

免试剂离子色谱法测定变质甘蔗中 3-硝基丙酸

邵国健 韩建康 吴丹青

(浙江省湖州市疾病预防控制中心 浙江湖州 313000)

[摘要] 目的: 建立变质甘蔗中 3-硝基丙酸(3-NPA)的简便快速离子色谱法。方法: 利用 dionex1500 型离子色谱仪, 选用 AS19 阴离子分析柱 20 mmol KOH 淋洗液, 流速为 1.00 ml/min, 电导检测器。样品用纯水超声提取后, 经高速离心 0.2 μ m 滤膜过滤后直接进样。结果: 本法相关性好($r=0.9998$), 精密度高($RSD < 3.0$), 样品平均加标回收率为 96%~102%, 定性检出限为 0.03 mg/kg, 定量检出限为 0.08 mg/kg。结论: 该方法简便快速、灵敏度高、选择性强, 适用于变质甘蔗食物中毒分析。

[关键词] 离子色谱法; 变质甘蔗; 3-硝基丙酸

[中图分类号] O657.7⁺5

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-8685(2012)04-0711-02

Derermination of 3-nitropropionic acid in mildew sugarcane by free reagent ion chromatography

SHAO Guo-jian, HAN Jian-kang, WU Dan-qing

(Huzhou Center for Disease Control and Prevention, Huzhou 313000, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a simple and quick method for determination of the 3-Nitropropionic Acid in mildew sugarcane by ion chromatography. **Methods:** The ion chromatograph Dionex 1500 and AS19 analytical column and conductivity detector were applied. Using 20 mmol KOH as eluent, the flow rate was 1.00 ml/min. After ultrasonic extraction with pure water, the mildew sugarcane samples were centrifuged at a high speed, then filtered through a 0.2 μ m membrane, finally injected directly. **Results:** This method exhibited excellent relativity ($r = 0.9998$) and good analytic precision ($RSD < 3.0$). The samples' average recovery rates were in the range of 96%~102%. The detection limit (LOD) of the method was 0.03 mg/kg, and the limit of quantification (LOQ) was 0.08 mg/kg. **Conclusion:** This method was convenient, fast, sensitive and practical. It can be applied to the analysis for food poisoning of mildew sugarcane.

[Key words] Ion chromatography; Mildew sugarcane; 3-NPA

变质甘蔗中的节菱孢菌所产生的 3-硝基丙酸(3-nitropropionic acid, 3-NPA)是一种毒力强的嗜神经毒素, 选择性损害基底节与皮质, 后期损害白质, 髓鞘损伤明显, 且毒力稳定, 加热和消毒剂处理后毒力不减, 没有免疫性^[1]。我国从变质甘蔗中分离到的甘蔗节菱孢、蔗生节菱孢霉菌等菌种具有产生 3-NPA 的能力。3-NPA 是流行于我国大多沿海省份的变质甘蔗中毒的病因。近年来国内因为食用变质甘蔗而引起的中毒事件常有发生。1996 年发布的卫生部行业标准 WS/T 10-1996《变质甘蔗食物中毒诊断标准及处理原则》以从变质甘蔗中分离出节菱孢和 3-NPA 为判断原则^[2], 而 3-NPA 的测定方法为薄层层析法, 该法样品提取繁琐、需要使用毒性大的有机溶剂、干扰较多, 且只能进行半

定量测定。本法应用免试剂离子色谱法测定甘蔗中的 3-NPA, 实验结果证明免试剂离子色谱法测定甘蔗中的 3-NPA 的方法简便快速、灵敏度高、选择性强等优点, 能获得满意的检测结果。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

ICS1500 免试剂离子色谱仪(DIONEX)配备淋洗液自动发生器 RF30; Beckman 高速离心机等。

3-NPA: 纯度 $\geq 97.0\%$ 。3-NPA 标准储备液: 准确称取 0.1000g 3-NPA, 用少量纯水溶解后, 定容至 100 ml, 为 1.00 mg/ml 标准储备溶液, 于 4℃ 冰箱保存。氟、氯、硝酸根、硫酸根均为 1.00 mg/ml (购于中国计量科学研究所)。超纯水(MILLIPORE 公司 Milli-Q)。0.2 μ m 一次性微孔滤膜过滤器(天津希波氏)。

【作者简介】邵国健(1975-), 男, 本科, 主管技师, 主要从事理化检验研究。

1.2 色谱条件

色谱柱: IonPac AS19 阴离子交换分析柱, 250 × 4 mm; IonPac AG19 保护柱, 50 × 4 mm; 淋洗液 10 mmol/L ~ 35 mmol/L KOH; 流速: 1.0 ml/min; 进样量: 25 μ l。

1.3 样品处理

称取去皮后切碎挤压得到的甘蔗汁或搅碎甘蔗样品 10 g, 加水定容至 100 ml。超声提取 15 min, 定量滤纸过滤, 取滤液经 5000 rpm 高速离心后用 0.2 μ m 微孔滤膜过滤备用。与标准溶液在同一条件下测定, 外标法定量, 同时做空白试验。

1.4 标准曲线绘制

取 3-NPA 标准储备溶液 1.00 mg/ml, 用纯水稀释至 0.1 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、50.0 mg/L 标准系列溶液, 直接上样检测。以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

2 结果与讨论

2.1 淋洗液梯度的选择

免试剂离子色谱使用在线淋洗液发生器进行淋洗液的制备, 整个分析过程中不需要化学试剂、消除人工配制溶液以及试剂杂质等误差之外, 突出的优点是产生无污染的所需浓度的淋洗液, 消除了二氧化碳的干扰, 提高了灵敏度和重现性。本法使用 20 mmol/L 氢氧化钾淋洗液等度淋洗检测甘蔗样品 3-NPA 能得到很好的分离。淋洗液梯度淋洗程序见表 1。甘蔗样品分离图谱见图 1。

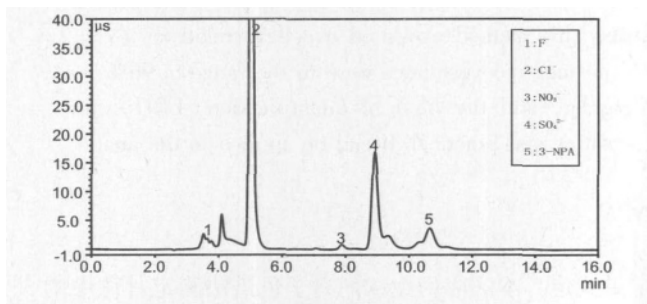


图 1 甘蔗样品分离图谱

2.2 进样体积的选择

分别以 25 μ l 和 300 μ l 进行进样分离, 结果两种进样体积在上述梯度淋洗程序中均能得到很好的分离, 由于 25 μ l 进样已经能满足检测需要, 故选择 25 μ l 小体积进样。

2.3 线性范围和检出限

依次测定 0.1 μ g/ml ~ 50 μ g/ml 浓度 3-NPA, 以峰

面积对相应的进样浓度 (μ g/ml) 进行线性回归, 具有良好的线性, 相关系数 $r=0.9998$ 。当取样量为 10 g, 纯水定容至 100 ml, 进样量为 25 μ l 时, 定性检出限 (3 倍信噪比) 为 0.03 mg/kg, 定量检出限 (10 倍信噪比) 为 0.08 mg/kg。

2.4 回收率和精密度

对加标 (10 g 甘蔗样品中加入 100 μ g、1000 μ g 的 3-NPA) 的回收率范围在 96% ~ 102%, 以相同浓度加标样品测定 6 次, 获得的相对标准偏差为 2.0%、1.2%。

2.5 干扰试验

甘蔗样品中的存在一定量高浓度的氯和硫酸根离子, 相邻离子间容易产生干扰。因此, 配制浓度为 1.0 mg/L 的氟、氯、硝酸根、硫酸根和 3-NPA 的标准溶液进行分离测定, 实验表明, 高浓度的氯离子和硫酸根离子都得到很好的分离, 其他阴离子对 3-NPA 测定不会造成影响, 分离图谱见图 2。

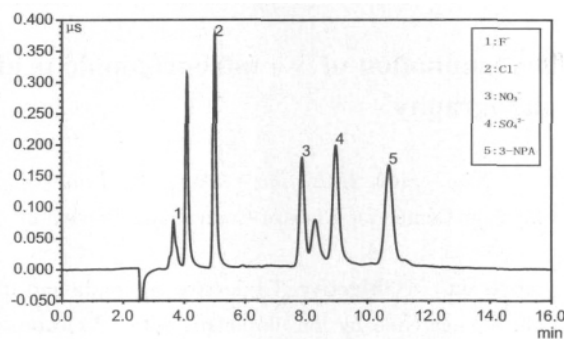


图 2 干扰试验

3 结论

通过优化实验条件, 建立了免试剂离子色谱法快速测定变质甘蔗中 3-NPA 的检测方法, 其检出限完全能满足实际监测的要求, 且样品中其它离子不会对 3-NPA 的测定产生干扰。整个分析过程中不使用有毒化学试剂、操作简便, 只需要使用超纯水和商品化的氢氧化钾淋洗液, 不影响检验人员的健康。该方法简便快速、灵敏度高、选择性强, 既可用于变质甘蔗食物中毒分析, 也可用于甘蔗中 3-NPA 的日常监测。

[参考文献]

- [1] 张永秋, 朱艳清, 张福琛. 霉变甘蔗致迟发性中毒性脑病两例[J]. 罕少疾病杂志, 2011, 18(4): 50-51.
- [2] WS/T10-1996. 变质甘蔗食物中毒诊断标准及处理原则[S]. (收稿日期: 2011-11-21)