

离子色谱法测定烟用香精香料中的硝酸根和亚硝酸根

王文元¹, 李青青², 陈兴¹, 夏建军¹, 蒋举兴¹, 段焰青¹

1 红云红河烟草(集团)有限责任公司技术中心, 云南昆明五华区 367 号 650202;

2 云南师范大学, 昆明市一二一大街 298 号 650092

摘要: 对烟用香精香料中的 NO_3^- 和 NO_2^- 采用振荡萃取, 建立了快速检测烟用香精香料中的 NO_3^- 和 NO_2^- 的离子色谱法(IC)。香精香料试样中的 NO_3^- 和 NO_2^- 在振荡条件下用水、二氯甲烷萃取, 经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜净化, 柱流速为 1.0 mL/min , 采用浓度梯度洗脱方式, IonPac AS11 阴离子分析柱、电导检测器检测, 并采用该方法测定了 15 个烟用香精香料样品。结果表明: ① NO_3^- 和 NO_2^- 的检出限、回收率、相对标准偏差(RSD)及线性范围分别为 0.010 和 $0.006 \mu\text{g/mL}$, 95.4% 和 90.6% , 3.42% 和 4.61% , $0.06 \sim 6.0 \mu\text{g/mL}$ 和 $0.02 \sim 2.0 \mu\text{g/mL}$; ② 测定的 15 个烟用香精香料样品中 NO_3^- 的检出率 53.3% , NO_2^- 的检出率 40.0% 。该方法具有快速、灵敏、简便等优点, 适合于烟用香精香料样品中 NO_3^- 和 NO_2^- 的测定。

关键词: 卷烟; 离子色谱法; 亚硝酸根; 硝酸根; 烟用香精香料

doi: 10.3969/j.issn.1004-5708.2014.02.004

中图分类号: TS411.1 文献标志码: A 文章编号: 1004-5708 (2014) 02-0030-04

Determination of nitrate and nitrite in tobacco casing and flavors by ion chromatography

WANG Wenyuan¹, LI Qingqing², CHEN Xing¹, XIA Jianjun¹, JIANG Juxing¹, DUAN Yanqing¹

1 Technology Center, Hongyun and Honghe Tobacco (Group) Co., Ltd., Kunming 650202, China;

2 Yunnan Normal University, Kunming 650092, China

Abstract: A method for simultaneously determining NO_3^- and NO_2^- in tobacco casing and flavors was developed based on ion chromatography(IC) and oscillation extraction. NO_3^- and NO_2^- in casing and flavors were dealt with oscillation extraction by utilizing water and dichloromethane. They were purified through membrane ($0.22 \mu\text{m}$) with column flow rate of 1 mL/min and gradient elution was performed. The samples were separated on an Ion Pac AS 11 column and detected with an electrical conductivity detector. Results showed that: ① Limits of detection of NO_3^- and NO_2^- were between 0.010 and $0.006 \mu\text{g/mL}$, with recovery rate ranging from 90.6% to 95.4% and RSDs from 3.42% to 4.61% , and linear range of 0.06 to $6.0 \mu\text{g/mL}$ and 0.02 to $2.0 \mu\text{g/mL}$, respectively. ② NO_3^- and NO_2^- in 15 tobacco casing and flavor samples were detected with detection rate of 53.3% and 40.0% . The method was proved to be applicable in determining NO_3^- and NO_2^- in tobacco casing and flavors as timesaving, accurate and simple to process.

Keywords: cigarette; Ion chromatography; nitrite; nitrate; tobacco flavor

“晾晒烟烟叶中 NO_3^- 和 NO_2^- 与烟草特有亚硝胺(NNN、NAT、NNK、NAB)有显著的相关性, NNN

和 NNK 是强烈的动物致癌剂, NNK 和 NNN 致癌也已成为肿瘤病因学研究的重要课题之一。烟草中 NO_3^- 和 NO_2^- 还是烟气中的氮氧化物主要来源。烟用香精香料是卷烟生产中通常使用的物质, 部分香原料中可能含有一定量的 NO_3^- 和 NO_2^- , 可能对卷烟有一定影响。目前, 烟叶中 NO_3^- 和 NO_2^- 的检测分析方法已有一些报道^[1-2], 而对于烟用香精香料中 NO_3^- 和 NO_2^- 的检测技术方法未见报道, 研究香精香料中 NO_3^- 和 NO_2^- 的监测及分析方法具有重要的意义。国内外检测硝酸根、亚硝酸根的方法有: 分光光度

基金项目: 红云红河集团科技项目“HYHH2012HX01”; 云南中烟工业有限责任公司项目(2011JC08); 国家自然科学基金项目(No. NSFC31160432)

作者简介: 王文元(1980—), 工程师, 硕士, 主要从事烟草化学研究工作, Email:wyy13202@sohu.com

通讯作者: 段焰青(1973—), 高级工程师, 博士, 主要从事烟草化学与品质研究, Email:88084159@qq.com

收稿日期: 2013-07-23

法^[3-6]、发光分析法^[7-9]、电分析法^[10]、连续流动分析仪器法^[11]等。这些方法大多需对样品进行分离富集、灵敏度较低,而且所用的有机萃取试剂通常对操作人员健康有害,不利于推广应用;而离子色谱法因其快速、准确、灵敏度高、所用试剂无毒害等特点优势,一直倍受国内外学者的关注。本文建立了离子色谱法测定烟用香精香料中 NO_3^- 和 NO_2^- 的新检测方法。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

(1) 材料: KOH淋洗液(色谱纯,戴安公司), 15种烟用香精香料样品(市售), 水相滤膜(0.22 μm , 迈博瑞生物膜技术(南通)有限公司);

(2) 试剂: NO_3^- 、 NO_2^- 质量浓度均为1000 mg/L(国家标准物质研究中心), 货号分别为GBW(E)080522、GBW(E)081223; 按下列浓度范围配制标准工作溶液, 以水为溶剂配制, NO_3^- 为: 0.06 mg/L、0.6 mg/L、1.5 mg/L、3.0 mg/L、6.0 mg/L, NO_2^- 为: 0.02 mg/L、0.20 mg/L、0.50 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L;

(3) 仪器: ICS-3000型离子色谱仪(美国戴安公司), Mettler AE 163型电子天平(感量0.1 mg, 瑞士梅特勒-托利多公司), Millipore Simplicity型超纯水器(美国MILLIPORE公司), 普通摇床(型号: 3017, 德国GFL公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 香精香料样品的前处理

水溶性样品: 称取约0.5 g的试样, 精确至0.0001 g, 置于100 mL锥形瓶中, 加入20 mL水, 具塞后置于振荡器上以180 r/min的频率振荡25 min, 将萃取液转移至50 mL容量瓶中, 用去离子水定容至刻度, 摇匀后静置, 经0.22 μm 水相滤膜过滤后待测; 水不溶性样品: 称取约0.5 g的试样, 精确至0.0001 g, 置于100 mL锥形瓶中, 加入3 mL二氯甲烷分散后再向其中准确加入20.00 mL水, 具塞后置于振荡器上以180 r/min的频率振荡25 min, 静置后取水相澄清液经0.22 μm 水相滤膜过滤后待测^[12]。

1.2.2 色谱分析条件

色谱柱: IonPac AS11 4 \times 250 mm(分析柱); IonPac AG11 4 \times 50 mm(保护柱); 抑制器: ASRS 300; 电导检测器池温: 35 $^\circ\text{C}$; 柱流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 $^\circ\text{C}$; 进样量: 25 μL 。流动相A: KOH溶液; 流动相B: 水。洗脱梯度: 0.0~32.5 min 流动相A(6 mmol/L), 流动相B(水); 33.0~36.0 min 流

动相A(35 mmol/L), 流动相B(水); 36.5~41.5 min 流动相A(6 mmol/L), 流动相B(水)。采用比较标样保留时间法定性, 采用外标法峰面积定量。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件优化

2.1.1 萃取溶剂的选择

试验采用振荡萃取的方式对香精香料样品中的 NO_3^- 和 NO_2^- 进行提取, 固定样品的称样量0.5 g、萃取溶剂体积30 mL、振荡萃取15 min条件不变, 按照试验方法, 分别考察了去离子水, 5 mmol/L、10 mmol/L、20 mmol/L HCl溶液, 5 mmol/L、10 mmol/L、20 mmol/L NaOH溶液等溶剂的萃取效果, 结果表明: 当去离子水作为萃取溶剂时, NO_3^- 和 NO_2^- 的测定结果RSD最小, 萃取效率优于其它萃取溶液, 因而选择去离子水作为本试验的萃取溶剂; 同时考察了5 mL、10 mL、20 mL、30 mL、40 mL等不同体积萃取溶剂的萃取效率, 结果表明: 当去离子水的萃取体积为5-10 mL时, NO_3^- 和 NO_2^- 的测定结果有上升趋势, 表明目标物质没有萃取完全, 而萃取体积为20-40 mL之间时, NO_3^- 和 NO_2^- 的测定结果基本一致, 因此, 该部分工作获得了去离子水的最佳用量为20 mL。

2.1.2 萃取方式和萃取时间

按照试验方法, 固定样品的称样量0.5 g、萃取溶剂体积20 mL、萃取20 min等条件不变, 分别采用超声萃取和振荡萃取两种方式对香精香料样品中的 NO_3^- 和 NO_2^- 进行提取, 试验结果表明: 与振荡萃取方式相比, 采用超声萃取方式 NO_3^- 和 NO_2^- 的测定结果略低小、RSD值较大, 该现象原因可能是由于超声振荡萃取时, 温度有所升高, NO_3^- 和 NO_2^- 转化为其它物质造成的, 试验选择振荡萃取方式来提取待测目标物质 NO_3^- 和 NO_2^- ; 同时试验考察了5 min, 10 min, 15 min, 25 min, 35 min等不同振荡时间对萃取液效果的影响, 获得了最佳振荡萃取时间为25 min。

2.2 离子色谱仪条件的选择

本实验工作采用Dionex Ionpac AS11-HC阴离子交换柱, 该柱的特点是用来分析复杂样品大量的无机离子和有机阴离子, 适用于氢氧化钠或氢氧化钾作为淋洗液。由于淋洗液的组成对 NO_3^- 和 NO_2^- 的分离效果及洗脱时间影响很大, 因此在淋洗液流速固定的情况下, 试验考察了氢氧化钾溶液浓度对分离效果的影响。结果表明: 采用氢氧化钾溶液等度洗脱时, NO_2^-

和 NO_3^- 的分离度较低, 同时由于香精香料样品较为复杂, 含有大量的有机酸根离子, 样品在 AS11-HC 的残留较多, 不仅污染柱子, 且会缩短柱子的使用寿命。因而, 试验考察了梯度浓度淋洗方式, 结果发现: 在 0.0 ~ 32.5 min 时选用氢氧化钾溶液浓度 6 mmol/L, 33.0 ~ 36.0 min 氢氧化钾溶液浓度 35 mmol/L,

36.5 ~ 41.5 min 氢氧化钾溶液浓度 6 mmol/L 洗脱时可以实现 NO_3^- 和 NO_2^- 及其它阴离子的有效分离, 进而可保护色谱柱、延长其使用寿命。

在上述优化条件下, NO_2^- 和 NO_3^- 的标准溶液及香精香料样品的色谱图分别见图 1, 图 2。

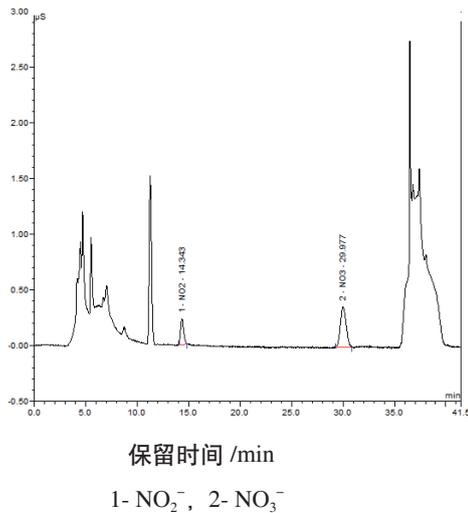


图 1 标准样品的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of standard samples

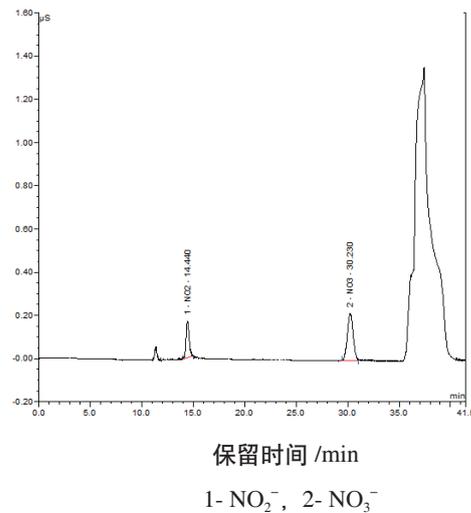


图 2 香精香料样品的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of flavor spices samples

2.3 工作曲线和检出限

按照实验方法, 配制 NO_3^- 为: 0.06 mg/L~6.0 mg/L, NO_2^- 为: 0.02 mg/L、~2.0 mg/L 标准溶液, 上离子色谱仪进行分析, 获得 NO_3^- 、 NO_2^- 的积分峰面积, 以峰面积作为纵坐标, NO_3^- 、 NO_2^- 浓度作为横坐标分别建立标准曲线, 线性回归方程分别为: $Y=0.0811X+0.0071$, $Y=0.1098X-0.0069$, 决定系数 R^2 分别为 0.9988 和 0.9990, 满足外标法定量要求。方法的检出限 (LOD) 选择用同一样品重复进样 11 次, 由测得的浓度值统计出标准偏差, LOD 以 3 倍标准偏差求得: NO_3^- 和 NO_2^- 分别为 0.010 $\mu\text{g/mL}$ 、0.006 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4 精密度和回收率

按照实验方法, 考察了同一样品重复性的相对标准偏差 (RSD%), 由表 1 中数据看出, 本方法具有良好的精密性。方法的回收率实验采用基质加标法, 在样品中加入 NO_3^- 和 NO_2^- 标准品, 按照实验方法操作, 测得低、中、高加标 3 个水平下的 NO_3^- 和 NO_2^- 含量值, 每个水平平行测定 3 次; 测定结果见表 1, NO_3^- 和 NO_2^- 的平均回收率分别为 95.4%, 90.6%。

表 1 方法的检出限、精密度和回收率

Tab. 1 Detection limit, precision and recovery rate

名称	NO_3^-	NO_2^-
检出限 / ($\mu\text{g/mL}$)	0.010	0.006
精密性 (n=7, RSD/%)	3.42	4.61
原含量 / ($\mu\text{g/mL}$)	1.02	0.16
加入量 1 / ($\mu\text{g/mL}$)	0.50	0.08
加入量 2 / ($\mu\text{g/mL}$)	1.00	0.16
加入量 3 / ($\mu\text{g/mL}$)	1.50	0.32
测定量 1 / ($\mu\text{g/mL}$)	1.48	0.23
测定量 2 / ($\mu\text{g/mL}$)	1.99	0.31
测定量 3 / ($\mu\text{g/mL}$)	2.48	0.45
回收率 1%	92.0	87.5
回收率 2%	97.0	93.8
回收率 3%	97.3	90.6
平均回收率 /%	95.4	90.6

2.5 实际样品的检测结果

采用该方法分析了 30 种烟用香精香料样品, 结果(表 2)表明, 30 种烟用香精香料样品中的含量($\mu\text{g/g}$) 范围为: NO_3^- : 0 ~ 16.25, NO_2^- : 0 ~ 0.92。食品卫生要求严格控制硝酸根和亚硝酸根的含量, 一般 NO_3^- 含量小于 $289 \mu\text{g/g}$, NO_2^- 不得超过 $33 \mu\text{g/g}$ ^[13], 由数据可以看出, 烟用香精香料中硝酸根和亚硝酸根的含量均远小于食品卫生限量要求。

表 2 香精香料样品中 NO_3^- 、 NO_2^- 分析结果 $\mu\text{g/g}$
Tab. 2 NO_3^- 、 NO_2^- in flavor spices samples

样品编号	NO_3^-	NO_2^-
1	10.16	0.14
2	13.52	0.92
3	15.27	N.D
4	N.D	N.D
5	N.D	N.D
6	11.20	0.42
7	12.75	N.D
8	N.D	N.D
9	11.34	N.D
10	14.22	N.D
11	16.25	0.26
12	N.D	0.35
13	N.D	0.47
14	N.D	N.D
15	N.D	N.D
16	N.D	0.42
17	N.D	0.26
18	N.D	N.D
19	N.D	N.D
20	N.D	0.46
21	N.D	0.16
22	N.D	N.D
23	N.D	N.D
24	N.D	0.32
25	N.D	0.22
26	N.D	N.D
27	N.D	N.D
28	N.D	N.D
29	N.D	N.D
30	N.D	N.D

注: N.D 表示未检出。

3 结论

本文建立了离子色谱法测定烟用香精香料中的 NO_3^- 和 NO_2^- 含量的方法, 采用该方法测定了 15 个烟用香精香料样品。结果表明: ① NO_3^- 和 NO_2^- 的检出限、回收率、相对标准偏差(RSD%)及线性范围分别为 0.010 和 0.006 $\mu\text{g/mL}$, 95.4% 和 90.6%, 3.42% 和 4.61%, 0.06 ~ 6.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.02 ~ 2.0 $\mu\text{g/mL}$; ② 普查分析的 30 个烟用香精香料样品中 NO_3^- 和 NO_2^- 的含量均远小于食品卫生限量要求。该方法具有快速、灵敏、简便等优点, 适合于烟用香精香料样品中 NO_3^- 和 NO_2^- 的测定。

参考文献

- [1] 虞苏行, 吴名剑, 李辉, 等. 离子色谱法同时测定烟叶中的 6 种无机阴离子 [J]. 烟草科技, 2006(11): 37-39.
- [2] 吴玉萍, 王东丹, 杨金辉. 离子色谱法检测烟叶中的 NO_3^- 、 NO_2^- 、 Cl^- [J]. 化学分析计量, 2002, 2(11): 32-34.
- [3] 俞芸, 施文健, 杨凝非. 磺胺-N-苯基 J 酸分光光度法测定亚硝酸盐研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(3): 573-576.
- [4] 孟令晶, 李勇, 卢兵, 等. 固相反射散射分光光度法测定亚硝酸根 [J]. 化学工程师, 2010, 176(5): 28-30.
- [5] 田大民, 刘向云, 李晓, 等. 可见分光光度法测定酸腌菜中亚硝酸根的含量 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(10): 5312-5314.
- [6] 唐清华, 陈玉静. 双波长催化光度法测定痕量亚硝酸根 [J]. 分析科学学报, 2010, 26(3): 370-372.
- [7] 李鑫, 李伟, 党玉丽, 等. 蔬菜中痕量亚硝酸盐的偶合发光分析法 [J]. 河南科学, 2007, 25(1): 52-54.
- [8] 石杰, 马海鸣, 王瑞勇, 等. 流动注射化学发光法测定过氧亚硝酸根的研究 [J]. 光谱实验室, 2011, 28(1): 192-194.
- [9] 范彩玲, 王彩霞, 姜志宏, 等. 化学发光法测定卤肉中的亚硝酸根 [J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(6): 684-685.
- [10] 冯珍鸽, 蔡慧农, 王力, 等. 腌制食品中亚硝酸盐的电化学检测 [J]. 中国食品学报, 2011, 11(2): 192-194.
- [11] 胡浩光, 王耀, 谢翠美, 等. 连续流动分析法测定环境水样中痕量亚硝酸盐 [J]. 现代仪器, 2010(6): 68-70.
- [12] YC/T 375-2010 烟用添加剂 环己基氨基磺酸钠的测定 离子色谱法 [S].
- [13] 朱岩, 岳伟民, 朱利中. 离子色谱法(紫外检测)测定肉制品中的硝酸根和亚硝酸根 [J]. 色谱, 1991, 9(6): 392-394.