

离子色谱仪检测食品中 NO_2^- 、 NO_3^- 离子的应用解决方案

一 仪器介绍

TIC-600 型离子色谱仪，是天瑞仪器针对目前国内亟须解决的饮用水和食品安全问题而研发的全塑化通用型、双抑制模式离子色谱仪，广泛应用于食品安全、环境监测、生物制药等领域的常、微、痕量离子分析。



图 1 天瑞 TIC-600 型离子色谱仪

二 离子色谱在食品行业中的应用

人体摄入的 81.2% 的硝酸盐是来自蔬菜。蔬菜中的硝酸盐多是来自氮肥，因而，蔬菜中的硝酸盐是不可避免存在的，在植物体内会有一些硝基还原酶，会把蔬菜中的部分硝酸盐还原成亚硝酸盐，所以，蔬菜中一般都会有硝酸盐和亚硝酸盐，但是蔬菜种类、种植方式、氮肥水平等多种因素会影响蔬菜内部硝酸盐的含量，亚硝酸盐的含量也是不同的。除了蔬菜本身存在硝酸盐和亚硝酸盐，还有在食品加工过程中使用的硝酸盐、亚硝酸盐，硝酸盐、亚硝酸盐在食品加工中是常用的食品添加剂。

硝酸盐本身对人体是是没有危害的，但人体摄入硝酸盐后，在硝酸还原酶作用下可部分转变成亚硝酸盐，亚硝酸盐的 ADI 值（人体每日允许摄入量）为 0-0.06mg/kg，具中等毒性，人中毒量为 0.3-0.5g，致死量为 3g。人体摄入过多的亚硝酸盐后，亚硝酸盐进入血液，可与血红蛋白结合形成高铁血红蛋白而失去携氧功能，严重时可窒息而死，不仅如此，亚硝酸盐在体内还有可能转化为亚硝胺，亚硝酸盐可与动物及高蛋白食品中广泛存在的胺类物质进行反应，生成具有致癌性的亚硝胺。所以，亚硝酸盐作为亚硝胺的合成前体物质威胁着我们的健康，这也是我们会把亚硝酸盐视为洪水猛兽的最主要原因。故在食品行业标准中，硝酸盐、亚硝酸盐都是需要管控的有害物质。

食品行业中对硝酸盐、亚硝酸盐的测定，是通过测定 NO_2^- 、 NO_3^- 含量的测定进行定性和定量，目前离子色谱法作为 NO_2^- 、 NO_3^- 含量测定首选方法已经列为国家标准^①。

三 应用实例

离子色谱法检测食品中 NO_2^- 、 NO_3^- 离子

1 参考标准 GB 5009.33-2010（食品中 NO_2^- 、 NO_3^- 的测定），

2 适用范围 适用于食品中硝酸盐、亚硝酸盐盐的测定

3 实验部分

3.1 试剂及仪器

淋洗液：碳酸氢钠 $[\text{C}(\text{NaHCO}_3)=1.0\text{mmol/l}]$ -碳酸钠 $[\text{C}(\text{Na}_2\text{CO}_3)=2.0\text{mmol/l}]$ ：
称取0.084g碳酸氢钠和0.212g碳酸钠（国药试剂集团），溶于超纯水并稀释到1L。

硝酸盐标液（1000 $\mu\text{g/ml}$ ）

亚硝酸盐标液（1000 $\mu\text{g/ml}$ ）

3%乙酸溶液（取3ml乙酸至100ml玻璃容量瓶并以超纯水定容）

离子色谱仪（TIC-600，江苏天瑞仪器股份有限公司）

BS 224S 电子天平（赛多利斯科学仪器（北京）有限公司，0.1mg）；

SHZ-D 型循环水式真空泵（巩义市予华仪器有限公司）；

Advantage A10 超纯水机（Millipore）

移液枪（德国普兰德，10-100 μL 、100-1000 μL ）；

0.22 μm 微孔滤膜（Welch）

真空抽滤装置

试验所用水均为超纯水（电阻率达18.25 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ ），所用器皿均用超纯水清洗并浸泡过夜。

3.2 实验过程

1 样品处理

预处理：分别选取奶粉、胡萝卜作为样品进行 NO_2^- 、 NO_3^- 含量的测定；

将奶粉样品称取2.5g（精确至0.1mg），置于100ml容量瓶，加水80ml摇匀后超声提取30min，然后加2ml3%乙酸溶液，于4 $^{\circ}\text{C}$ 放置20min，取出至室温，加水稀释至刻度。溶液经滤纸过滤，取上清液备用。

将胡萝卜样品用去离子水洗净晾干后，放入食品粉碎机粉碎成匀浆备用；取胡萝卜匀浆样品5g（精确至0.1mg），以80ml去离子水洗入100ml容量瓶，超声提取30min，中间需数次摇匀；然后于75 $^{\circ}\text{C}$ 水浴放置5min，取出放置室温，加水稀释至刻度。溶液经滤纸过滤后，取部分溶液于10000转/min离心15min，取上清液备用。

将预处理后样品奶粉、胡萝卜上清液分别依次过0.22 μm 微孔滤膜，C18柱（博纳爱杰尔），Ag柱（博纳爱杰尔），Na柱（博纳爱杰尔）（需弃去前面约5ml样品溶液）。

样品经前处理后注入离子色谱仪进样系统，记录峰高或峰面积。

2.标液配制

分别移取一定量的亚硝酸盐标液（1000 $\mu\text{g/ml}$ ）、硝酸盐标液（1000 $\mu\text{g/ml}$ ）至100ml玻璃容量瓶，配置成浓度如下表1所示系列混合标液。

表1 NO_2^- 、 NO_3^- 离子混合标液浓度

阴离子	标液浓度（ $\mu\text{g/l}$ ）
-----	-------------------------

	Std1	Std2	Std3	Std4
NO ₂ ⁻	0.02	0.05	0.1	0.2
NO ₃ ⁻	0.2	0.5	1.0	2.0

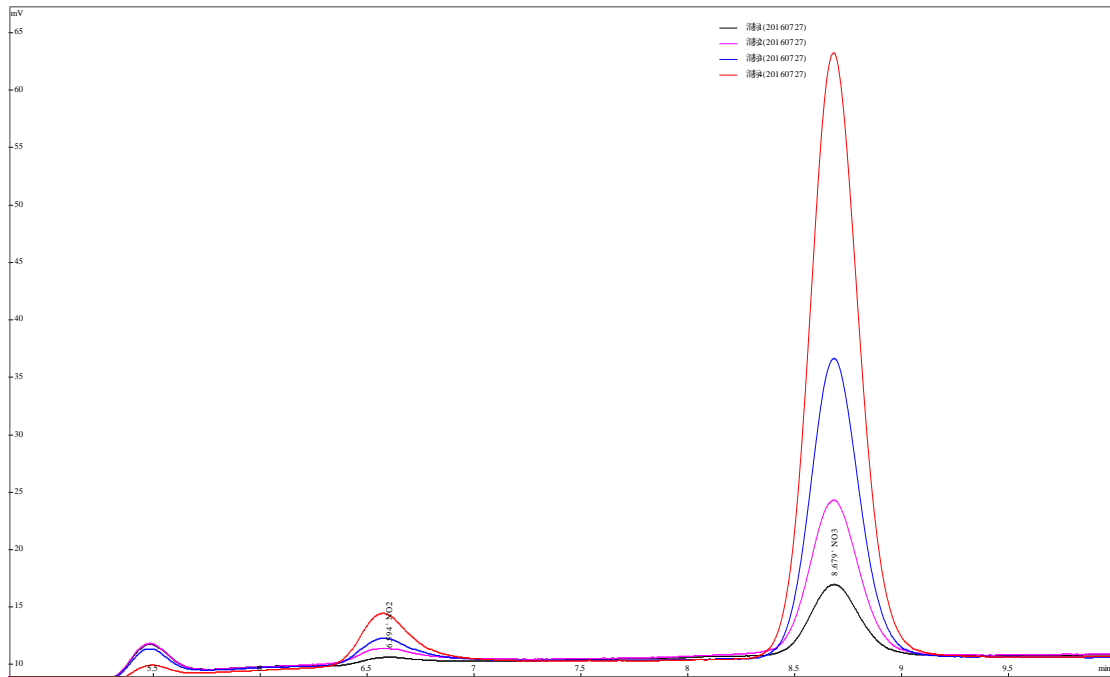


图 2 NO₂⁻、NO₃⁻离子混合标液色谱图

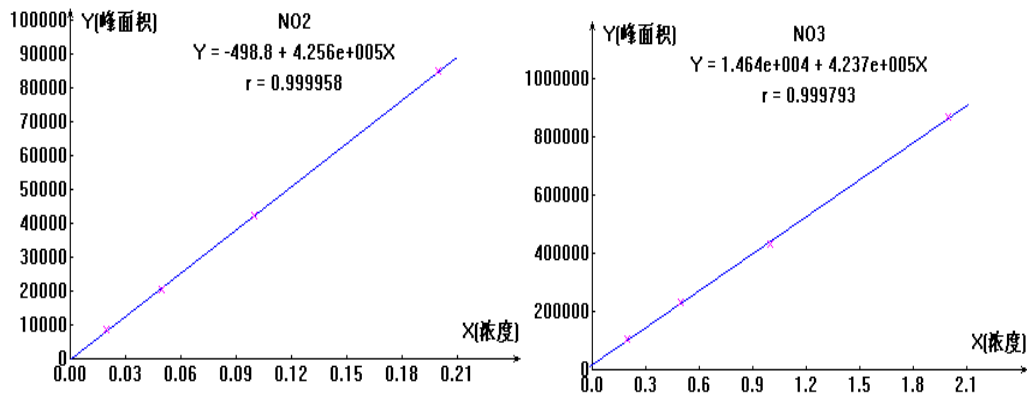


图 3 NO₂⁻、NO₃⁻离子标准曲线图

4 实验数据

4.1 最小检测浓度

在仪器最佳工作参数条件下，经预热稳定后，记录仪器 30min 基线，记录其基线噪声；另记录 NO₂⁻、NO₃⁻离子 0.5ppm 混合标样各色谱峰峰高，并以以下公式

式 $c_{\min} = \frac{2H_n C \times V}{25H}$ 计算最小检测浓度，详细数据见表 2。

式中：C_{min}—最小检测浓度，μg/ml；H_n—基线噪声峰值，μs；

C—标准溶液浓度，μg/ml；H—标准溶液色谱峰高，μs；

V—进样体积, μl 。

表 2 NO_2^- 、 NO_3^- 离子最小检测浓度

阴离子	0.5ppm标样色谱 峰峰高/ μs	30min 基线噪声 / μs	进样体积/ μl	最低检测浓度 / $\mu\text{g/ml}$
NO_2^-	12141	11	100	0.00091
NO_3^-	13525	11	100	0.00081

4.2 样品加标回收率实验数据

将奶粉样品、胡萝卜样品分别加标不同浓度的 NO_2^- 、 NO_3^- 离子, 然后将每份样品的样品溶液进样测定, 根据测试结果计算加标回收率, 详细数据见表 3、表 4。

表 3 奶粉样品加标回收率数据

阴离子	奶粉	测试结果/ $\mu\text{g/ml}$					
		加标 0.02 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%	加标 0.05 μ g/ml	回收率 /%	加标 0.1 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%
NO_2^-	0.1378	0.1563	92.5	0.1845	93.4	0.2393	101.5
	奶粉	加标 0.2 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%	加标 0.5 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%	加标 1.0 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%
NO_3^-	2.165	2.370	102.5	2.670	101.0	3.158	99.3

表 4 胡萝卜样品加标回收率数据

阴离子	胡萝卜	测试结果/ $\mu\text{g/ml}$					
		加标 0.02 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%	加标 0.05 μ g/ml	回收率 /%	加标 0.1 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%
NO_2^-	0.0306	0.0521	108.5	0.0821	103.0	0.1292	98.6
	胡萝卜	加标 0.2 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%	加标 0.5 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%	加标 1.0 $\mu\text{g/ml}$	回收率 /%
NO_3^-	1.37	1.56	95.0	1.88	102.0	2.34	97.0

4.3 稳定性测试数据

为验证离子色谱仪测试食品中 NO_2^- 、 NO_3^- 离子的稳定性, 对奶粉样品平行测定 6 次, 计算 NO_2^- 、 NO_3^- 离子定性定量结果的相对标准偏差, 详细数据见表 5。

表 5 奶粉样品稳定性测试数据

测试次数	测试结果			
	NO_2^-		NO_3^-	
	定性/min	定量/ $\mu\text{g/ml}$	定性/min	定量/ $\mu\text{g/ml}$

1	8.434	0.1355	10.997	1.148
2	8.428	0.1359	11.026	1.205
3	8.464	0.1393	11.083	1.180
4	8.467	0.1360	11.091	1.204
5	8.463	0.1347	11.099	1.225
6	8.463	0.1392	11.093	1.201
ave.	8.453	0.1378	11.042	1.194
SD	0.023	0.00286	0.608	0.0268
RSD/%	0.27	2.08	0.55	2.25

5 结论

实验得出，以天瑞仪器离子色谱 TIC-600 测定食品中 NO_2^- 、 NO_3^- 离子的方法检出限分别为 $1.94\mu\text{g/L}$ 、 $1.49\mu\text{g/L}$ 、 $1.79\mu\text{g/L}$ ；方法定性重现性为 0.06% – 0.26% 之间，定量重复性为 1.11% – 3.02% 之间；样品加标回收率为 91.4% – 106.8% 。

由数据可知，离子色谱法测试食品中 NO_2^- 、 NO_3^- 离子准确度高，最小检出浓度低，而且方法简单快捷，完全满足食品行业对于 NO_2^- 、 NO_3^- 离子检测的需求。