的危害和预防[J]. 微量元素与健康研究, 2003, 20(2): 57–58.
CAO HL. Harm and prevention of nitrite to human body [J]. Stud Trace Element Health, 2003, 20(2): 57–58.

[6] 徐淼, 张倩男, 杨辉, 等. 亚硝胺及前体化合物的致癌效应及其食用安全性研究进展[J]. 癌变·畸变·突变, 2018, 30(1): 76–79.
XU M, Zhang QN, YANG H, *et al*. Advances in research about carcinogenic effect and edible security of nitrosamine and its precursor compounds [J]. Carcinogen Teratogen Mutagen, 2018, 30(1): 76–79.

[7] 鲍所言, 刘卫洁, 胡汉芳. 催化荧光法测定痕量亚硝酸根[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(3): 342–344.
BAO SY, LIU WJ, HU HF. Catalytic fluorimetric determination of trace nitrite [J]. Spectrosc Spect Anal, 2004, 24(3): 342–344.

[8] 蒋志斌. 催化光度法测定肉制品中亚硝酸根含量[J]. 微量元素与健康研究, 2003, 20(5): 46–48.

JIANG ZB. The way of catalysis and magnitude to measure the content of nitrous acid radical in meat foods [J]. Stud Trace Elem Health, 2003, 20(5): 46–48.

[9] 高岐, 张海燕. 化学发光分析法测定食品中微量亚硝酸根[J]. 理化检验(化学分册), 2003, 39(9): 515–516, 518.
GAO Q, ZHANG HY. Chemiluminescence determination of trace amounts of nitrite ion in foodstuffs [J]. Phys Test Chem Anal (Chem Anal), 2003, 39(9): 515–516, 518.

[10] CHU GL, WANG B, HUANG JC, *et al*. Novel three-dimensional senor based on nanodendrites for nitrite determination [J]. J Appl Electrochem, 2021: 1-12, DOI: 10.1007/s10800-021-01558-w

[11] 徐晓, 郝桂娟, 郭利攀, 等. 气相分子吸收光谱法测定酱腌菜中亚硝酸盐[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(15): 5252–5257.
XU X, HAO LJ, GUO LP, *et al*. Determination of nitrite in pickles by gas-phase molecular absorption spectroscopy [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(15): 5252–5257.

[12] LI XL, MENG DL, ZHAO J, *et al*. Simultaneous determination of nitrate and nitrite in wrapper by high-performance liquid chromatography with cloud-point extraction [J]. Asian J Chem, 2014, 26(14): 4363–4366.

[13] 陈俊秀, 梁孟军, 张瑞雨, 等. 两种国标方法对奶粉中亚硝酸盐的测定与分析[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(23): 182–184.
CHEN JX, LIANG MJ, ZHANG RY, *et al*. Determination and analysis of nitrite in milk powder by 2 kinds of national standards [J]. Hubei Agric Sci, 2019, 58(23): 182–184.

[14] 陈林林, 韩可, 李伟, 等. 亚硝酸盐检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(11): 3430–3435.
CHEN LL, HAN K, LI W, *et al*. Research progress in nitrite detection methods [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(11): 3430–3435.

[15] 谢云, 周敏, 曹小娟, 等. 修饰电极伏安法快速测定食品中抗坏血酸和亚硝酸盐[J]. 分析试验室, 2018, 37(6): 646–650.
XIE Y, ZHOU M, CAO XJ, *et al*. Rapid voltametric determination of ascorbic acid and nitrite in the food samples at a composite modified electrode [J]. Chin J Anal Lab, 2018, 37(6): 646–650.

[16] LI JF, TIAN XD, LI SB, *et al*. Surface analysis using shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy [J]. Nat Protoc, 2013, 8(1): 52–65.

[17] LI JF, ANEMA JR, WANDLOWSKI T, *et al*. Dielectric shell isolated and graphene shell isolated nanoparticle enhanced Raman spectroscopies and their applications [J]. Chem Soc Rev, 2015, 44(23): 8399–8409.

[18] ZONG C, XU M, XU LJ, *et al*. Surface-enhanced Raman spectroscopy for bioanalysis: Reliability and challenges [J]. Chem Rev, 2018, 118(10): 4946–4980.

[19] 杨青青. 表面增强拉曼光谱法在硫氰酸盐、三聚氰胺和亚硝酸盐测定中的应用[D]. 长春:吉林大学, 2016.
YANG QQ. Application of surface-enhanced Raman spectroscopy to determination of thiocyanate, melamine and nitrite [D]. Changchun: Jilin University, 2016.

[20] 孙帅, 彭毅, 李攻科, 等. 衍生化/表面增强拉曼光谱快速检测乳制品中亚硝酸盐[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(9): 3602–3607.
SUN S, PENG Y, LI GK, *et al*. Rapid determination of nitrite in dairy products by derivatization/surface enhanced Raman spectroscopy [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(9): 3602–3607.

[21] PILLAI ZS, KAMAT PV, *et al*. What factors control the size and shape of silver nanoparticles in the citrate ion reduction method? [J]. J Phys Chem B, 2004, 108: 945–951.

[22] 食品药品监管总局办公厅. 食品药品监管总局办公厅关于印发食品快速检测方法评价技术规范的通知. 食药监办科(2017)43 号[EB/OL]. [2017-03-28]. http://news.foodmate.net/2017/03/423895.html. [2021-01-28].
General Office of the State Food and Drug Administration. Notice of the general office of the State Food and Drug Administration on printing and distributing technical specifications for evaluation of food rapid detection methods. Notice of the China Food and Drug Administration No.(2017)43 [EB/OL]. [2017-03-28]. http://news.foodmate.net/2017/03/423895.html. [2021-01-28].

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介

陈 泳, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 958624446@qq.com

花 锦, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 13835149925@163.com