

在线渗析 - 离子色谱联用同时测定熟肉制品中的亚硝酸盐和硝酸盐

姚 敬^{1,2}, 杭义萍^{1,*}, 钟志雄², 陈 明², 李 敏²

(1. 华南理工大学化学与化工学院, 广东 广州 510640; 2. 广东省疾病预防控制中心, 广东 广州 510300)

摘 要: 采用在线渗析技术与离子色谱法联用测定熟肉制品中的亚硝酸盐和硝酸盐。样品经纯水振荡、超声提取后, 离心所得的上清液过 Ag 柱经在线渗析后进入分离柱, 采用 Metrosep A Supp 4 阴离子交换柱, 以 1.8mmol/L Na_2CO_3 溶液与 1.7mmol/L NaHCO_3 溶液作为淋洗液, 用化学抑制型电导检测器检测。方法中 NO_2^- 和 NO_3^- 的检测限为 0.004mg/L 和 0.005mg/L, 样品加标回收率在 88%~105% 之间。该法快速、灵敏、准确, 高效自动化, 可同时测定熟肉制品中的亚硝酸盐和硝酸盐含量。

关键词: 离子色谱法; 渗析; 熟肉制品; 亚硝酸盐; 硝酸盐

Simultaneous Determination of Nitrite and Nitrate in Cooked Meat by On-line Dialysis-ion Chromatography

YAO Jing^{1,2}, HANG Yi-ping^{1,*}, ZHONG Zhi-xiong², CHEN Ming², LI Min²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

2. Center for Disease Control and Prevention of Guangdong Province, Guangzhou 510300, China)

Abstract: A new method based on the combination of on-line dialysis and ion chromatography was established for measuring nitrite and nitrate in cooked meat. Samples were suspended in water, extracted in ultrasonic bath and centrifuged. The resulted supernatant was then subjected to on-line treatment with dialysis before being injected into Ag column. Nitrite and nitrate were separated on a Metrosep A Supp 4 anion exchange column using an eluent composed of a mixed aqueous solution of 1.8 mmol/L Na_2CO_3 and 1.7 mmol/L NaHCO_3 and monitored using suppressed conductivity detector. The limits of detection of this method for nitrite and nitrate were 0.004 mg/L and 0.005 mg/L, respectively. The average recoveries were in the range of 88%—105%. This method presents the benefits of rapidity, high sensitivity and precision and easy performance, thereby providing a promising approach for simultaneous determination of nitrite and nitrate in cooked meat.

Key words: ion chromatography; dialysis; cooked meat; nitrite; nitrate

中图分类号: O657.75; TQ028.72

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)02-0187-04

近年来, 随着食品安全意识的深入民心, 卫生监管部门加强抽检各类食品的理化指标, 如发色剂、防腐剂、甜味剂、香精等。添加发色剂和防腐剂是为了肉类制品保持其鲜红的色泽, 使食品既具有独特风味, 又具有较强的抑菌作用。硝酸盐或亚硝酸盐常用来作为发色剂和防腐剂^[1]。为预防亚硝酸盐对人体潜在致癌危害, 控制其使用量和摄入量是必须的, 我国 GB 2762—2003《食品中污染物限量》也修订了食品中亚硝酸盐的限量标准。因此, 腊肠、腊肉、酱卤肉、烧烤肉等熟肉制品中亚硝酸盐和硝酸盐的检测已经成为食品抽检的重点。

目前能同时测定硝酸盐和亚硝酸盐的方法主要是离子色谱法, 欧盟已将离子色谱法规定为肉制品中亚硝酸盐、硝酸盐检测的标准方法^[2]。目前报道的测定复杂基质中的亚硝酸盐和硝酸盐常结合固相萃取法、紫外检测、二极管阵列检测法以除去干扰^[3-6], 国内将渗析技术应用于离子色谱复杂基质的样品前处理中仍不多见。固相萃取法虽能部分去除杂质, 但需离线操作, 非常费时; 离子色谱仪配置紫外检测器或二极管阵列检测器并不普及。本研究将在线渗析技术与离子色谱联用对肉制品中的硝酸盐和亚硝酸盐含量进行测定, 肉制品经采用在线渗析技术净化复杂基质, 去除蛋白质、胶质等

收稿日期: 2009-03-23

作者简介: 姚敬(1979—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品理化分析。E-mail: yiuking@21cn.com

* 通信作者: 杭义萍(1960—), 女, 副教授, 硕士, 研究方向为现代仪器分析及应用。E-mail: yphang@scut.edu.cn

大分子干扰物质,收集渗析液直接进行离子色谱仪测定,通过优化渗析和色谱条件测定不同种类熟肉制品中的亚硝酸盐和硝酸盐,达到既能保护分离柱,结果准确度又高的效果。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

熟肉制品 市售。

亚硝酸盐标准溶液(100.0mg/L)、硝酸盐标准溶液(1000.0mg/L) 国家标准物质中心;碳酸钠 香港 FARCO 公司;碳酸氢钠 日本 Nacalai Tesque 公司;SPE-Ag、SPE-H 小柱 天津富集科技公司;所用试剂均为优级纯。

Metrohm 离子色谱仪(配有 838 型自动进样装置、861 型电导检测器、838 型渗析单元、IC Net2.3 色谱工作站)瑞士万通公司;Milli-Q 超纯水器 法国 Millipore 公司;日立 CR22G 高速离心机 日本 HITACHI 公司。

1.2 色谱条件

色谱柱: Metrosep A Supp 4(250mm × 4mm, 9 μm) 阴离子交换柱, Metrosep A Supp 4/5 S-Guard 保护柱;淋洗液: 1.8mmol/L Na_2CO_3 与 1.7mmol/L NaHCO_3 混合溶液, 流速 0.8mL/min;再生液: 50mmol/L H_2SO_4 ;进样体积: 20 μL, 电导检测, 以保留时间定性, 峰面积定量。

1.3 样品的制备

将熟肉制品切碎,准确称取 3g 于 100mL 比色管中,加入 70℃ 纯水,充分溶解、振荡,超声萃取 15min,用水定容至刻度。将提取液 14000r/min 离心 8min,取上清液待测。腊肠、腊肉样品须再过串联 SPE-Ag、SPE-H 小柱,收集滤液待测。

2 结果与分析

2.1 在线渗析技术流程图

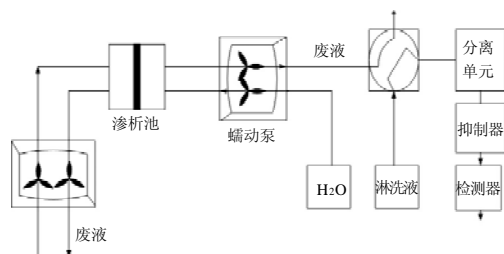


图1 在线渗析技术流程图

Fig.1 Schematic diagram of an on-line dialysis system

图1为在线渗析的流程图,其原理是基于离子和大分子经半透膜迁移的分离方法。样品溶液中除了大分子的

不溶物质,还有颗粒和胶质组分都被渗析膜保留并随废液排出^[7]。为了保护分离柱,在测定肉类食品中 NO_2^- 和 NO_3^- 前,必须萃取分离蛋白质和脂肪,而采用在线渗析技术能洗脱分子量较大的化合物,从而排除干扰,稳定柱效。

2.2 在线渗析步骤及其条件的优化

渗析池淋洗: 渗析膜为醋酸纤维膜(孔径 0.2 μm, 直径 47mm),它具有分子筛的基本功能,其孔径决定分离的选择性,能将样品液和接受液(水)分开。

在线渗析时间: 样品液连续通过渗析池,同时接受液(水)在密闭通道中保持静止,通过一段时间扩散后,膜两边的离子浓度达到平衡,这部分时间称为渗析时间。实验确定达至该平衡点需要 10~11min,为尽量减少分析时间,根据图2确定渗析时间为 10min。

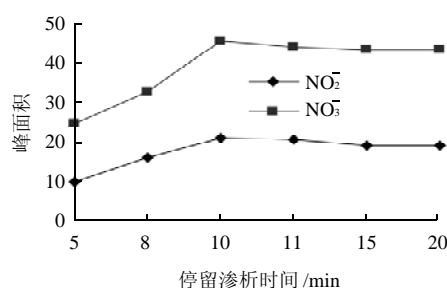


图2 停留渗析时间与峰面积关系

Fig.2 Relationship between peak area and stopped-flow dialysis time

转移时间: 渗析后泵将样品液转移至定量环,最佳转移时间受到蠕动泵流速和渗析池至定量环间距离的影响,其峰面积最大时样品可精确转移至定量环测定,从图3可知,最佳转移时间为 0.4min。

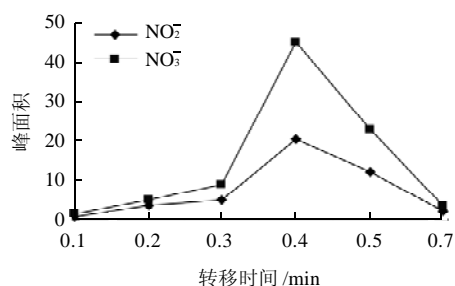


图3 转移时间与峰面积关系

Fig.3 Relationship between peak area and transfer time

净化后的样品液注射充满定量环,开始离子色谱分析。

渗析效率: 渗析效率是由 NO_2^- 和 NO_3^- 标准溶液通过渗析进样和直接进样时的峰面积之比来确定,由此本实验测得 NO_2^- 和 NO_3^- 的渗析效率分别为 97.6% 和 98.2%。建议每次使用时进行渗析效率的评估,以确定是否更换渗析膜。由于熟肉制品所含蛋白质和脂肪较高,一般分析渗析 40 次需要更换渗析膜。

2.3 工作曲线、线性范围与检出限

按1.2节实验条件,将 NO_2^- 和 NO_3^- 离子系列标准溶液渗析后进行分析测定,得到其校正曲线和相关系数,并测定检出限,结果见表1。可知,在线渗析-离子色谱联用同时测定 NO_2^- 、 NO_3^- 的线性范围宽、相关性好。

表1 NO_2^- 和 NO_3^- 的工作曲线、线性范围与检出限

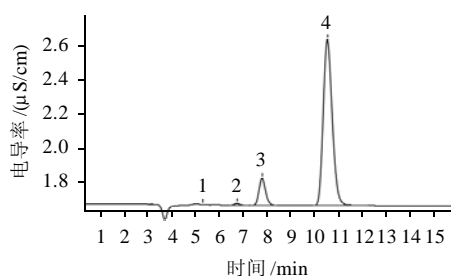
Table 1 Linear curves, linear ranges and detection limits of nitrite and nitrate by the method

离子	线性范围/(mg/L)	工作曲线	相关系数 r	检出限/(mg/L)
NO_2^-	0.005~10.0	$Y = -0.01603 + 6.206X$	0.9999	0.004
NO_3^-	0.010~20.0	$Y = -0.4524 + 5.282X$	0.9998	0.005

注: $R_{SN} = 3$ 。

2.4 样品测定

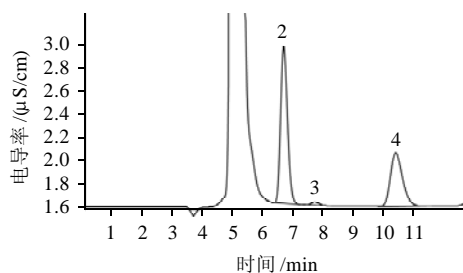
配制 NO_2^- 0.5mg/L、 NO_3^- 5.0mg/L的标准溶液经渗析后离子色谱分离见图4,可见两个目标峰分离度好,经过渗析后能在12min内完成测定。叉烧按1.3节方法处理后,提取液经渗析进样平行测定,样品的色谱分离见图5。



3. NO_2^- 0.5mg/L; 4. NO_3^- 5.0mg/L。

图4 亚硝酸盐和硝酸盐的混标溶液色谱图

Fig.4 Chromatogram of mixed standards of nitrite and nitrate



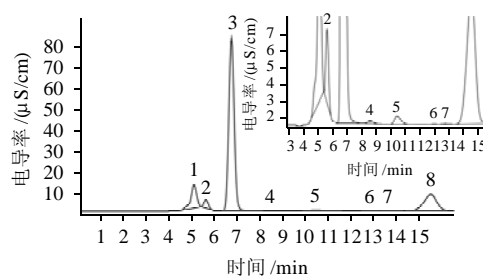
2. Cl^- 1.9mg/L; 3. NO_2^- 0.14mg/L; 4. NO_3^- 2.3mg/L。

图5 叉烧样品色谱图

Fig.5 Chromatogram of monitoring nitrite and nitrate in a barbecued pork sample with chlorine ion removal using SPE-Ag + H column

对于盐分高的肉制品,高浓度的氯化物会覆盖 NO_2^- 的色谱峰(图6),本实验考察了使用SPE-Ag + H柱去除

Cl^- 干扰的效果:当未使用Ag柱时,高质量浓度的 Cl^- 几乎完全覆盖低质量浓度的 NO_2^- ,无法检测出亚硝酸盐的含量(图6的放大图解),从而影响检测方法的选择性。使用了SPE-Ag + H柱后,去除 Cl^- 干扰的效率达 $(70 - 1.9)/70 = 97.3\%$,大大提高了检测高盐分样品中亚硝酸盐的灵敏度。结果表明,当样品 Cl^- 质量浓度 $\geq 20\text{mg/L}$ 时,样品需去除 Cl^- 干扰,前处理时将离心后的上清液再用SPE-Ag + H柱净化,净化后的滤液才可直接渗析进样。



3. Cl^- 70mg/L; 5. NO_3^- 2.3mg/L。

图6 未使用SPE-Ag + H柱除 Cl^- 的叉烧样品色谱图及其局部放大图
Fig.6 Full and partially enlarged chromatogram monitoring nitrite and nitrate in a barbecued pork sample without chlorine ion removal using SPE-Ag+H column

2.5 重现性与回收率

将同一 NO_2^- 、 NO_3^- 混合标准连续进样测定8次, NO_2^- 和 NO_3^- 的峰面积平均值分别为 1.912 ± 0.061 、 27.4 ± 0.679 ,相对标准偏差(RSD)分别为3.2%、2.5%。

在5种不同种类的熟肉样品液中添加不同含量的混合标准溶液,按上述实验方法步骤处理测定,其回收率均在88%~105%之间(表2)。

表2 样品回收率实验结果

Table 2 Recoveries for nitrite and nitrate in various spiked cooked meat products

样品	本底值/(mg/kg)		加标量/(mg/kg)		测定值/(mg/kg)		回收率/%	
	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-
烧鸡	0.33	25.9	1.0	25.0	1.21	48.6	88.0	90.8
叉烧	4.8	81.4	5.0	100	9.50	180.6	94.0	99.1
卤鸭	0.65	32.6	1.0	25.0	1.62	58.3	97.0	103
广式腊肠	7.9	73.0	5.0	100	12.8	170	98.0	97.0
腊肉	11.4	129	10.0	100	20.4	235	90.0	105

3 结论

本研究应用在线渗析技术进行预处理,与离子色谱联用直接进样同时测定熟肉制品中的亚硝酸盐和硝酸盐,通过渗析过程去除蛋白质等杂质,保护分离柱,准确度高、检出限低,得到了较满意的结果,是一种操作简单快速、测定结果准确的方法。

参考文献:

- [1] 杨惠芬. 食品卫生理化检验标准手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 1997: 370.
- [2] European committee for standardization. BS EN 12014 — 4:2005 Ion-exchange chromatographic (IC) method for the determination of nitrate and nitrite content of meat products[S].
- [3] 许淑霞, 刘丽梅, 张勇, 等. 化妆品中7种阴离子的固相萃取-离子色谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(2): 25-27.
- [4] 李月欢, 黄丽, 杨敏, 等. 二极管阵列检测离子色谱法测定水中 NO_2^- 、 Br^- 、 NO_3^- [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(7): 1258-1260.
- [5] 黄丽, 刘京平. 在线渗析-离子色谱法测定牛乳中阴离子[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(1): 37-38.
- [6] 姚敬, 钟志雄. 紫外检测离子色谱法测定酱腌菜中的亚硝酸盐、硝酸盐[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(3): 306-308.
- [7] 徐霞, 应兴华, 段彬伍, 等. 膜渗透与离子色谱联用技术测定蔬菜中亚硝酸盐和硝酸盐[J]. 分析化学, 2007, 35(11): 1586-1590.