

离子色谱-紫外检测器测定食品中亚硝酸盐和硝酸盐

甘露¹,许琳科²,王佳¹

(1. 江西省分析测试研究所,江西 南昌 330029;
2. 郑州大学 综合设计研究院有限公司,河南 郑州 450001)

摘要:建立了离子色谱-紫外检测器测定食品中亚硝酸盐和硝酸盐的分析方法。样品经超声提取后,以3.6 mmol/L Na₂CO₃ 溶液为流动相,经 Metrosep A supp7-250 阴离子交换分析柱,于210 nm 处进行紫外检测。结果表明该方法在0.025~0.20 mg/L(亚硝酸盐)、0.10~2.0 mg/L(硝酸盐)范围内具有良好的线性关系,相关系数 r 均在0.999以上。亚硝酸盐和硝酸盐的检出限分别为0.0045 mg/L和0.0172 mg/L,检测下限分别为0.018 mg/L和0.068 mg/L,实际样品加标回收率分别为81.3%~87.3%和98.3%~103.1%,相对标准偏差小于5%。实验表明,该方法简便、灵敏,可用于测定食品中的亚硝酸盐和硝酸盐。

关键词:离子色谱法;紫外检测器;亚硝酸盐;硝酸盐

中图分类号:0657.75

文献标志码:A

文章编号:1671-5322(2021)02-0074-05

亚硝酸盐(NO₂⁻)和硝酸盐(NO₃⁻)含量是环境检测和食品卫生要求控制的重要项目,它们不仅作为污染物广泛存在于自然界中,还常被用作食品添加剂中的发色剂和防腐剂而存留于食品中。例如:在肉制品的防腐和保存上,亚硝酸盐和硝酸盐可与肉质中的蛋白质结合,使食品的色香味在较长时间内保持不变,同时,还能通过抑制梭状芽孢杆菌的繁殖起到防腐作用。硝酸盐在人体内可被还原为亚硝酸盐,亚硝酸盐与人体血液作用,形成高铁血红蛋白,使血液失去携氧能力,不仅如此,亚硝酸盐还能与仲胺类物质生成具有强烈致癌作用的亚硝胺类^[1]。2012年5月28日,中华人民共和国卫生部和国家食品药品监督管理局联合发布公告,禁止餐饮服务单位采购、贮存、使用食品添加剂亚硝酸盐。在《食品添加剂使用卫生标准》中规定^[2],硝酸钠或硝酸钾的最大使用量为150 mg/kg,仅允许腌熏肉等制品有微量亚硝酸盐残留,限量为30 mg/kg(以亚硝酸钠计)。对非有意添加、自然生成的亚硝酸盐,《食品安全国家标准 食品中污染物限量》中也有相应规定^[3],其中酱腌菜的限量为20 mg/kg(以亚硝

酸钠计)。因此,建立一种灵敏高效、简便快捷的亚硝酸盐和硝酸盐测定方法则显得尤为重要。

目前,亚硝酸盐和硝酸盐的测定方法有分光光度法^[4]、毛细管电泳法^[5]、高效液相色谱法^[6]及离子色谱法^[7-8]等。分光光度法中显色反应稳定性较差,所用试剂有毒性较大的致癌物质;毛细管电泳法不易控制反应时间与温度,外界干扰因素较多,适用范围有限;高效液相色谱法快速、准确、灵敏度高,且测定不受提取液本底颜色的影响,但其价格高、日常维护费用贵、分析成本高,难以普遍推广;离子色谱法的优点是快捷、简便、费用较低,且不受提取液本底颜色的影响。本研究选择采用离子色谱法,但是由于实际样品的多样性,以及处理后样品基质复杂性会影响亚硝酸离子的表征,以腌制类样品为例,前处理后的样品采用离子色谱-电导检测法(IC-CD法)得到的分析图谱常常出现亚硝酸离子的峰被氯离子的峰影响或覆盖的现象,因此本文利用离子色谱-紫外检测法(IC-UV法)在基质较复杂情况下对杂峰响应低或无响应,可降低氯离子对亚硝酸离子的干扰的特点^[9],将该方法用于测定食品中亚硝酸

收稿日期:2021-01-09

作者简介:甘露(1987—),女,江西南昌人,工程师,硕士,主要研究方向为水污染治理。

盐和硝酸盐的含量。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

(1)离子色谱仪(瑞士万通, Metrohm):配有838自动进样器、844紫外-可见光检测器、861电导检测器、低碳脉冲双活塞泵等。

(2)预处理设备:超声波清洗器(SK3200H,上海科导超声仪器有限公司);低速离心机(SC-3612,科大创新股份有限公司中佳分公司);微孔滤膜(孔径0.2 μm,德国MEMBRANA公司原产膜);净化柱(Cleanert IC-Ag/Na, Cleanert IC-RP,天津博纳艾杰尔科技有限公司)。

(3)试剂:NO₂⁻标准溶液(GSB07-1272-2000,环境保护部标准样品研究所);NO₃⁻标准溶液(GSB04-1772-2004,国家有色金属及电子材料分析测试中心);超纯水(用于稀释标准溶液,电阻大于18.26 MΩ,桃源TYUV05型超纯水机制备);Na₂CO₃(优级纯);硫酸、甲醇(分析纯)。

1.2 样品预处理

称取1g(精确到0.0001g)已捣碎的样品置于250 mL具塞锥形瓶中,加入100 mL超纯水,超声提取30 min,每隔5 min振摇一次;75℃水浴加热5 min,取出自然冷却至室温;取部分溶液于50 mL离心管内,放入离心机中以3 600 r/min离心20 min;用5 mL甲醇和10 mL超纯水先后将IC-RP柱活化,再用10 mL超纯水将IC-Ag/Na柱活化,静置30 min;用5 mL注射器取上清液,依次通过孔径0.2 μm的水性滤膜、IC-RP柱和IC-Ag/Na柱,用以去除样品中的有机质和Cl⁻,弃去

前面3 mL,收集后面洗脱液待测。

1.3 色谱条件

色谱柱: Metrosep A supp7-250 阴离子交换分析柱(250 mm×4.0 mm, 粒径大小5.0 μm)。保护柱: Metrosep A Supp 4/5 Guard 阴离子保护柱。淋洗液: 3.6 mmol/L Na₂CO₃; 流量0.8 mL/min, 进样量100 μL, 柱温45℃, 检测波长210 nm。

1.4 标准溶液的配制

用微量取样器移取100 mg/L的NO₂⁻标准溶液和1 000 mg/L的NO₃⁻标准溶液,逐级稀释,根据表1配制NO₂⁻和NO₃⁻的混合标准溶液。

表1 混合标准溶液的浓度
Table 1 The concentration of mixture standard solution μg/L

组分	1	2	3	4	5	6
NO ₂ ⁻	25	50	75	100	150	200
NO ₃ ⁻	100	300	500	1 000	1 500	2 000

2 结果与讨论

2.1 标准曲线及方法的重现性和检出限

按表1绘制标准曲线,按第一节“实验部分”的仪器操作条件进行测试,以标准溶液的峰面积和浓度绘制IC-CD法和IC-UV法标准曲线;再以200 μg/L的NO₂⁻标准溶液、2 000 μg/L的NO₃⁻标准溶液连续进样9次,计算检出限,相对标准偏差(RSD)控制在5%以内,具体结果如表2所示,电导检测器和紫外检测器下的标准溶液图谱分别如图1、图2所示。

表2 标准曲线与检出限
Table 2 Standard linear and detection limit

检测方法	组分	线性回归方程	相关系数 <i>r</i>	检出限/ (mg·L ⁻¹), S/N=3	检测下限/ (mg·L ⁻¹)	相对标准 偏差/%
IC-UV	NO ₂ ⁻	$Q = 687.391 * A + 488.179$	0.999 524	0.004 5	0.018	2.248
	NO ₃ ⁻	$Q = 2 741.59 * A + 3 410.94$	0.999 175	0.017 2	0.068	3.736
IC-CD	NO ₂ ⁻	$Q = 22.569 * A + 3.397 1$	0.999 949	0.005 8	0.023	3.746
	NO ₃ ⁻	$Q = 27.823 * A + 9.287 5$	0.999 949	0.003 4	0.014	1.026

注:A为峰面积;Q为质量浓度,μg/L。

2.2 IC-CD和IC-UV检测方法对比

以烤鸭为检测样品,按照要求进行前处理,用离子色谱-电导检测器和离子色谱-紫外检测器分别对该样品进行检测,根据标准图谱和样品的分析图谱对样品中的NO₂⁻和NO₃⁻进行定性分

析,检测结果和分析图谱如图3、图4所示。对比图1和图2,从IC-CD法和IC-UV法标准溶液图谱中可以发现NO₂⁻出峰时间都是在12.842 6 min;再对照图3和图4,根据IC-CD法和IC-UV法的分析色图谱可以发现IC-CD法中氯离

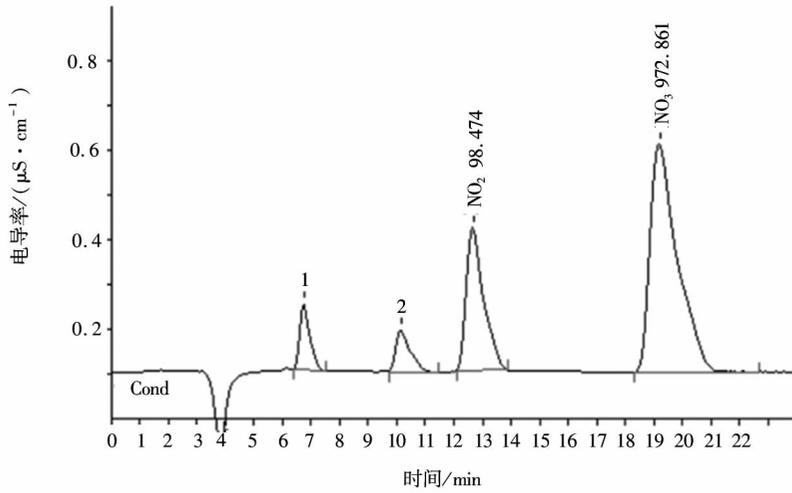


图 1 电导检测器下的标准溶液图谱

Fig 1 Chromatogram of standard solution with conductivity detector

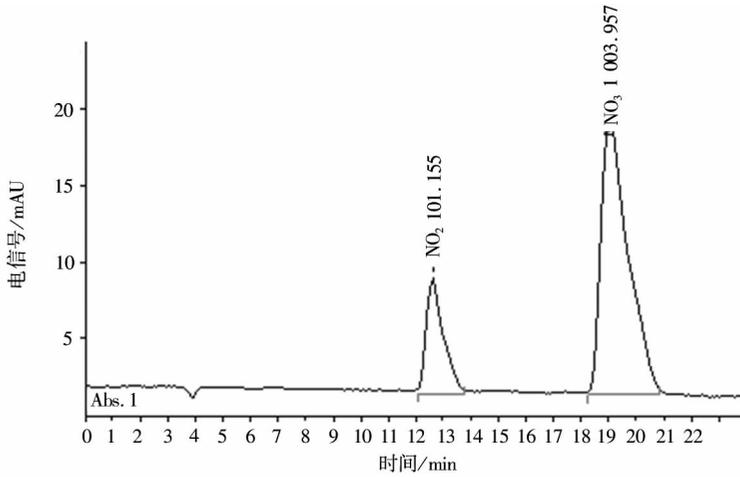


图 2 紫外检测器下的标准溶液图谱

Fig 2 Chromatogram of standard solution with UV detector

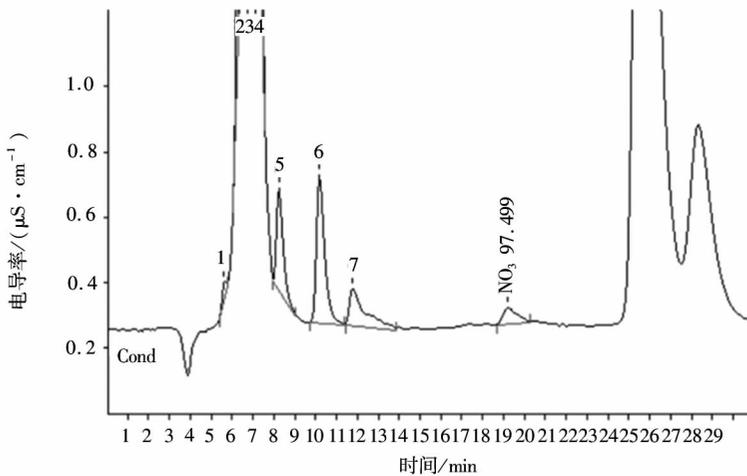


图 3 IC - CD 法下烤鸭的分析色谱图

Fig 3 Analytical chromatogram of roast duck by IC - CD method

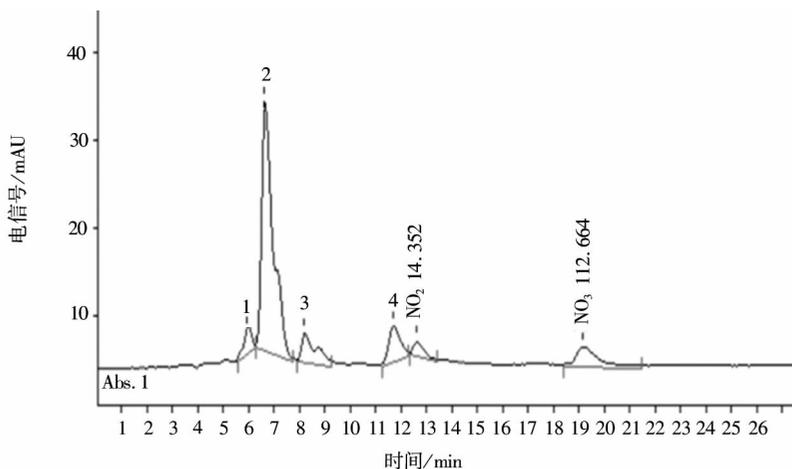


图4 IC-UV法下烤鸭的分析色谱图

Fig 4 Analytical chromatogram of roast duck by IC-UV method

子会影响到 NO_2^- 出峰,且在基质复杂情况下,IC-UV法的杂峰出峰较少,可降低氯离子对 NO_2^- 的干扰。

2.3 加标回收率

为保证准确度,向样品烤鸭中加入 NO_2^- 和 NO_3^- 的标准溶液,进行加标回收实验,其检测和加标回收结果如表3所示,烤鸭的加标图谱如图5所示。通过对比IC-UV法烤鸭的分析图谱图4和加标图谱图5,两者在同一时间点加标样品中色谱峰的突增情况进一步验证了 NO_2^- 和 NO_3^- 色谱峰的归属问题。表3中 NO_2^- 和 NO_3^- 的加标回收结果,说明分析方法适合测定食品中的 NO_2^- 和 NO_3^- ,能够确保分析数据准确、可靠。

表3 烤鸭的检测和加标回收结果

Table 3 Detection and recovery results of roast duck

组分	测定值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	加标值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	加标后测得值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收 率/%
NO_2^-	14.35	100	95.62	81.3
NO_3^-	112.66	1 000	1 102.20	99.0

同时,还采用离子色谱-紫外检测对猪耳朵、小河鱼、烤鸭、酱萝卜、鱼酸菜、米粉等多种不同食品中 NO_2^- 和 NO_3^- 的含量进行测定,对于超出测定范围的样品稀释后再测,检测结果如表4所示。

3 结论

本研究建立了用离子色谱-紫外检测测定食

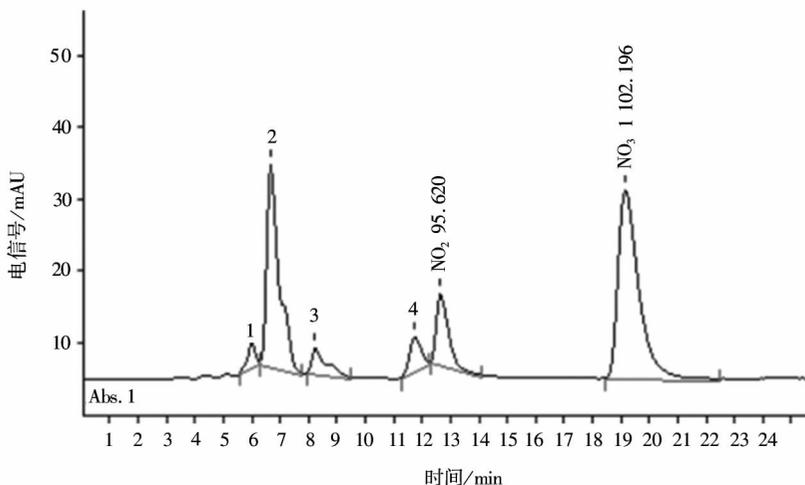


图5 IC-UV法下烤鸭的加标色谱图

Fig 5 Spiked chromatogram of roast duck by IC-UV method

表 4 样品测试结果
Table 4 Sample test results $\mu\text{g}/\text{L}$

样品	NO_2^-		NO_3^-	
	测定值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	加标回收 率/%	测定值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	加标回收 率/%
猪耳朵	0.00	87.3	100.50	98.3
小河鱼	0.00	85.3	167.73	103.1
烤鸭	14.35	81.3	112.66	99.0
酱萝卜	7.54	82.6	8 266.35	99.2
鱼酸菜	25.66	84.4	6 457.67	99.9
米粉	7.62	86.2	182.43	101.2

品中 NO_2^- 和 NO_3^- 的分析方法。实验表明,在基质复杂情况下,IC-UV 法的杂峰出峰较少,能够降低氯离子对 NO_2^- 测量的干扰,同时该方法操作简便,相对标准偏差小于 5%,回收率在 80% ~ 110% 之内,且有着较好的重现性和检出限,对于肉制品、水产品、蔬菜、谷物等食品中 NO_2^- 和 NO_3^- 的批量测定具有良好的应用前景,

参考文献:

- [1] 杨海莹,郭风军,范维江,等. 饮食中亚硝酸盐的来源及其对人体的影响[J]. 食品研究与开发,2016,37(3):209-213.
- [2] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用卫生标准: GB 2760—2014[S]. 北京:中国标准出版社,2015.
- [3] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中污染物限量: GB 2762—2017 [S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [4] 王焱,林宣颖,陈彦羽,等. 固相萃取-分光光度法测定食品和水中亚硝酸盐[J]. 现代预防医学,2018,45(20):3782-3784,3802.
- [5] 李秀明,马俪珍. HPLC 法同时检测果蔬及肉制品中硝酸盐和亚硝酸盐含量[J]. 食品科学,2018,39(12):301-307.
- [6] 张会亮,苗贝贝,黄传峰,等. 液相色谱-串联质谱法测定火腿肠和咸菜中亚硝酸盐含量[J]. 食品安全质量检测学报,2018,9(20):5313-5318.
- [7] 周柳金,郑巨瑞,李凤标,等. 酶水解-离子色谱法同时测定婴幼儿谷物辅助食品中亚硝酸盐和硝酸盐含量[J]. 中国卫生检验杂志,2020,30(16):1942-1944.
- [8] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定: GB 5009.33—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2017.
- [9] 梁晨,郑秀瑾,金晓晓,等. 离子色谱两种检测器测定乳制品中亚硝酸盐和硝酸盐方法比较[J]. 中国乳业,2020(10):53-57.

Determination of Nitrite and Nitrate in Food by Ion Chromatography with Ultraviolet Detector

GAN Lu¹, XU Linke², WANG Jia¹

(1. Jiangxi Institute of Analysis and Testing, Nanchang Jiangxi 330029, China;

2. Integrated Design and Research Institute Co., Ltd., Zhengzhou University, Zhengzhou Henan 450001, China)

Abstract: An analytical method for the determination of nitrite and nitrate in food by ion chromatography-ultraviolet detector was established. After ultrasonic extraction, the sample was detected at 210 nm on a Metrosep A sup7-250 anion exchange column with 3.6mmol/L Na_2CO_3 solution as mobile phase. The results showed that the method had a good linear relationship in the range of 0.025 ~ 0.20 mg/L (nitrite) and 0.10 ~ 2.0 mg/L (nitrate), and the correlation coefficients were all above 0.999. The detection limits of nitrite and nitrate were 0.004 5 mg/L and 0.017 2 mg/L respectively, and the lower detection limits were 0.018 mg/L and 0.068 mg/L respectively. The recovery rates of actual sample were 81.42% ~ 87.3% and 98.3% ~ 102.9% respectively. The relative standard deviation was less than 5%. The results show that the method is simple, sensitive and can be used for the determination of nitrite and nitrate in food.

Keywords: ion chromatography; ultraviolet detection; nitrite; nitrate

(责任编辑:熊璐璐)