

奶粉中亚硝酸盐和硝酸盐的测定

1 背景

亚硝酸盐和硝酸盐是常见致癌物，过量摄入会影响人体健康，造成中毒，导致婴幼儿高铁血红蛋白症，孕妇流产、高血压、甲状腺肿大等。除此之外，亚硝酸盐和硝酸盐可在人体内合成具有强致癌作用的亚硝胺类化合物。

奶粉是婴幼儿主要食物来源之一。其食品卫生安全性必然受到人们的广泛关注。若摄入的奶粉中亚硝酸盐的含量超标，会对婴幼儿身体健康产生较大威胁。乳及乳制品中亚硝酸盐和硝酸盐主要来源于饲料、饲养环境、生产用水及人为掺杂所致。



GB 2762-2022《食品安全国家标准 食品中污染物限量》标准中对婴幼儿配方奶粉中的亚硝酸盐、硝酸盐含量要求非常严格，限值分别为 2.0 mg/kg、100 mg/kg。因此，准确测定奶粉中的硝酸盐与亚硝酸盐的含量对于奶制品的食品安全具有重要意义。

本方案参考国家强制标准 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》中的第一法-离子色谱法，采用中仪远大 FCI-IC-300 离子色谱，对奶粉中亚硝酸盐和硝酸盐进行检测，结果完全满足国标要求，且准确高效，灵敏度和重复性好。

2 实验方法

2.1 试剂和材料

除非另有说明，所用试剂均为优级纯。

水：超纯水（ $18.2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ）。

净化柱：FCIINE C18 柱（1cc），FCIINE Ag 柱（1cc），FCIINE Na 柱（1cc）

2.2 标准溶液

亚硝酸根标准储备液（100 mg/L）：准确称取 0.0150g 亚硝酸钠，用水稀释定容于 100 mL 容量瓶中，混匀备用。

硝酸根标准储备液（1000 mg/L）：市售标准溶液。

亚硝酸根和硝酸根混合标准中间液（ NO_2^- : 1.0 mg/L, NO_3^- : 10.0 mg/L）：准确移取亚硝酸根和硝酸根标准储备液各 1.0 mL 于 100 mL 容量瓶，用水定容至刻度，混匀备用。

亚硝酸根和硝酸根混合标准工作液：由亚硝酸根和硝酸根混合标准中间液用水稀释得到亚硝酸根浓度为 0.02 mg/L、0.04 mg/L、0.06 mg/L、0.08 mg/L、0.10 mg/L、

0.20 mg/L, 硝酸根浓度为 0.2 mg/L、0.4 mg/L、0.6 mg/L、0.8 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L 标准曲线, 现用现配。

2.3 样品的制备

提取: 称取 2.5 g (精确到 0.01 g) 样品, 置于 100 mL 具塞锥形瓶中, 加水约 80mL, 摇匀, 超声 30 min, 取出放置至室温, 定量转移至 100 mL 容量瓶中, 加入 3 %乙酸溶液 2 mL, 于 4°C放置 20 min, 取出放置至室温。溶液经滤纸过滤, 取上清液备用。

净化: 取上述备用的上清液约 15 mL, 通过 0.45 μ m 水性滤膜针头过滤器、C18 柱, 弃去前面 3 mL (如果氯离子大于 100 mg/L, 则需要依次通过针头滤器、C18 柱、Ag 柱和 Na 柱, 弃去前面 7 mL。对于氯离子含量不高的样品, 不建议使用 Ag 柱和 Na 柱。因为 Ag 柱是优先去除氯离子, 但是当氯离子含量不高时, 剩余的 Ag 离子会吸附亚硝酸根离子, 导致其回收率偏低。), 收集后面洗脱液待测。

净化小柱使用前需进行活化, 活化过程为: C18 柱 (1.0cc) 使用前依次用 10 mL 甲醇、15 mL 水通过, 静置活化 30 min。Ag 柱 (1.0cc) 和 Na 柱 (1.0cc) 用 10 mL 水通过, 静置活 30 min。

3 色谱条件

淋洗液:

0-20 min, 10 mM KOH

20-35 min, 50 mM KOH

35-40 min, 10 mM KOH;

流 速：1.0 mL/min;

色 谱 柱：FCI-AS19;

柱 温：30°C;

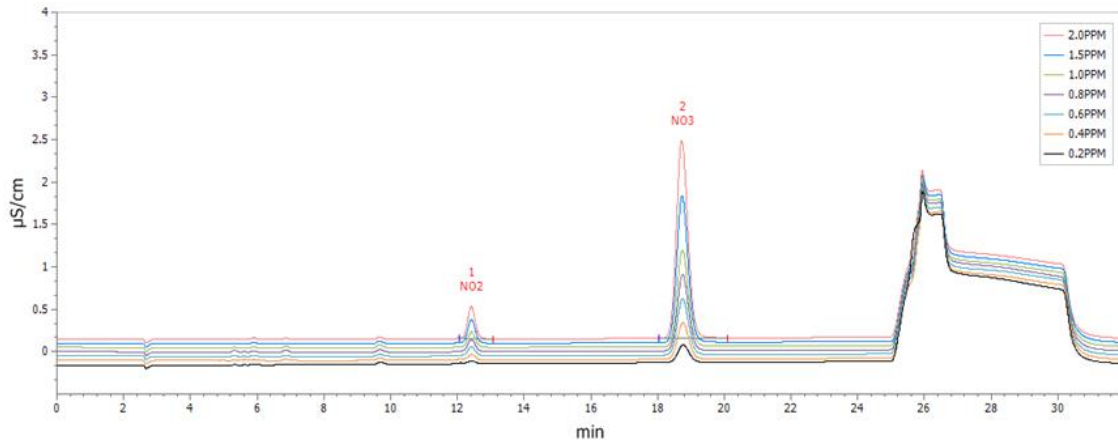
抑制电流：125 mA;

进 样 量：50 μ L。

4 实验结果

4.1 校准曲线

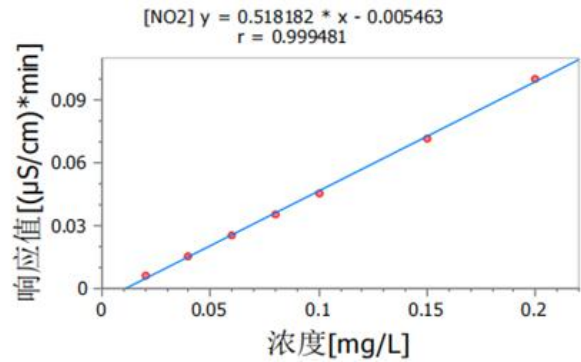
标准曲线谱图和线性方程如下，NO₂-在 0.02-0.20 mg/L 范围内，NO₃-在 0.2-2 mg/L 范围内相关系数均大于 0.999，线性良好。



NO2 校准点信息

| 谱图名称 | 响应值 [($\mu\text{S}/\text{cm}$)*min] | 浓度[mg/L] | 响应因子 | 校准等级 |
|---------|--|----------|----------|------|
| 0. 2PPM | 0.006194 | 0.020000 | 3.229152 | 1 |
| 0. 4PPM | 0.015641 | 0.040000 | 2.557434 | 2 |
| 0. 6PPM | 0.025373 | 0.060000 | 2.364741 | 3 |
| 0. 8PPM | 0.035163 | 0.080000 | 2.275140 | 4 |
| 1. 0PPM | 0.045229 | 0.100000 | 2.210988 | 5 |
| 1. 5PPM | 0.071363 | 0.150000 | 2.101943 | 6 |
| 2. 0PPM | 0.099617 | 0.200000 | 2.007691 | 7 |

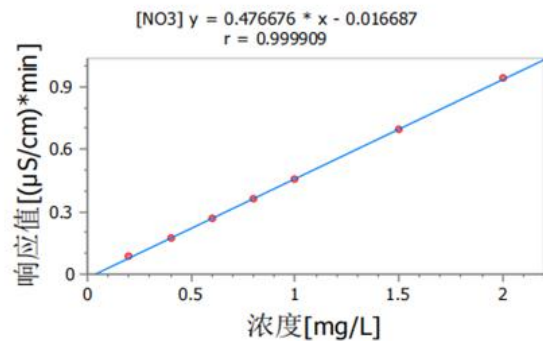
定量方法:外标法
 响应基础:峰面积
 峰类型:目标
 拟合类型:线性
 原点方式:忽略原点
 权重方法:无
 方程式: $y = 0.518182 * x - 0.005463$
 相关系数: $r = 0.999481$



NO3 校准点信息

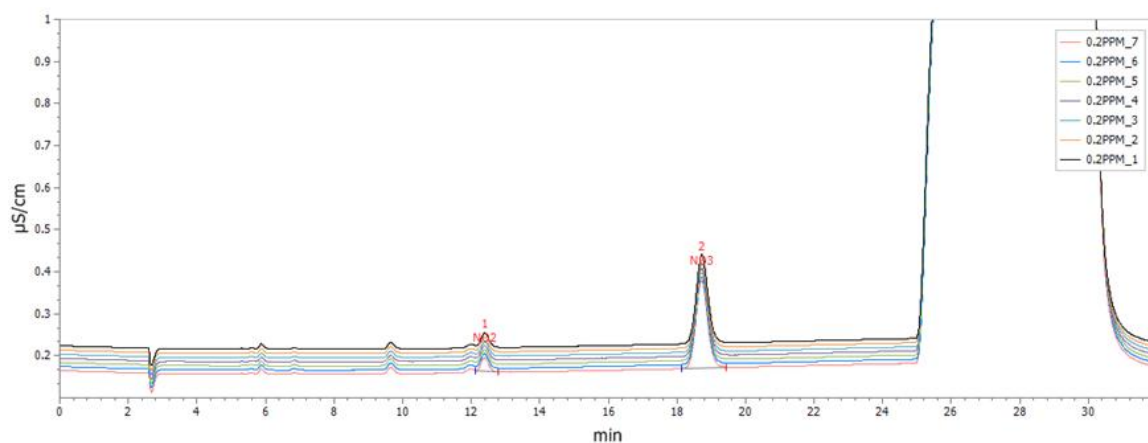
| 谱图名称 | 响应值 [($\mu\text{S}/\text{cm}$)*min] | 浓度[mg/L] | 响应因子 | 校准等级 |
|---------|--|----------|----------|------|
| 0. 2PPM | 0.083784 | 0.200000 | 2.387105 | 1 |
| 0. 4PPM | 0.175317 | 0.400000 | 2.281586 | 2 |
| 0. 6PPM | 0.267519 | 0.600000 | 2.242828 | 3 |
| 0. 8PPM | 0.361124 | 0.800000 | 2.215306 | 4 |
| 1. 0PPM | 0.457486 | 1.000000 | 2.185859 | 5 |
| 1. 5PPM | 0.694096 | 1.500000 | 2.161084 | 6 |
| 2. 0PPM | 0.942264 | 2.000000 | 2.122548 | 7 |

定量方法:外标法
 响应基础:峰面积
 峰类型:目标
 拟合类型:线性
 原点方式:忽略原点
 权重方法:无
 方程式: $y = 0.476676 * x - 0.016687$
 相关系数: $r = 0.999909$



4.2 重复性测试

将亚硝酸根和硝酸根混合标准溶液（0.02 mg/L 和 0.2 mg/L）连续进样 7 次，系统适应性测试（SST）结果如下图，保留时间 RSD=0.02%，峰面积 RSD≤0.67%，方法具有很好的重复性。



NO2

| 谱图名称 | 保留时间[min] | 峰面积[($\mu\text{S}/\text{cm}$)*min] | 峰高[$\mu\text{S}/\text{cm}$] | 浓度[mg/L] |
|----------|-----------|--------------------------------------|-------------------------------|----------|
| 0.2PPM 1 | 12.396667 | 0.007750 | 0.031485 | 0.025499 |
| 0.2PPM 2 | 12.393333 | 0.007758 | 0.031468 | 0.025514 |
| 0.2PPM 3 | 12.393333 | 0.007683 | 0.031256 | 0.025369 |
| 0.2PPM 4 | 12.390000 | 0.007782 | 0.031533 | 0.025561 |
| 0.2PPM 5 | 12.393333 | 0.007909 | 0.031896 | 0.025806 |
| 0.2PPM 6 | 12.390000 | 0.007895 | 0.031902 | 0.025779 |
| 0.2PPM 7 | 12.390000 | 0.007894 | 0.031917 | 0.025777 |
| 平均值 | 12.392381 | 0.007810 | 0.031637 | 0.025615 |
| SD | 0.002520 | 0.000089 | 0.000266 | 0.000171 |
| RSD(%) | 0.020333 | 1.133797 | 0.839226 | 0.668923 |

NO3

| 谱图名称 | 保留时间[min] | 峰面积[($\mu\text{S}/\text{cm}$)*min] | 峰高[$\mu\text{S}/\text{cm}$] | 浓度[mg/L] |
|----------|-----------|--------------------------------------|-------------------------------|----------|
| 0.2PPM 1 | 18.726667 | 0.084711 | 0.210816 | 0.212719 |
| 0.2PPM 2 | 18.723333 | 0.083808 | 0.209039 | 0.210825 |
| 0.2PPM 3 | 18.730000 | 0.083198 | 0.207229 | 0.209545 |
| 0.2PPM 4 | 18.723333 | 0.083104 | 0.207216 | 0.209348 |
| 0.2PPM 5 | 18.720000 | 0.083298 | 0.207575 | 0.209755 |
| 0.2PPM 6 | 18.720000 | 0.083108 | 0.207504 | 0.209356 |
| 0.2PPM 7 | 18.720000 | 0.083334 | 0.207792 | 0.209830 |
| 平均值 | 18.723333 | 0.083509 | 0.208167 | 0.210197 |
| SD | 0.003849 | 0.000582 | 0.001322 | 0.001221 |
| RSD(%) | 0.020557 | 0.696586 | 0.635227 | 0.580656 |

4.3 实际样品测定

奶粉样品中亚硝酸盐、硝酸盐测试结果如下所示，NO2-未检出，未列表格。

NO3-测试结果：

| 样品名称 _Ⓟ | 测试浓度 _Ⓟ (mg/L) _Ⓟ | 称样量 _Ⓟ (g) _Ⓟ | 换算系数 _Ⓟ | 样品含量 _Ⓟ (mg/kg) _Ⓟ | 平均值 _Ⓟ (mg/kg) _Ⓟ |
|-------------------|--|--------------------------------------|-------------------|---|--|
| 奶粉-1 _Ⓟ | 0.213417 _Ⓟ | 2.5080 _Ⓟ | 1.5 _Ⓟ | 12.76 _Ⓟ | 12.6 _Ⓟ |
| 奶粉-2 _Ⓟ | 0.208886 _Ⓟ | 2.5014 _Ⓟ | 1.5 _Ⓟ | 12.53 _Ⓟ | |

样品中添加 0.06 mg/L 亚硝酸根、0.6 mg/L 硝酸根浓度水平标准溶液，测试结果如下，亚硝酸根和硝酸根回收率符合要求。

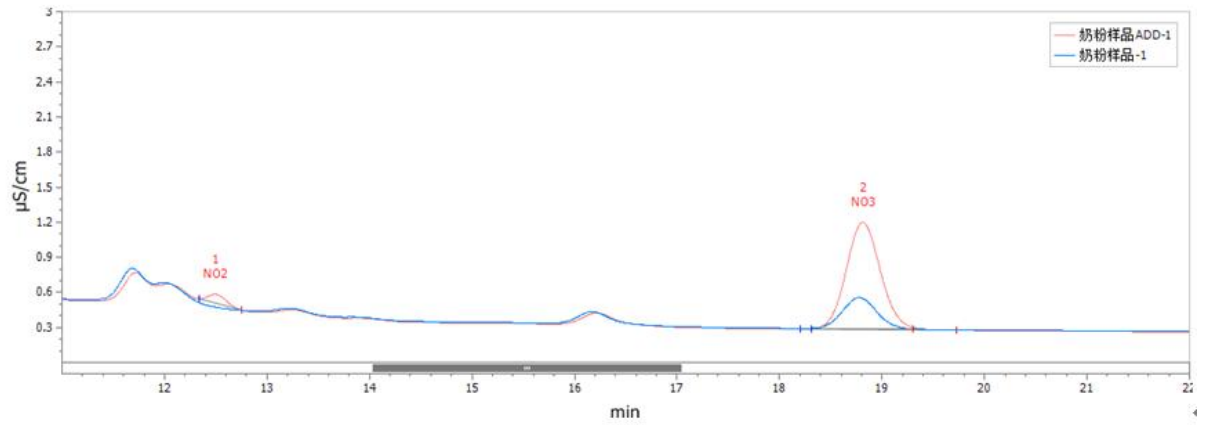
NO2-加标测试结果：

| 样品名称 _Ⓟ | 测试浓度 _Ⓟ (mg/L) _Ⓟ | 加标后测试浓度 _Ⓟ (mg/L) _Ⓟ | 加标浓度 _Ⓟ (mg/L) _Ⓟ | 回收率 _Ⓟ % _Ⓟ |
|-------------------|--|---|--|------------------------------------|
| 奶粉-1 _Ⓟ | ND _Ⓟ | 0.056776 _Ⓟ | 0.06 _Ⓟ | 94.6 _Ⓟ |
| 奶粉-2 _Ⓟ | ND _Ⓟ | 0.061658 _Ⓟ | 0.06 _Ⓟ | 102.8 _Ⓟ |

NO3-加标测试结果：

| 样品名称 _Ⓟ | 测试浓度 _Ⓟ (mg/L) _Ⓟ | 加标后测试浓度 _Ⓟ (mg/L) _Ⓟ | 加标浓度 _Ⓟ (mg/L) _Ⓟ | 回收率 _Ⓟ % _Ⓟ |
|-------------------|--|---|--|------------------------------------|
| 奶粉-1 _Ⓟ | 0.213417 _Ⓟ | 0.811523 _Ⓟ | 0.6 _Ⓟ | 99.7 _Ⓟ |
| 奶粉-2 _Ⓟ | 0.208886 _Ⓟ | 0.762943 _Ⓟ | 0.6 _Ⓟ | 92.3 _Ⓟ |

样品加标测试谱图：



5 结论

上述实验结果表明，采用中仪远大 FCI-IC-300 离子色谱仪，亚硝酸盐和硝酸盐标准溶液具有很好的线性，定性定量重复性好，完全满足《GB 5009.27-2016 食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》要求。