

蔬菜硝酸盐检测方法研究进展

薛利红, 杨林章

(中国科学院南京土壤研究所, 江苏南京 210008)

摘要: 硝酸盐含量的高低是评价蔬菜安全品质的一项重要指标。目前常见的硝酸盐测试方法有分光光度法、色谱法、毛细管电泳法、电极法、试粉法、反射仪-试纸法。就现有蔬菜硝酸盐测定方法进行了分类, 分别介绍其检测原理及最新研究进展, 并对不同测定方法的适用范围进行了比较, 推荐几种典型的有代表性的蔬菜硝酸盐的测定方法。

关键词: 蔬菜; 硝酸盐; 测定方法

中图分类号: TS251.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2007)04-0222-05

硝酸盐不仅是蔬菜的营养物质、化肥的重要组成部分, 推荐施肥的参照, 还是评价蔬菜安全品质的一项重要指标。近半个世纪来, 工业化程度的飞速发展带动了化肥生产、温室大棚种植、水培和无土栽培等技术在蔬菜生产上广泛应用。而有些蔬菜种植者盲目使用或滥用这些高新技术, 一味地追求经济效益, 忽视了蔬菜营养品质育种和综合配套栽培技术, 造成蔬菜安全品质严重下降。研究蔬菜硝酸盐有害物质残留在生产、储藏、加工与流通过程中的检测与监控分析方法, 提供科学、准确、快速及时、公正的检验数据和手段, 控制安全品质差的蔬菜上市, 对保护消费者利益和健康至关重要。目前蔬菜硝酸盐的测定方法多种多样, 不同的方法其适用范围、测定精度都不同。本文就目前常见的蔬菜硝酸盐测定方法的原理、研究进展等逐类进行介绍, 比较不同测定方法的检测范围、检测限, 并推荐几种典型的硝酸盐测定方法。

1 测试方法的分类

蔬菜硝酸盐的测定方法根据检测原理可分为光谱法、色谱法、离子选择电极法、毛细管电泳法等几大类。根据测定的场合可分为实验室测定法和现场测定法, 现场测定要求所需仪器简单便携、样品前处理简单或无需前处理, 如离子电极法、试纸试粉法、

反射仪-硝酸根试纸法及最新的可见近红外光谱法。根据对蔬菜的破损情况又可分为破坏性测定法和无损测试法, 常规需对蔬菜样品进行粉碎前处理的测定方法属于破坏性测定方法, 不需要对样品进行前处理的, 如可见近红外光谱法, 属于无损测试法。

2 测试方法的原理及最新研究进展

2.1 光谱法

光谱法测定 NO_3^- 的原理: 利用 NO_3^- 在紫外区 220 nm 的特定吸收波长或利用 NO_3^- 在可见-近红外波段的全波谱特征直接测定, 或者利用酚类化合物硝化、水杨酸反硝化、还原剂还原法等生成有色物质, 这些有色物质颜色的变化与 NO_3^- 的量呈正相关, 可在可见光范围测定。这类方法的共同点就是都需要借助于一些光谱仪器如分光光度计、光谱仪等来测定目标物的吸光度或吸收反射光谱。根据测定波长又可划分为可见分光光度法、紫外分光光度法、近红外法及可见近红外光谱法。

2.1.1 可见分光光度法 常用的国标法、酚二磺酸比色法等均属于可见分光光度法。其中国标法采用的是镉还原剂还原法, 把 NO_3^- 还原为 NO_2^- , 而亚硝酸盐的测定采用 Griess 法^[1]。经典的酚二磺酸比色法利用酚二磺酸对 NO_3^- 进行硝化, 生成的硝基酚二磺酸在碱性条件下显稳定的黄色, 其测定波长在 420 nm 处^[2]。Wang 等^[3]探讨了用柱式浓缩分光光度法同时测定水、蔬菜样品中的硝酸盐和亚硝酸盐, 此方法灵敏性、选择性高, 而且准确性高, 操作简单, 可同时测定硝酸盐和亚硝酸盐。Zatar 等^[4]提出了利用磷钼蓝络合物用分光光度法测定硝酸盐和亚硝

收稿日期: 2007-02-28

基金项目: 江苏省自然科学基金(编号: BK2005167)。

作者简介: 薛利红(1977—), 女, 河南修武人, 博士, 副研究员, 主要从事光谱技术在农业中的应用研究。Tel: (025) 86881308;

E-mail: lhxue@issas.ac.cn, 通讯作者: 杨林章, Tel: (025) 86881591; E-mail: lzyang@issas.ac.cn

酸盐的一种新方法,该法通过硫化钠还原磷钼酸,生成的磷钼蓝化合物与加入的亚硝酸盐偶氮化,引起蓝色吸收光谱的减少,减少的程度与加入亚硝酸盐的量成正比,然后在 814 nm 处测定蓝色络合物的吸收光谱。

随着现代分析仪器的不断更新和发展,一些先进的仪器如连续流动分析仪与 Griess 法相结合,拓宽了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硝酸盐,这是分光光度法研究中的一个新热点。Kazemzadeh 等^[5]使用连续流动分光光度法同时测定多种样品中的硝酸盐和亚硝酸盐,亚硝酸盐和硝酸盐测定的范围分别为 0.003 ~ 2.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.030 ~ 2.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。Monser 等^[6]利用流动注射分析方法,在 820 nm 处分光测定磷钼蓝络合物的吸收光谱来同时测定硝酸盐和亚硝酸盐,测定快速、简单,并且不受 pH 值限制,硝酸盐和亚硝酸盐的测定范围分别为 0.06 ~ 1.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.05 ~ 1.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$,测定的极限分别为 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。Kazemzadeh 等^[7]利用亚硝酸盐与番红 O 反应形成重盐,重盐引起橘红色的溶液在酸性介质中变成蓝色,在 520 nm 处有吸收光谱,来测定亚硝酸盐和硝酸盐,测定范围分别是 0.000 1 ~ 3.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.005 ~ 3.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$,测定的极限分别为 0.5 mg/mL 和 3 mg/mL 。Andrade 等^[8]首先把硝酸盐和亚硝酸盐还原为 NO ,再在酸性介质中和 Fe^{2+} 及硫氰酸盐发生反应生成 FeSCNNO^+ ,该复合物在 460 nm 处的最大吸收峰与硝酸盐的浓度成正比,然后用流动注射的方法来同时测定蔬菜样品中的亚硝酸盐和硝酸盐,测定范围分别为 0.30 ~ 3.00 mg/L 和 1.00 ~ 10.00 mg/L ,测定极限分别为 13 mg/kg 和 20 mg/kg ,每小时可分析样品 30 ~ 40 个,需样量为 5.0 g,精度和准确度均可达到要求。

2.1.2 紫外分光光度法 应用最普遍的就是根据 NO_3^- 在紫外的吸收波长直接测定 220 nm 和 275 nm 的吸收度,用校正吸光度查得 NO_3^- 浓度。冷家峰等^[9]提出在弱碱性氯化铵缓冲溶液中振荡提取新鲜蔬菜中硝酸盐,用亚铁氰化钾和硫酸锌作沉淀剂。罗雪华等^[10]提出在弱碱性饱和硼砂溶液中沸水浴提取新鲜蔬菜中硝酸盐,用亚铁氰化钾和乙酸锌作沉淀剂。这 2 种方法提取的硝酸盐均采用双波长紫外分光光度法测定,两者的测定结果无显著差异,准确度和精密度均符合试验要求^[11]。

此外,紫外分光光度法和其他先进的分析仪器

及方法相结合,提高了测试的灵敏度和速度,拓宽了测定领域。如紫外分光光度法和离子色谱法结合,可用来测定肉制品、奶粉、蔬菜中的硝酸盐和亚硝酸盐, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的检出限分别为 4 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ ^[12]。紫外法和毛细管电泳法结合起来可同时测定蔬菜和肉类食品的亚硝酸盐和硝酸盐含量,不需添加任何物质,检出限很低,结果的再现性和回收率均较高^[13]。

2.1.3 近红外法及可见近红外光谱法 可见近红外光谱分析技术的不断发展,被越来越多地应用到植物养分等含量的无损测试中去。王多加等^[14-15]运用傅里叶变换近红外光谱仪,以二阶导数处理光学数据,用偏小二乘法进行统计分析,对蔬菜全植株、完整叶片和剁碎叶片硝酸盐的无损直接快速测定方法进行了尝试研究,结果表明,用近红外光谱法测定蔬菜中硝酸盐含量是可行的,测试结果与国标方法具有较好的可比性,相关系数在 0.97 以上,相对误差在 10% 以下,且无任何检测材料消耗,检测 1 个样品仅需 1 min。Itō 等^[16]2003 年就利用日本所有萝卜品种的可见-近红外光谱(接触模式和非接触模式)与萝卜体内对应的硝酸盐含量的关系进行了研究,发现硝酸盐含量与 560、902、964、904 nm 的二阶对数倒数光谱($d^2 \log 1/R$)多元线性相关($MR = 0.929$, $SEC = 675 \text{ mg}/\text{L}$),单一 560 nm 波段的二阶对数倒数光谱和硝酸盐含量的相关性也很好($r = -0.888$ 接触模式, -0.858 非接触模式)。随后在绿叶蔬菜青根菜上进行了研究,发现 514 nm 和硝酸盐含量呈正相关,尽管有叶绿素和类胡萝卜素的存在,但在 514 nm 附近并没有发现他们的干扰,实测值与光谱法的预测值之间的相关系数高达 0.90,说明可见近红外光谱法能被用来无损估测蔬菜的硝酸盐含量^[17]。

2.2 色谱法、毛细管电泳法和电极法

这 3 种方法都是利用了分离技术得到纯的 NO_3^- 离子,其 NO_3^- 离子强度与吸光强度、电导值或吸光值的变化成正比关系,通过测定物与 NO_3^- 离子标准物的比较来计算。其中色谱法主要是利用柱层析前处理分离技术,毛细管电泳法应用毛细管分离技术,离子电极法则是利用离子对电极的选择性,使 NO_3^- 离子与其他离子分开。

早在 1986 年, Pentchuk 等^[18]就用单柱离子色谱同时测定蔬菜中的 NO_3^- 和 Cl^- 含量,研究发现,对硝酸盐含量高的蔬菜品种如生菜等,淋洗液用 1.5

mmol/L 葡萄糖酸 + 1.5 mmol/L 硼酸、pH 值 8.6 比较适合,对硝酸盐含量比较低的蔬菜品种如黄瓜、卷心菜等,用 1.0 mmol/L 邻苯二甲酸、pH 值 5.2 则比较合适。Zhou 等^[19]用单柱离子色谱法同时测定蔬菜中的 Cl^- 、 NO_3^- 和 SO_4^{2-} ,发现硝酸盐的检出限和测定范围分别为 $0.63 \mu\text{g}/\text{ml}$ 和 $0 \sim 90 \mu\text{g}/\text{ml}$,平均回收率为 97.0% ~ 104%。杨敏等^[20]利用离子色谱测定了多种蔬菜的硝酸盐含量,发现离子色谱法的线性范围为 $0.1 \sim 100.0 \text{ mg}/\text{L}$,检出限为 $0.05 \text{ mg}/\text{L}$,操作简单、快速、基本无干扰、灵敏准确。Io 等^[21]则用离子色谱同时测定菠菜中的硝酸盐和有机酸浓度。

毛细管电泳法能使无机离子迅速分离,也被用来测试蔬菜中硝酸盐含量。Jimidar 等^[22]用水混合稀释提取样品中的阴离子,用毛细管电泳法来间接测定硝酸盐和亚硝酸盐,并以官方的 AOAC 法(琼斯还原后分光光度法测试)为对照,对 2 种方法的检出限、检测范围、精度和准确度进行了比较,发现电泳法的检出限非常低,精度、准确度与对照方法相当。Marshall 等^[23]提出了利用毛细管电泳法直接同时测定多种食品样品中硝酸盐和亚硝酸盐含量的方法。Oztekin 等^[13]则用聚乙烯亚胺包裹的毛细管使 NO_3^- 和 NO_2^- 分离,用紫外直接同时测定蔬菜和肉类食品的硝酸盐和亚硝酸盐的含量,与比色法相比,此法不需添加任何物质,具有时间短、电解液和样品消耗少等优点。

Badea 等^[24]用纤维醋酸膜或用聚乙烯膜改进的铂金电极和流动注射分析组装,快速地批量测定食品、土壤、蔬菜及肥料中的亚硝酸盐和硝酸盐,且不需要任何反应物质。Consalter 等^[25]用 $0.01 \text{ mol}/\text{L}$ CuSO_4 提取蔬菜样品后,用离子选择电极测定了胡萝卜、野生菊苣、菠菜、欧芹、芹菜等蔬菜的硝酸盐含量,回收率平均为 104%,变异系数为 2.2% ~ 6.7%。汪建飞等^[26]则用硫酸钾为提取剂,以硫酸银为掩蔽剂,用国产的 403 型硝酸根离子选择电极测定了多种蔬菜的硝酸盐含量,并和酚二磺酸比色法和硝酸试粉法进行了比较,发现 3 种方法之间无显著性差异,电极法的测定线性范围宽,硝酸盐含量为 $8 \times 10^{-5} \sim 8 \times 10^{-1} \text{ mol}/\text{L}$ 都可被直接测定,回收率为 97.53% ~ 103.76%。

2.3 试粉法、反射仪 - 试纸法

目前比较流行的硝酸盐速测方法是硝酸盐试粉法和硝酸盐试纸法。硝酸盐试粉法和试纸法均是利

用偶氮反应的原理进行显色,然后根据颜色深浅或比色的方法测定硝酸盐的含量。Singh^[27]对 Bray 提出的植株组织中硝酸盐的快速定性测定法进行了改进,用比色计在 540 nm 处测定其溶液的吸光值以用于植株硝酸盐的定量测定。杜应琼等^[28]在 Singh 等方法的基础上对硝酸盐试粉法又进行了改进,提出了以水作为提取溶剂,混合试粉(柠檬酸 - 一水硫酸锰 - 无水对氨基苯磺酸 - N-1-萘乙二胺盐酸盐 - 细锌粉 = 30 : 4 : 1.6 : 0.8 : 1) 加入量为 0.1 g 的改进试粉法,试验证明,改进后不仅大大增加了测定的准确性,且降低了检测下限,但不能用于紫外法测定,否则可能会因色素干扰而使结果严重偏高。硝酸试粉法的测定范围是 $0.5 \sim 20 \text{ mg}/\text{L}$ 。硝酸盐试纸条是德国人 Kuhnert 在 1970 年发明的,主要由硝酸盐反应试剂(显色剂、还原剂、有机酸)、助剂(抗氧化剂、热稳定剂、表面活性剂)和 PVC 塑料板组成。试纸条结合配套使用的反射仪,可使硝酸盐的测定在短时间内迅速完成。目前根据不同的显色反应配方,硝酸盐试纸条的检测范围有 $3 \sim 90 \text{ mg}/\text{L}$ 和 $25 \sim 450 \text{ mg}/\text{L}$ 2 种。研究表明,用反射仪 - 硝酸根试纸法的测定结果与国标法、连续流动分析法、离子色谱法等极显著线性相关^[29-32]。

2.4 其他方法

其他可用来测定蔬菜硝酸盐含量的方法有极谱法、电子顺磁共振法、催化动力学法等。极谱法测定的精度和准确度可与比色法相媲美,其线性范围是 $2 \times 10^{-6} \sim 12 \times 10^{-6} \text{ mol}/\text{L}$,回收率为 85.4% ~ 107.4%,测定范围为 $751 \sim 10806 \text{ mg}/\text{kg}$,该法的相对偏差低于 7%,需要样品量 5.0 g,检出限为 $39 \text{ mg}/\text{kg}$ 蔬菜鲜重^[33]。电子顺磁共振法测定蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐,其线性关系 NO_2^- 可达 $2500 \mu\text{g}/\text{ml}$, NO_3^- 可达 $16000 \mu\text{g}/\text{ml}$,具有高选择性和高灵敏性的特点^[34]。门瑞芝等^[35]研究了甲基橙动力学法测定水、肉制品和蔬菜中的硝酸盐和亚硝酸盐,在紫外光照射下甲基橙褪色程度与硝酸盐和亚硝酸盐含量均成正比,该法首先测定二者的总量,然后在氨基磺酸存在下测定硝酸盐的量,再差减求得亚硝酸盐的量,工作曲线范围为 $0 \sim 1.6 \mu\text{g}/\text{ml}$ NO_3^- (或 NO_2^-)。

3 讨论

蔬菜硝酸盐定量测定的干扰因素很多,主要来自色素、无机阴阳离子、抗坏血酸、有机酸等几个方

面,色素的存在干扰比色方法的测定,而无机阴阳离子和有机酸类干扰色谱法的测定,抗坏血酸的存在可显著降低样品提取液中 NO_2^- 浓度,使测定结果偏低,偏低的幅度与抗坏血酸的量和提取液消解加热的温度呈正相关。由于绝大部分蔬菜中硝酸盐的含量较高,如果只为单一硝酸盐的含量测定,应选择离子柱过滤清除干扰,采用专一性、重复性和准确性好的方法,如离子选择电极法、光谱比色法等。对于光谱法中还原比色分析定量检测,应尽量避免用水直接提取或加热消解作为鲜菜的提取方法,建议选择碱性缓冲液或甲醇-水作为提取剂,以确保测定结果的真实性^[36]。如进行低含量硝酸盐样品的分析,则需要选择高灵敏度的色谱检测法,为避免阴离子的影响,可选用 $1.7 \text{ mmol/L NaHCO}_3$ 和 $1.8 \text{ mmol/L Na}_2\text{CO}_3$ 的碱性缓冲液作为淋洗液^[20]。尽管用色谱检测法如高压液相色谱法的分离时间较长,通常在 20 min 以内,但此法可以根据需要解决一个样品中多种阴离子的同时定量和痕量分析。

经典的酚二磺酸比色法灵敏度高,但受有机物和 Cl^- 的干扰,无法在短期内进行大批量样品分析。国标法可以很专一地对蔬菜或蔬菜制品中浓度为 $50 \sim 3000 \text{ mg/kg}$ 的硝酸根离子进行测定^[36],但操作冗长费时,需用多种化学试剂,不适宜大批量样品的检测,且还原剂镉对环境存在威胁。色谱法具有快速、灵敏、选择性好,前处理简单等优点,但要求样品溶液硝酸盐浓度不能过高,需稀释后再进样测定,还须用滤膜滤去色素、有机酸等有机物,此外仪器比较昂贵。离子电极法测定所用的设备简单,且能进行连续快速的测定。反射仪法和试粉法虽然对蔬菜硝酸盐的定量检测结果灵敏度不如实验室的分析方法高,但能满足现场检测的需要。不同的测定方法其精度、灵敏度也不相同,伊等^[37]同时对反射仪法、离子电极法、高效液相色谱法(HPLC)、高效毛细管电泳法(CE)进行了比较,发现不同方法测定的硝酸盐含量高低不一,当稀释比率为100倍时,离子电极法 > 反射仪法 > HPLC = CE;离子电极法和反射仪法的测定结果随稀释倍数的变化而变化,在100倍稀释液的测定结果要高于50倍的;在高浓度范围内,旧离子电极的测定结果易高于新电极;毛细管电泳法最好在100倍稀释液、 24°C 下进行自动进样测定,其测定结果与HPLC比较一致。这就要求我们根据自己的实际需要具体分析,选择相应的硝酸盐测定方法。

4 小结

综上所述,蔬菜硝酸盐的测定方法日益增多。分光光度法所用仪器设备简单、价廉,灵敏度也较高,其研究方法具有实用性和可操作性,易于在基层单位使用。近年来随着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,可同时测定硝酸盐和亚硝酸盐,操作更简便、快速,消耗的反应液和样品量更少,已成为光谱分析法研究的一个新热点,具有广泛的前景。紫外分光光度法的优点是不经分离可直接同时测定硝酸盐和亚硝酸盐,具有较好的选择性,操作简便。电子顺磁共振法、色谱法、毛细管电泳法对仪器的要求较高,但其测定的灵敏度高,在某些方面的开发应用也具有良好前景。离子电极法、试粉法、反射仪-试粉法可满足蔬菜硝酸盐现场测定的需要。随着可见近红外光谱分析及高光谱的发展,利用可见-近红外波段的全波谱技术来无损测定蔬菜硝酸盐含量也是目前研究的热点之一。

参考文献:

- [1] 国家技术监督局. GB/T 15401-1994. 水果、蔬菜及其制品亚硝酸盐和硝酸盐含量的测定[S]. 北京:中国标准出版社,1994.
- [2] 国家环境保护总局. GB/T 7480-1987. 水质硝酸盐氮的测定-酚二磺酸分光光度法[S]. 北京:中国标准出版社,1987.
- [3] Wang G F, Horita K, Satake M. Simultaneous spectrophotometric determination of nitrate and nitrite in water and some vegetable samples by column preconcentration[J]. Microchemical Journal, 1998, 58(2): 162-174.
- [4] Zatar N A, Abu-Eid M A, Eid A F. Spectrophotometric determination of nitrite and nitrate using phosphomolybdenum blue complex[J]. Talanta, 1999, 50(4): 819-826.
- [5] Kazemzadeh A, Ensafi A A. Sequential flow injection spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in various samples[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 442: 319-326.
- [6] Monser L, Sadok S, Greenway G M, et al. A simple simultaneous flow injection method based on phosphomolybdenum chemistry for nitrate and nitrite determinations in water and fish samples[J]. Talanta, 2002, 57: 511-518.
- [7] Kazemzadeh A, Ensafi A A. Simultaneous determination of nitrite and nitrate in various samples using flow-injection spectrophotometric detection[J]. Microchemical Journal, 2001, 69: 159-166.
- [8] Andrade R, Viana C O, Guadagnin S G, et al. A flow-injection spectrophotometric method for nitrate and nitrite determination through nitric oxide generation[J]. Food Chemistry, 2003, 80(4): 597-602.
- [9] 冷家峰,刘仙娜,王泽俊. 紫外吸光度法测定蔬菜鲜样中硝酸

- 盐氮[J]. 理化检验:化学分册, 2004, 40(5): 288 - 289.
- [10] 罗雪华, 蔡秀娟. 紫外分光光度法测定蔬菜硝酸盐含量[J]. 华南热带农业大学学报, 2004, 10(1): 13 - 16.
- [11] 魏珂萍, 刘宗云, 刘敏, 等. 用2种紫外分光光度法测定新鲜蔬菜硝酸盐的比较[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(4): 619, 638.
- [12] 王心宇, 项新华, 涂晓明, 等. 紫外检测 - 离子色谱法测定食品中的硝酸盐和亚硝酸盐[J]. 化学分析计量, 2002, 11(2): 28 - 29.
- [13] Ztekin N, Nutku M S, Erim F B. Simultaneous determination of nitrite and nitrate in meat products and vegetables by capillary electrophoresis[J]. Food Chemistry, 2002, 76(1): 103 - 106.
- [14] 王多加, 钟娇娥, 胡祥娜, 等. 用傅里叶变换红外光谱和偏最小二乘法测定蔬菜中硝酸盐含量[J]. 分析化学, 2003, 31(7): 892.
- [15] 王多加, 林纯忠, 钟娇娥. 近红外光谱法非破坏快速检测生菜中硝酸盐含量[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 239 - 241.
- [16] Ito H, Horie H, Ippoushi K, et al. Potential of visible - near infrared spectroscopy for non - destructive estimation of nitrate content in Japanese radishes[J]. Acta Hort, 2003, 604: 549 - 552.
- [17] Ito H, Idezawa F. Non - destructive determination of nitrate ion in leaf stalk of Qing Gen Cai using visible - near infrared spectroscopy[J]. Acta Hort, 2006, 712: 364 - 369.
- [18] Pentchuk J, Haldna U, Ilmoja K. Determination of nitrate and chloride ions in food by single - column ion chromatography[J]. Journal of chromatography A, 1986, 364: 189 - 192.
- [19] Zhou M S, Guo D L. Simultaneous determination of chloride, nitrate and sulphate in vegetable samples by single - column ion chromatography[J]. Microchemical Journal, 2000, 65(3): 221 - 226.
- [20] 杨敏, 林国剑, 钟国华, 等. 离子色谱法测定蔬菜硝酸盐含量[J]. 理化检验:化学分册, 2005, 41(6): 412 - 414.
- [21] Ito H, Kiya H, Horie H. Simultaneous analysis of nitrate and major organic acids in spinach using ion chromatography[J]. Acta Hort, 2005, 687: 369 - 370.
- [22] Jimidar M, Hartmann C, Cousment D, et al. Determination of nitrate and nitrite in vegetables by capillary electrophoresis with indirect detection[J]. Journal of Chromatography A, 1995, 706: 479 - 492.
- [23] Marshall P A, Trenerry V C. The determination of nitrite and nitrates in foods by capillary ion electrophoresis[J]. Food Chemistry, 1996, 57: 339 - 345.
- [24] Badaea M, Amine A, Palleschi G, et al. New electrochemical sensors for detection of nitrites and nitrates[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2001, 509(1): 66 - 72.
- [25] Consalter A, Rigato A, Clamor L, et al. Determination of nitrate in vegetables using an ion - selective electrode[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 1992, 5(3): 252 - 256.
- [26] 汪建飞, 陈世勇, 邢素芝, 等. 电极法测定蔬菜中硝酸盐的方法研究[J]. 甘肃农业科技, 2004(5): 39 - 41.
- [27] Singh J P. A rapid method for determination of nitrate in soil and plant extracts[J]. Plant and Soil, 1988, 110: 137 - 139.
- [28] 杜应琼, 王富华, 李乃坚, 等. 新鲜蔬菜硝酸盐含量测定的改进试粉法[J]. 园艺学报, 2005, 32(1): 49 - 53.
- [29] 沙凌杰, 李正英, 朱丽, 等. 反射仪 - 硝酸根试纸法现场速测蔬菜硝酸盐水平及其应用[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(5): 994 - 999.
- [30] 张学军, 赵桂芳, 朱文清, 等. 采用试纸条 - 反射仪法测定蔬菜可食部位硝酸盐含量[J]. 宁夏农林科技, 2003(5): 23 - 24.
- [31] 汤丽玲, 陈清. 采用试纸条 - 反射仪方法快速测定蔬菜硝酸盐含量[J]. 北方园艺, 2003(5): 9 - 10.
- [32] Bischoff M, Hiar A, Turco R. Evaluation of nitrate analysis using test strips: comparison with two analytical laboratory methods[J]. Commun. Soil Sci Plant Anal, 1996, 27: 2765 - 2774.
- [33] Ximenes M IN, Rath S, Reyes F G R. Polarographic determination of nitrate in vegetables[J]. Talanta, 2000, 51(1): 49 - 56.
- [34] Yordanov N D, Novakova E, Lubenova S. Consecutive estimation of nitrate and nitrite ions in vegetables and fruits by electron paramagnetic resonance spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 47(2): 131 - 138.
- [35] 门瑞芝, 刘士斌, 马晓梅. 光化学动力学法测定硝酸盐和亚硝酸盐[J]. 分析化学, 1992(4): 455 - 457.
- [36] 刘玲, 王文琪. 蔬菜中硝酸盐残留测定方法[J]. 北京农业科学, 2001, 19(2): 35 - 37.
- [37] Ito H, Horie H, Nagai Y, et al. The determination of nitrate in spinach and Japanese radishes by RQflex, portable ion electrode (pIE), high performance liquid chromatography (HPLC) and high performance capillary electrophoresis (CE) [J]. Acta Hort, 2003, 604: 545 - 548.

(上接第 189页)

- [8] Sunomsuk W, Sunomsuk L. Feather degradation by *Bacillus* sp. FK 46 in submerged cultivation[J]. Bioresource Technology, 2003, 86: 239 - 243.
- [9] Rain G, Priya R. Microbial keratinase and their prospective application: an overview[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2006, 70: 21 - 33.
- [10] Friedrich A B, Antranikian G. Keratin degradation by *Ferribacterium pennavorans*, a novel thermophilic anaerobic species of the order thermotogales[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62: 2875 - 2882.
- [11] Mohamedin A H. Isolation, identification and some cultural conditions of a protease - producing thermophilic *Streptomyces* strain grown on chicken feather as a substrate[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 1999, 43: 13 - 21.
- [12] Thys R C S, Lucas F S, Riffle A, et al. Characterization of a protease of a feather - degrading *Microbacterium* species[J]. Letters in Applied Microbiology, 2004, 39: 181 - 186.