

离子色谱法检测酱油中亚硝酸根、硝酸根离子的含量

LC-077

摘要：本文使用岛津 HIC-SP 抑制型离子色谱仪建立了离子色谱法测定酱油中亚硝酸根、硝酸根离子含量的方法。本方法采用碳酸钠淋洗系统和阴离子交换色谱柱，流动相为 3.6 mmol/L 碳酸钠缓冲液，以电导检测器进行检测。亚硝酸根在 0.01-0.2 mg/L 的浓度范围内校准曲线的线性相关系数 $r=0.9999$ 。硝酸根在 0.1~2.0 mg/L 的浓度范围内校准曲线的线性相关系数 $r=0.9999$ 。对亚硝酸根浓度为 0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L 的六个平行标准品进行分析，重复性结果（RSD% 表示）：亚硝酸根在三个不同浓度下的保留时间 RSD 范围为 0.029%~0.102%，峰面积 RSD 范围为 2.12%~2.51%，结果的重复性良好。对硝酸根浓度为 0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L 的六个平行标准品进行分析，重复性结果（RSD% 表示）：硝酸根在三个不同浓度下的保留时间 RSD 范围为 0.035%~0.079%，峰面积 RSD 范围为 1.20%~1.85%，结果的重复性良好。亚硝酸根的检出限为 0.003 mg/L，定量限为 0.012 mg/L；硝酸根的检出限为 0.018 mg/L，定量限为 0.072 mg/L，具有可靠的检测灵敏度，满足国标检测要求。

关键词：离子色谱 酱油 亚硝酸根 硝酸根 电导检测器

亚硝酸盐，外观及滋味都与食盐相似，并在工业、建筑业中广为使用，肉类制品中也允许作为发色剂限量使用。亚硝酸盐中毒是指由于食用硝酸盐或亚硝酸盐含量较高的腌制肉制品、泡菜及变质的蔬菜可引起中毒，或者误将工业用亚硝酸钠作为食盐食用而引起。由亚硝酸盐引起食物中毒的机率较高，食入 0.3 ~ 0.5 g 的亚硝酸盐即可引起中毒甚至死亡。

生活中，含有大量硝酸盐与亚硝酸盐的饮水、蔬菜、粮食、鱼、肉制品、渍酸菜、隔夜炒菜等经人食用后，大量亚硝酸盐可使人直接中毒，而且硝酸盐在人体内也可被还原为亚硝酸盐。

《GB 5009.33-2010 食品安全国家标准食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》中规定了离子色谱法亚硝酸根和硝酸根的检出限分别为 0.02 mg/L 和 0.2 mg/L。

本文建立了一种采用岛津 HIC-SP 抑制型离子色谱系统，快速检测酱油中亚硝酸根和硝酸根含量的离子色谱法。

实验部分

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂

水：超纯水。

碳酸钠：分析纯

亚硝酸根储备液：100 mg/L 亚硝酸根标准品储备液。

硝酸根储备液：1000 mg/L 硝酸根标准品储备液。

1.1.2 仪器

HIC-SP，包括 CBM-20A 系统控制器，LC-20AD 高精度溶液输送泵，DGU-20A₃ 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CDD-10A_{vp} 电导检测器，WLK-6A 阴离子电化学自再生抑制器。

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-Pack IC-A3 4.6 mmx150 mm

流动相：3.5 mmol/L Na₂CO₃ 缓冲液

梯度方式：等度洗脱

流速：0.8 mL/min

柱温：45

检测器：电导检测器

检测器温度：48；响应：1.0 sec；极性：+；增益：1

检测时间：20 min

抑制器：WLK-6A 阴离子电化学自再生抑制器

抑制电流：90 mA

进样体积：100 μ L

1.3 样品处理

1.3.1 亚硝酸根、硝酸根标准溶液的配制

取不同体积的亚硝酸根、硝酸根标准品储备液，用超纯水稀释，配制成系列标准溶液，含亚硝酸根浓度为 0.01、0.02、0.05、0.1 及 0.2 mg/L，硝酸根浓度为 0.1、0.2、0.5、1.0 及 2.0 mg/L，储存在棕色小瓶中，于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中存放。

1.3.2 试样的制备

取酱油试样 10 g（精确至 0.01 g），置于 100 mL 容量瓶中，加水 80 mL，摇匀，超声 30 min，加入 3% 乙酸溶液 2 mL，于 4 $^{\circ}$ C 放置 20 min，取出放置至室温，加水稀释至刻度。溶液经滤纸过滤，取上清液备用。

取上述备用的上清液约 15 mL，通过 0.22 μ m 水性滤膜针头过滤器、C18 柱，弃去前 3 mL，收集后面洗脱液，待测。

结果与讨论

2.1 亚硝酸根、硝酸根标准谱图及标准曲线

亚硝酸根标准溶液 1.0 mg/L 色谱图如图 1 所示；硝酸根标准溶液 10.0 mg/L 色谱图如图 2 所示；亚硝酸根 / 硝酸

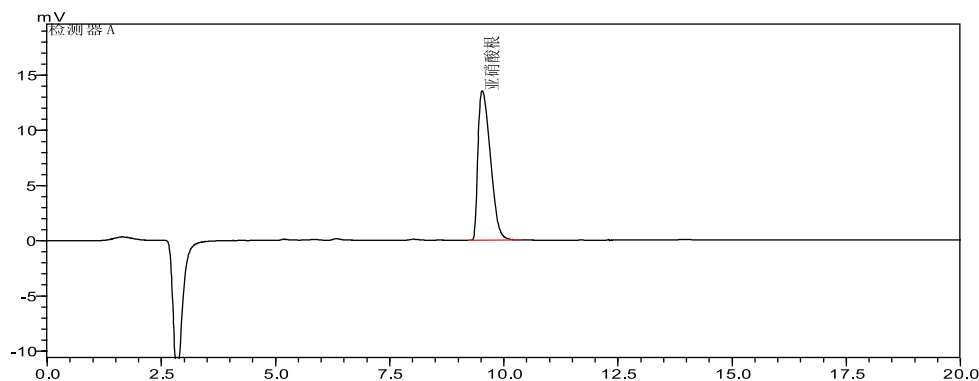


图1 亚硝酸根标准溶液1.0 mg/L色谱图

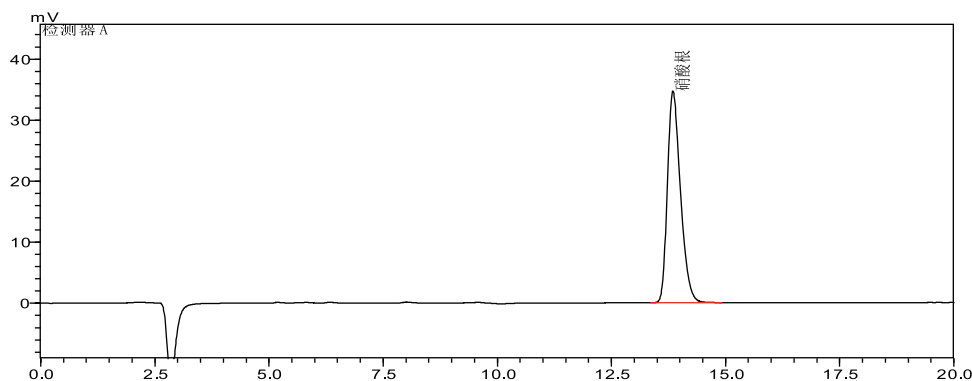


图2 硝酸根标准溶液10.0 mg/L色谱图

根混合标准品溶液 0.1/1.0 mg/L 色谱图如图 3 所示；由图 4 可以看出在 0.01-0.2 mg/L 的浓度范围内，亚硝酸根校准曲线线性相关性良好，线性相关系数为 $r=0.9999$ 。由图 5 可以看出在 0.1-2.0 mg/L 的浓度范围内，硝酸根校准曲线线性相关性良好，线性相关系数为 $r=0.9999$ 。

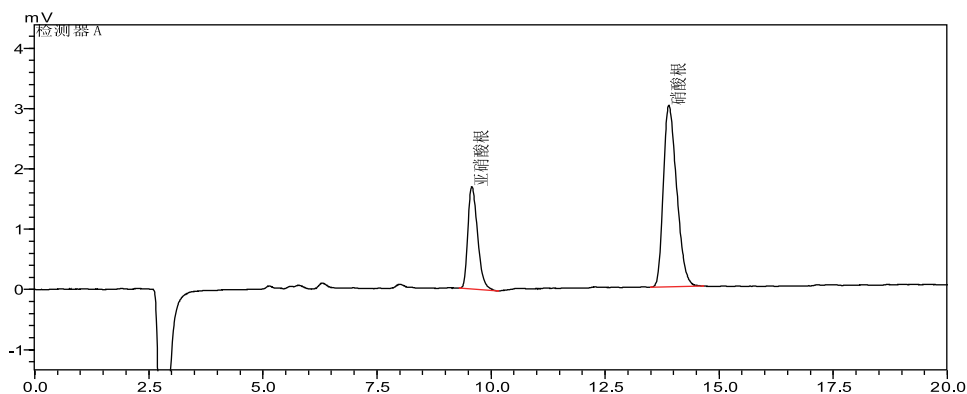


图3 亚硝酸根、硝酸根混合标准溶液0.1/1.0 mg/L 色谱图

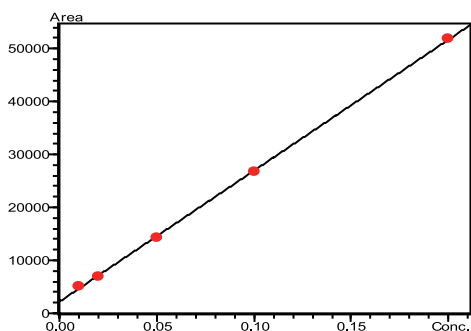


图4 亚硝酸根0.01~0.2 mg/L校准曲线
 $Y=62863.2X+973.6$ $r=0.9999$

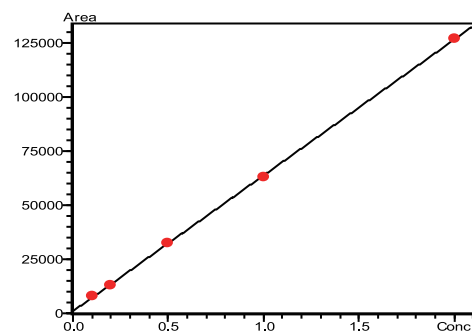


图5 硝酸根0.1~2.0 mg/L校准曲线
 $Y=247544X+2192.22$ $r=0.9999$

表1 亚硝酸根在不同浓度下的保留时间和峰面积的重复性

NO.	0.01 mg/L		0.02 mg/L		0.05 mg/L	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	9.009	4603	9.093	7191	9.077	15090
2	9.009	4491	9.097	7088	9.077	14747
3	9.012	4543	9.091	6769	9.075	14204
4	9.015	4567	9.081	7025	9.054	14309
5	9.009	4674	9.093	7191	9.077	14747
6	9.012	4393	9.091	7180	9.075	14204
RSD (%)	0.029	2.12	0.058	2.32	0.102	2.51

表2 硝酸根在不同浓度下的保留时间和峰面积的重复性

NO.	0.1 mg/L		0.2 mg/L		0.5 mg/L	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	12.791	6442	12.849	13458	12.839	33102
2	12.792	6646	12.856	13198	12.845	32356
3	12.798	6527	12.854	13068	12.842	33376
4	12.787	6574	12.828	12981	12.816	32721
5	12.798	6527	12.849	13458	12.829	33367
6	12.792	6646	12.854	13068	12.840	31860
RSD (%)	0.035	1.20	0.079	1.57	0.074	1.85

2.2 重复性考察

本文分别对亚硝酸根 / 硝酸根混合标准品浓度为 0.01/0.1 mg/L、0.02/0.2 mg/L、0.05/0.5 mg/L 标准样品进行 6 次重复性实验，重复性结果 (RSD% 表示) 汇总如表 1、表 2 所示。

2.3 检出限和定量限

空白样品中加入亚硝酸盐 / 硝酸盐混合标液，最终浓度为 0.01/0.1 mg/L，平行 7 份，直接进样分析。根据 HJ 168-2010 规定对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 MDL = 3.14 × S，定量限 LOQ=4 × MDL。测定结果如表 3 所示：

表3 亚硝酸根/硝酸根的检出限和定量限

名称	标准偏差 (S)	检出限(mg/L)	定量限(mg/L)	国标检出限 (mg/L)
亚硝酸根	0.0008	0.003	0.012	0.02
硝酸根	0.007	0.018	0.072	0.2

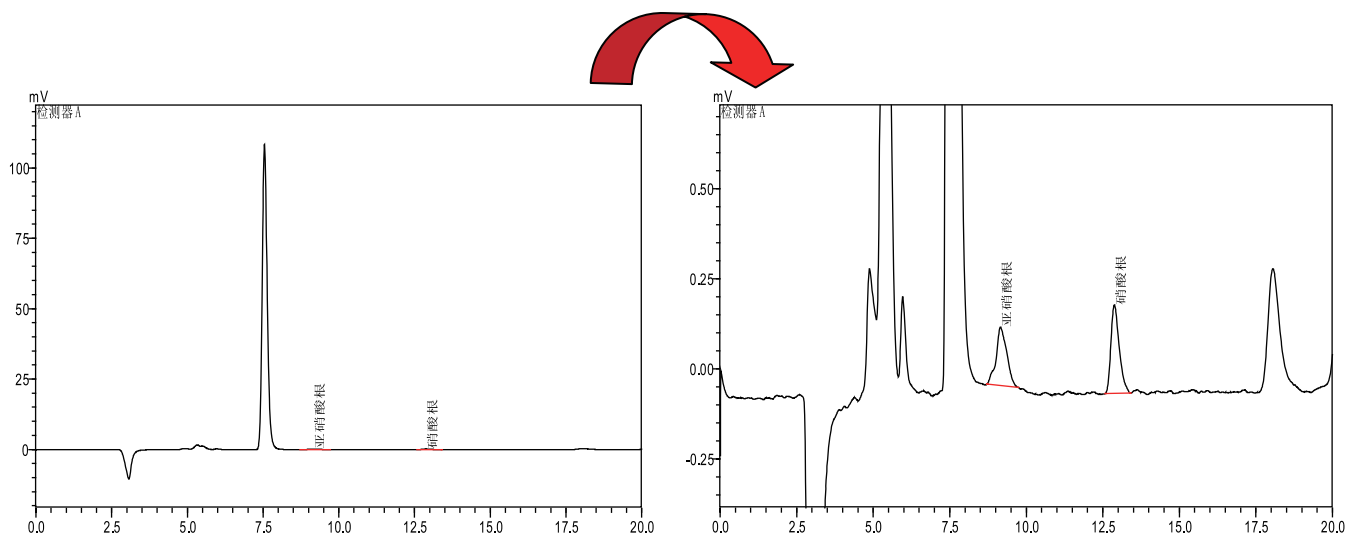


图6 酱油样品色谱图

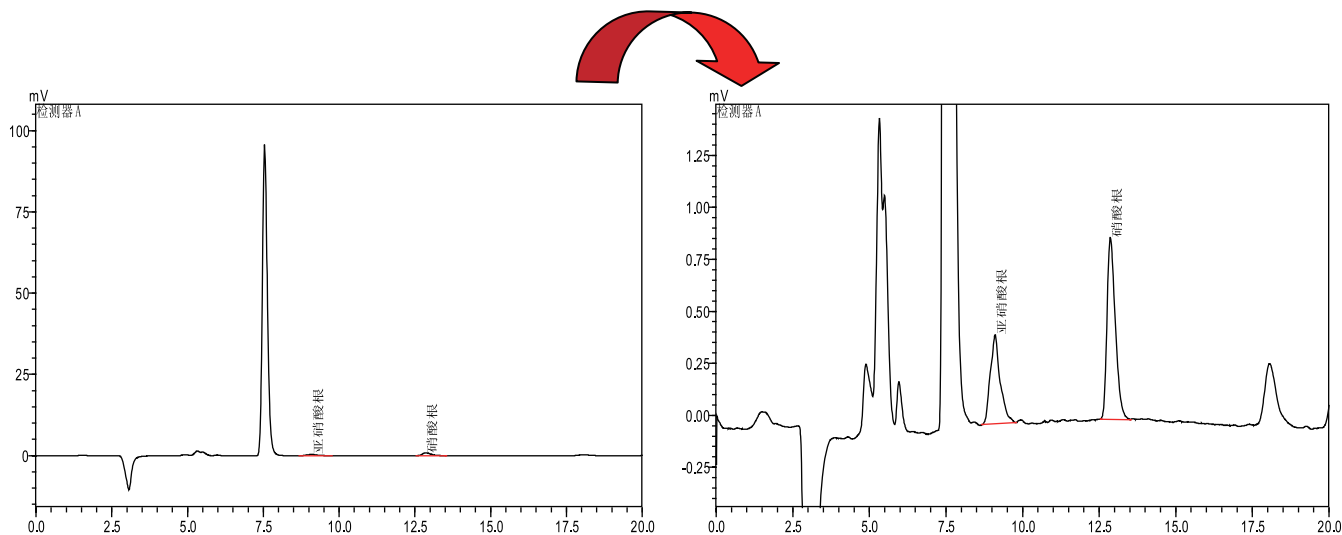


图7 酱油样品加标亚硝酸根/硝酸根混标0.02/0.2 mg/L色谱图

表4 酱油样品加标亚硝酸根/硝酸根混标0.02/0.2 mg/L浓度回收率结果

编号	亚硝酸根 检出浓度 (mg/L)	亚硝酸根 加标浓度 (mg/L)	亚硝酸根 实测浓度 (mg/L)	亚硝酸根 回收率 (%)	硝酸根检 出浓度 (mg/L)	硝酸根加 标浓度 (mg/L)	硝酸根实 测浓度 (mg/L)	硝酸根回 收率(%)
样品	0.0069	0.02	0.029	109.2%	0.059	0.2	0.25	94.8%

2.4 样品分析

按照 1.3.2 所述步骤处理酱油样品，检测酱油中的亚硝酸盐、硝酸盐含量。图 6 为酱油样品色谱图。图 7 为上述酱油样品加标亚硝酸盐 / 硝酸盐混标 0.02/0.2 mg/L 色谱图。该实际样品添加浓度计算回收率结果见表 4。

结论

本实验中使用岛津抑制型离子色谱仪 (HIC-SP)，搭载 WLK-6A 阴离子电化学自再生抑制器，建立了一种对酱油中的亚硝酸根、硝酸根离子含量的测试方法。亚硝酸根在 0.01~0.2 mg/L 浓度范围内线性良好，相关系数为 0.9999。硝酸根在 0.1~2.0 mg/L 浓度范围内线性良好，相关系数为 0.9999。本方法满足国标检测要求，可以用于酱油中亚硝酸根、硝酸根离子的含量测试。