

## 实验技术与方法

## 固相萃取净化-离子色谱法测定水产品中的6种阴离子含量

肖志雯,周睿,劳宝法,丁宇

(上海市黄浦区疾病预防控制中心,上海 200023)

**摘要:**目的 测定水产品中6种无机阴离子含量。方法 采用超声提取、固相萃取柱净化的方法对试样进行前处理,高容量阴离子交换色谱柱分离,离子色谱抑制型电导检测器检测。结果  $F^-$ 、 $NO_2^-$ 在0.1~10.0 mg/L,  $Cl^-$ 、 $NO_3^-$ 、 $PO_3^{3-}$ 、 $SO_4^{2-}$ 在1.0~50.0 mg/L范围内线性良好,回收率在89.8%~103.0%之间,相对标准偏差在3.5%~5.7%之间,检出限分别为 $F^-$ :0.6 mg/kg;  $Cl^-$ :1.0 mg/kg;  $NO_2^-$ :2.0 mg/kg;  $NO_3^-$ :1.6 mg/kg;  $PO_3^{3-}$ :4.0 mg/kg;  $SO_4^{2-}$ :1.4 mg/kg。结论 本方法准确、灵敏、操作简便,一次进样15 min内完全分离,适用于水产品中6种无机阴离子含量的检测。

**关键词:**水产品;阴离子;离子色谱;食品

中图分类号:O652.63 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)06-0550-04

## Determination of six anions in aquatic products by SPE-Ion chromatography

Xiao Zhiwen, Zhou Rui, Lao Baofa, Ding Yu

(Shanghai Huangpu District Center For Disease Control &amp; Prevention, Shanghai 200023, China)

**Abstract:** **Objective** To develop a method for simultaneous determination of six anions in aquatic products by ion chromatography. **Methods** Food samples were pre-treated by ultrasonic extraction, high speed centrifugation and solid phase extract clean up, and the resulting supernatants were injected into a high-capacity anion exchange column for separation and detected by suppressed conductivity. **Results** The linearity of  $F^-$  and  $NO_2^-$  were satisfying in the range of 0.1–10.0 mg/L. The linearity of  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_3^{3-}$ , and  $SO_4^{2-}$  were good in the range of 1.0–50.0 mg/L. The recovery of the method was 89.8%–103.0% and relative standard deviation (RSD) was 3.5%–5.7%. The detection limits were  $F^-$ : 0.6 mg/kg;  $Cl^-$ : 1.0 mg/kg;  $NO_2^-$ : 2.0 mg/kg;  $NO_3^-$ : 1.6 mg/kg;  $PO_3^{3-}$ : 4.0 mg/kg;  $SO_4^{2-}$ : 1.4 mg/kg. **Conclusions** The method could simultaneously and completely separate all anions in 15 minutes with good accuracy, sensitivity, simplicity and could be applied for inspection of  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_3^{3-}$  and  $SO_4^{2-}$  in aquatic products.

**Key words:** Aquatic products; anions; ion chromatography; food

近年来,随着人们对食品安全的日益关注,水产品的卫生安全检测越来越受到重视。水产品中通常含有的无机阴离子包括氟、氯、亚硝酸盐、硝酸盐、磷酸盐、硫酸盐。离子色谱法是利用离子交换原理连续对多种阴离子进行定性和定量分析的方法。由于离子色谱法一次进样可以同时分析测定多种阴离子,具有快速、高效、准确、灵敏等优点,且试样的前处理过程简单,现已成为分析阴离子的首选方法<sup>[1-3]</sup>,在食品领域,如蔬菜、肉制品、牛奶的检测上得到广泛应用<sup>[4-6]</sup>。食物中所含的离子对人体起到不同的作用<sup>[7]</sup>。氟在水产品中的蓄积和水中氟含量有密切关系,鱼和软体动物可以从水和食物链中吸收氟,富集部位主要集中在软体动物的外骨

骼和鱼的骨头,并且最终通过食物链影响人类健康。水产品中含有的硝酸盐如果保存和处理不当也会在硝酸盐还原酶的作用下产生大量的亚硝酸盐,可与蛋白质分解产物仲胺类物质生成致癌物亚硝胺,摄取过量硝酸盐将严重危害到人体的健康。用离子色谱法能同时检测水产品中硝酸盐、亚硝酸盐和氟离子,并且若样品中含有氯离子、硫酸盐、磷酸盐也能同时测定。现在对水产品中氯离子、硫酸盐、磷酸盐含量还没有检测方法及限量标准,本方法可为制定水产品中氯离子、硫酸盐、磷酸盐含量的检测方法及限量标准提供依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 仪器与试剂

ICS-90型离子色谱仪(Dionex公司,美国),AMMS抑制型电导检测器;超声波清洗器;优普超纯

收稿日期:2012-06-29

作者简介:肖志雯 女 技师 研究方向为理化检验

E-mail: xiaozhiwen1986@gmail.com

水器;电热恒温水浴锅。

碳酸钠和碳酸氢钠(均为分析纯);氟(以  $F^-$  计)、氯(以  $Cl^-$  计)、硝酸盐(以  $NO_3^-$  计)、亚硝酸盐(以  $NO_2^-$  计)、硫酸盐(以  $SO_4^{2-}$  计)、磷酸盐(以  $PO_4^{3-}$  计)标准溶液均购自国家标准物质研究中心;实验用水为电导率在  $18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$  以上的超纯水。

1.2 色谱分离条件

分离柱:IonpacAS14 阴离子交换色谱柱( $250\text{ mm}\times 4\text{ mm id.}$ );保护柱: IonpacAG14;淋洗液:  $3.5\text{ mmol/L}$

$Na_2CO_3/1.0\text{ mmol/L NaHCO}_3$ ;流速:  $1.2\text{ ml/min}$ ;进样体积  $10\text{ }\mu\text{l}$ ;柱压:  $2\text{ }000\sim 2\text{ }200\text{ psi}$ ;检测方式:抑制型电导检测,抑制器电流  $50\text{ mA}$ 。

1.3 标准溶液的配制

氟标准储备液  $100\text{ mg/L}$ ,氯、硝酸盐、亚硝酸盐、硫酸盐、磷酸盐标准储备液  $1\text{ }000\text{ mg/L}$ 。混合标准使用液中氟、氯、硝酸盐、亚硝酸盐、硫酸盐、磷酸盐的浓度见表 1,在  $4\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱内贮存,有效期 1 周。

表 1 标准曲线浓度、峰面积、相关系数、线性方程、线性范围

Table 1 The concentration of the standard curve, peak area, correlation coefficient, linear equations, linear range

| 离子          | 浓度 (mg/L)/峰面积 ( $\mu\text{s}\times\text{min}$ ) |         |         |         |         |         |         |         | 相关系数 (r) | 线性方程 *                             | 线性范围 (mg/L) |
|-------------|-------------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|------------------------------------|-------------|
| $F^-$       | 0.0                                             | 0.1     | 0.5     | 1.0     | 2.5     | 5.0     | 10.0    | 20.0    | 0.999 9  | $y=0.095\text{ }2x+0.002\text{ }8$ | 0.1~20.0    |
|             | 0.00                                            | 0.009 6 | 0.051 7 | 0.091 8 | 0.238 9 | 0.448 7 | 0.957 9 | 1.903 0 |          |                                    |             |
| $Cl^-$      | 0.0                                             | 1.0     | 5.0     | 10.0    | 15.0    | 20.0    | 25.0    | 50.0    | 0.999 5  | $y=0.057\text{ }1x-0.013\text{ }1$ | 1.0~50.0    |
|             | 0.00                                            | 0.094 6 | 0.270 3 | 0.549 0 | 0.834 8 | 1.084 5 | 1.402 9 | 2.872 4 |          |                                    |             |
| $NO_2^-$    | 0.0                                             | 0.1     | 0.5     | 1.0     | 2.5     | 5.0     | 10.0    | 20.0    | 0.999 7  | $y=0.033\text{ }1x+0.002\text{ }6$ | 0.1~20.0    |
|             | 0.00                                            | 0.003 2 | 0.016 1 | 0.040 4 | 0.094 4 | 0.160 7 | 0.332 5 | 0.666 5 |          |                                    |             |
| $NO_3^-$    | 0.0                                             | 1.0     | 5.0     | 10.0    | 15.0    | 20.0    | 25.0    | 50.0    | 0.999 7  | $y=0.029\text{ }7x-0.004\text{ }9$ | 1.0~50.0    |
|             | 0.00                                            | 0.043 7 | 0.147 3 | 0.282 2 | 0.434 1 | 0.573 2 | 0.739 0 | 1.489 7 |          |                                    |             |
| $PO_4^{3-}$ | 0.0                                             | 1.0     | 5.0     | 10.0    | 15.0    | 20.0    | 25.0    | 50.0    | 0.999 2  | $y=0.016\text{ }3x-0.001\text{ }7$ | 1.0~50.0    |
|             | 0.00                                            | 0.012 3 | 0.088 5 | 0.170 6 | 0.234 1 | 0.328 4 | 0.385 5 | 0.802 7 |          |                                    |             |
| $SO_4^{2-}$ | 0.0                                             | 1.0     | 5.0     | 10.0    | 15.0    | 20.0    | 25.0    | 50.0    | 0.999 4  | $y=0.038\text{ }2x+0.028\text{ }5$ | 1.0~50.0    |
|             | 0.00                                            | 0.078 0 | 0.223 5 | 0.409 5 | 0.563 3 | 0.787 8 | 1.014 4 | 1.935 2 |          |                                    |             |

注: \* 线性方程中 y 为峰面积, x 为组分的质量浓度 (mg/L)。

1.4 固相萃取柱

固相萃取柱 Agela Cleanert IC-RP 柱(  $2.5\text{ ml}$  )。固相萃取柱使用前需进行活化,其活化过程为: RP 柱使用前依次用  $10\text{ ml}$  甲醇、 $15\text{ ml}$  水通过,静置活化  $30\text{ min}$ 。

1.5 样品前处理

将水产品的可食部分打成匀浆后,称取试样匀浆  $5.00\text{ g}$ ,用  $80\text{ ml}$  水洗入  $100\text{ ml}$  锥形瓶中,超声提取  $30\text{ min}$ ,每隔  $5\text{ min}$  振摇 1 次,保持固相完全分散。然后置于  $75\text{ }^\circ\text{C}$  水浴中加热  $5\text{ min}$ ,用水定容至刻度<sup>[9]</sup>。溶液经滤纸过滤后,取部分溶液于  $5\text{ }000\text{ r/min}$  离心  $15\text{ min}$ ,上清液备用。取上述提取液  $10\text{ ml}$ ,通过活化后的 Agela Cleanert IC-RP 柱,弃去前面  $3\text{ ml}$ ,收集后面流出液,过  $0.22\text{ }\mu\text{m}$  的微孔虑膜后进样。

2 结果与讨论

2.1 试样提取方法的选择

为了选择最佳的提取温度和时间,称取试样匀浆  $5.00\text{ g}$ ,以  $80\text{ ml}$  水洗入  $100\text{ ml}$  锥形瓶中,分别选用  $25\text{ }^\circ\text{C}$  (室温)水浴、 $40\text{ }^\circ\text{C}$  水浴和  $80\text{ }^\circ\text{C}$  水浴进行超声提取,提取时间分别为  $20$ 、 $30$ 、 $40$  和  $50\text{ min}$ 。结果表明,在上述各参数条件下,提取效率差别在

$10\%$  以内,  $25\text{ }^\circ\text{C}$  超声提取  $30\text{ min}$  即可获得理想的提取效果,超声时间为  $20\text{ min}$  时的提取效率较低,而进一步提高温度和时间并不能显著提高提取效率,且当温度提高至  $40\text{ }^\circ\text{C}$  和  $80\text{ }^\circ\text{C}$  时,亚硝酸盐受高温影响氧化成硝酸盐。因此选择  $25\text{ }^\circ\text{C}$  室温下超声  $30\text{ min}$  为本方法的提取条件。结果见图 1。

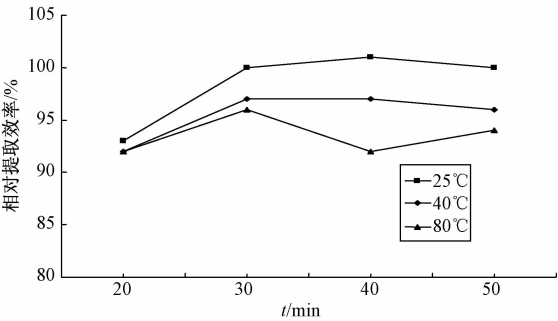


图 1 时间和温度对水产品中阴离子提取效率的影响

Figure 1 Time and temperature on extraction efficiency of anions in aquatic products

2.2 离子色谱分离条件的选择

水产品中基质复杂,为使 6 种阴离子在最短的时间内完全分离,必须优化淋洗液流速。选择流速分别为:  $0.8$ 、 $1.2$ 、 $1.5\text{ ml/min}$ ,在这 3 种流速条件下,各阴离子的分离效果均良好;当流速为  $0.8\text{ ml/}$

min 时,分离时间较长;当流速为 1.5 ml/min 时,出峰出现重叠且柱压过大,对仪器有影响。实验结果表明,在淋洗液浓度为 3.5 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/1.0 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>、流速为 1.2 ml/min 时,氟、氯、硝酸盐、亚硝酸盐、硫酸盐、磷酸盐 6 种阴离子无重叠峰,在 15 min 内得到很好分离效果,且样品中成分分离效果很好。标准混合溶液分离图见图 2、水产品分离图见图 3。

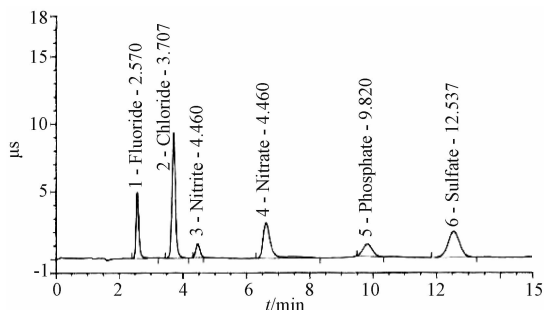


图 2 6 种阴离子标准混合溶液色谱图  
Figure 2 Chromatogram of six kinds of anion standard mixture solution

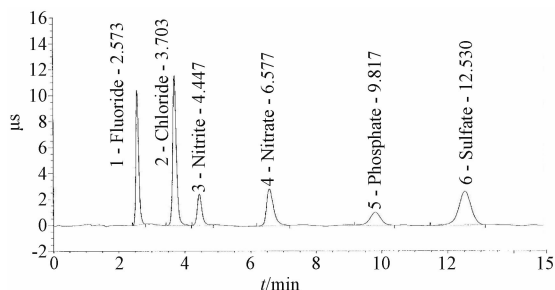


图 3 水产品中 6 种阴离子溶液色谱图  
Figure 3 Chromatogram of six kinds of anion in aquatic product

### 2.3 方法线性及检出限

对不同浓度的标准混合使用液进行测定,氟、氯、亚硝酸盐、硝酸盐、磷酸盐、硫酸盐 6 种阴离子标准曲线浓度、相关系数、线性方程、线性范围见表 1。从表 1 可以看出,氟、氯、亚硝酸盐、硝酸盐、磷酸盐、硫酸盐的线性关系良好,相关系数均 >0.999。以最小峰面积 3 倍相当的标准物质浓度为检出限,按取样 5.00 g、定容 100 ml 计算最低检出浓度为 F<sup>-</sup>: 0.6 mg/kg; Cl<sup>-</sup>: 1.0 mg/kg; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: 2.0 mg/kg; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 1.6 mg/kg; PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>: 4.0 mg/kg; SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>: 1.4 mg/kg。

### 2.4 方法回收率和精密度

准确称取已知含量的试样约 5.00 g 作为本底,添加不同量的氟、氯、亚硝酸盐、硝酸盐、磷酸盐、硫酸盐做加标回收试验,结果见表 2。回收率介于 89.8% ~ 103.2% 之间,样品加标回收率准确度较好,符合方法学的要求。

准确称取 6 个平行样,进行样品前处理,采用离

子色谱法测定,计算相对标准偏差,精密度结果见表 3。结果表明, *RSD* 在 3.5% ~ 5.7% 之间。

表 2 样品加标回收率  
Table 2 Recoveries of standard addition (*n* = 3)

| 离子                            | 本底值<br>(mg/kg) | 加入量<br>(mg/kg) | 测得值<br>(mg/kg) | 回收率<br>(%) |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| F <sup>-</sup>                | 1.2            | 0.5            | 1.5            | 89.8       |
|                               |                | 1.0            | 2.2            | 103.2      |
| Cl <sup>-</sup>               | 103.6          | 50.0           | 157.4          | 102.5      |
|                               |                | 100.0          | 200.7          | 98.6       |
| NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  | 3.9            | 4.0            | 8.1            | 101.5      |
|                               |                | 8.0            | 12.3           | 103.0      |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | 40.3           | 20.0           | 57.5           | 95.4       |
|                               |                | 40.0           | 80.1           | 99.8       |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | 42.1           | 20.0           | 63.8           | 102.4      |
|                               |                | 40.0           | 83.7           | 102.0      |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | 160.4          | 100.0          | 247.1          | 94.9       |
|                               |                | 200.0          | 354.9          | 98.5       |

表 3 方法精密度测定结果

Table 3 Results of precision measurement (*n* = 6)

| 离子                            | 测定结果 (mg/kg)                             | 平均值<br>(mg/kg) | <i>RSD</i><br>(%) |
|-------------------------------|------------------------------------------|----------------|-------------------|
| F <sup>-</sup>                | 1.1, 1.2, 1.2, 1.1, 1.2, 1.2             | 1.2            | 4.5               |
| Cl <sup>-</sup>               | 100.4, 103.6, 110.2, 101.6, 108.7, 109.6 | 105.7          | 4.1               |
| NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>  | 3.9, 3.9, 3.7, 3.7, 4.2, 4.2             | 3.9            | 5.2               |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | 38.6, 40.3, 42.1, 39.1, 44.2, 43.7       | 41.3           | 5.7               |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | 40.9, 42.1, 45.3, 44.7, 42.6, 42.4, 43.0 | 43.0           | 3.5               |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | 152.8, 160.4, 165.9, 151.4, 163.7, 163.9 | 159.7          | 3.9               |

### 2.5 样品测定

分别测定了海参、鳕鱼、三文鱼、海虾、青虾仁、南极磷虾、南美白对虾中 6 种阴离子的含量,结果列于表 4。

表 4 样品测定结果

Table 4 Contents of determination results (mg/kg)

| 样品名称  | F <sup>-</sup> | Cl <sup>-</sup> | NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> |
|-------|----------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 海参    | 1.2            | 103.6           | 3.9                          | 40.3                         | 42.1                          | 160.4                         |
| 鳕鱼    | 1.3            | 259.7           | 17.2                         | 59.3                         | 55.4                          | 108.6                         |
| 三文鱼   | —              | 743.8           | —                            | —                            | 1688.7                        | 84.3                          |
| 海虾    | —              | 1265.6          | —                            | —                            | 2487.1                        | 128.3                         |
| 青虾仁   | —              | 1253.1          | 2.3                          | —                            | 3377.4                        | 141.8                         |
| 南极磷虾  | 25.8           | 7447.5          | 4.0                          | 61.1                         | 4790.2                        | 791.0                         |
| 南美白对虾 | —              | 889.4           | —                            | —                            | 1729.0                        | 98.1                          |

由表 4 可知,离子色谱法同时测定水产中多种阴离子时,其中不同成分阴离子之间的浓度差异比较大,且有的含量较高,需对样品进行合适的稀释后,再进行测定。分析结果表明,离子色谱法可以同时测定水产品中 6 种无机阴离子(氟、氯、亚硝酸盐、硝酸盐、磷酸盐、硫酸盐)。

### 3 小结

长期以来食品中阴离子的检测分析缺乏快速

灵敏的方法,传统方法如分光光度法等操作繁琐、费时费力,需用多种化学试剂,而且灵敏度低,存在干扰。而离子色谱法具有快速、灵敏、选择性好、可同时测定多组分的优点。本文采用超声提取,高速离心分离,漩涡混合,固相萃取柱等预处理方法同时测定水产品中6种阴离子,一次进样15 min内,全部完全分离,保留时间定性,外标法定量,实现了水产品中多种阴离子的同时快速准确检测。

## 参考文献

- [1] YOSHIKAWA K, OKAMURA M, INOKUCHI M, et al. Ion chromatographic determination of organic acids in food samples using a permanent coating graphite carbon column[J]. Talanta, 2007, 72: 305-309.
- [2] MISAKI P, LYTRAS E, KOUSOURIS L, et al. Data quality in water analysis: validation of ion chromatographic method for the determination of routine ions in potable water[J]. Desalination, 2007, 213: 182-88.
- [3] 牟世芬,刘克纳,丁晓静. 离子色谱方法及应用[M]. 2版. 北京:化学工业出版社,2005.
- [4] 施家威,颜金良. 离子色谱法快速测定食品中的硝酸盐、亚硝酸盐[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(6): 728-729.
- [5] YU Bingsheng, CHEN Po, NIE Lihua, et al. Simultaneous determination of nitrate and nitrite in saliva and food stuffs by non-up-pressed ion chromatography with bulk acoustic wave detector[J]. Anal Sci, 2001, 17(4): 495-498.
- [6] MCMULLEN S E, CASANOVA J A, GROSS L K, et al. Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in vegetable and fruit baby foods[J]. J AOAC Int, 2005, 88(6): 1793-1796.
- [7] 吴永宁. 现代食品安全科学[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
- [8] 宫君秋. 出口蔬菜质量控制[M]. 济南:山东科学技术出版社,2000:1-20.
- [9] 张磊,刘肖,赵云峰,等. 离子色谱法测定食品中硝酸盐和亚硝酸盐[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(4): 294-297.

☆国家自然科学基金资助重点学术期刊  
☆中国精品科技期刊  
☆中文核心期刊  
☆中国农业核心期刊  
☆学位与研究生教育中文重要期刊  
☆美国《化学文摘》收录期刊  
☆日本科学技术社数据库收录期刊  
☆中国学术期刊文摘(英文版)收录期刊

☆百种中国杰出学术期刊  
☆中国权威学术期刊  
☆中国科技核心期刊  
☆中国期刊方阵双效期刊  
☆中国科学引文数据库核心库收录期刊  
☆英国《食品科技文摘》收录期刊  
☆中国生物学文献数据库收录期刊

## 欢迎订阅 2013 年《食品科学》杂志

2013年《食品科学》杂志,大16开,360页,信息量更大,收纳范围更广、信息传递更快、内容更丰富、印刷更精美。每月15日、25日出版。栏目有:基础研究、工艺技术、分析检验、营养卫生、生物工程、包装贮运、专题论述、技术应用。邮发代号:2-439 国内刊号:CN11-2206/TS 国外刊号:ISSN 1002-6630。全国各地邮局均可订阅,发行部常年办理邮购。半月刊,定价:25元/册,全年定价600元。

### 订阅方法:

1. 现金订阅:直接通过邮局汇款至北京市西城区禄长街头条4号《食品科学》编辑部收。  
邮政编码:100050,手机:0-13621026321,联系电话:010-83155446/47/48/49/50 转 8010  
传真:010-63157001,联系人:李向芳,网址:www.chnfood.cn;电子邮箱:chnfood@chnfood.cn
2. 银行汇款:账户:中国食品杂志社 开户行:工行阜外大街分理处,账号:0200049209024922112