

Determination of Bromate and Bromide in Flour by Ion Chromatography Coupled with Accelerated Solvent Extraction Technique

Huili LU¹, Yanwen WU², Jie OUYANG^{1*}, Hui YOU², Lingling LIU¹

¹ Department of Food Science and Engineering, College of Biological Sciences and Technology,
Beijing Forestry University, Beijing, China, 100083

² Beijing Center for Physical and Chemical Analysis, Beijing, China, 100089

Email: luhuil1@163.com

Abstract: A method for the determination of bromate and bromide in flour was developed by ion chromatography (IC) coupled with accelerated solvent extraction (ASE). The bromate and bromide were extracted with ultra-pure water and quartz sand as a base material at 100 °C and 10.0 MPa. The determination was performed in a Shodex IC SI-52 4E (250 mm×4.0 mm) analysis column (45 °C) by 300 μL injection and using 3.6 mM Na₂CO₃ as a mobile phase with the flow rate of 0.7 mL/min. A good linearity of binary mixtures of bromate and bromide was obtained within the range of 1.00~6.00 mg/kg ($r > 0.9995$). The limit of detection for the method was 2.1 μg/kg. The average recoveries of both bromate and bromide were ranged from 94.06%~102.77% with the relative standard deviations of less than 3% ($n=6$). This method was rapid, accurate, simple and able to meet the testing requirements.

Key words: Flour; Bromate; Bromide ion; Ion chromatography (IC); Accelerated solvent extraction (ASE)

快速溶剂萃取-离子色谱法测定面粉中的 溴酸盐与溴离子的含量

路会丽¹, 武彦文², 欧阳杰^{1*}, 游辉², 刘玲玲¹

¹北京林业大学生物科学与技术学院食品科学与工程系, 北京, 中国, 100083

²北京市理化分析测试中心, 北京, 中国, 100089

Email: luhuil1@163.com

摘要: 建立了测定面粉中溴酸盐与溴离子的快速溶剂萃取-离子色谱法。用超纯水为淋洗液, 石英砂为基质在 100 °C、10.0 MPa 条件下用快速溶剂萃取仪提取面粉样品中的溴酸盐和溴离子, 采用 Shodex IC SI-52 4E 型分析柱 (250 mm×4.0 mm) 分离, 淋洗液为 3.6 mM Na₂CO₃, 流速 0.7 mL/min, 柱温为 45 °C, 进样 300 μL。该方法在 1.00~6.00 mg/kg 范围内线性关系良好 ($r > 0.9995$), 最低检出限为 2.1 μg/kg, 加标回收率在 94.06%~102.77% 范围内, 相对标准偏差小于 3% ($n=6$)。本文建立方法快速、准确、简便, 能够满足检测要求。

关键词: 面粉; 溴酸盐; 溴离子; 离子色谱; 快速溶剂萃取

溴酸盐常被用于小麦粉品质的改良剂, 这是因为溴酸钾在面团发酵、醒发、烘焙过程中能起着慢性氧化剂的作用, 可以显著改善面团的流变学特性, 增加面团的筋力、弹性和延伸性, 提高烘焙制品的效果和口感等。然而, 随着科技的进步, 溴酸盐的毒性越来越受到人们关注。日本于 1976 年发表研究表明, 溴酸钾的致突变性试验、修复试验和染色体异常试验均呈阳性^[1]。1992 年, 世界卫生组织确认溴酸根是一种氧

化性致癌物, 主要能导致动物的肾和膀胱组织发生癌变^[2-4]。长期以来, 人们一直认为, 只要添加和烘焙条件适当, 溴酸钾将转化成惰性、无害的溴离子。但是, 随着分析技术的发展, 尤其是色谱检测能力的增强, 已有的研究表明烘焙后的面制品中仍残留着 0.02~0.3 mg/kg 的溴酸根^[5-10]。近十年来发达国家先后颁布了禁用溴酸钾作为面粉改良剂的政令, 中国卫生部[2005] 9 号令宣布自 2005 年 7 月 1 日起我国全面禁止使用溴

酸钾作为面粉处理剂^[11]。

快速溶剂萃取 (Accelerated Solvent Extraction, ASE), 是一种在高温高压下提取样品中有机组分的新方法, 它通过维持体系的高压状态, 使溶剂在高温下不发生汽化, 克服了常压法萃取时提取温度的限制。另外, 通过控制仪器的程序, 可以使样品的提取和分离过程自动完成, 从而缩短样品的提取时间, 提高提取效率^[12-13]。快速溶剂萃取技术具有溶剂用量少、提取时间短和高度自动化的优点, 已被美国 EPA 收录为处理部分样品的标准方法之一, 并应用于土壤、食品、药物等样品中残留物的提取^[14-15]。本文建立以快速溶剂萃取法提取, 离子色谱法测定面粉中溴酸盐与溴离子的含量。此法提取简便、效率高, 回收率满足定量测定的要求。

1. 实验部分

1.1 仪器与试剂

APLE-2000 快速溶剂萃取仪 (北京吉天仪器有限公司), CIC-200 型离子色谱仪 (青岛盛瀚公司), 配有抑制性电导检测器, Millipore 纯水仪 (美国)。

KBrO₃ 标准品 (Sigma-Aldrich 公司, 纯度 >99.8%); 1000 mg/L 的溴离子标准溶液 (北京纳克分析仪器有限公司); Na₂CO₃ (上海山浦化工有限公司, 纯度 >99.96%), 在配制溶液时均使用超纯水 (18.2 MΩ/cm)。

样品: 面粉, 饺子粉, 发酵粉 (购于超市)。

1.2 样品处理

称取 3 g 石英砂装入 11 mL 萃取池, 再称取 0.5 g 面粉样品与 3 g 石英砂混合装入 11 mL 萃取池。快速溶剂萃取条件: 溶剂为高纯水, 萃取温度 100℃, 萃取压力 10 MPa, 加热时间 300 s, 静态萃取时间 300 s, 循环次数 2 次, 淋洗体积 60% (每次循环新加入到样品中的萃取液的比例), 氮吹时间 60 s。将萃取后的溶液定容至 50 mL, 依次经 0.45 μm 水膜, C₁₈ 小柱, Ag/H 柱后进样。

1.3 标准溶液的配制

称取 0.6523 g KBrO₃ 于 500 mL 容量瓶定容, 配制成 1000 mg/L 的溶液, 在 4℃ 条件下避光保存; 将 1000 mg/L KBrO₃ 与 KBr 标准溶液混合后稀释成浓度为 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mg/kg 的系列混合标准溶液。

1.4 色谱条件

离子色谱柱: Shodex IC SI-52 4E 型分析柱 (250 mm×4.0 mm); 淋洗液: 3.6 mM Na₂CO₃; 流速: 0.7 mL/min; 柱温: 45℃; 进样量: 300 μL。电流: 65 mA。

1.5 方法学考察

对添加标样的样品在 1.0~6.0 mg/kg 的浓度范围内做该分析方法的工作曲线, 按 1.4 色谱条件测定对照品系列标准溶液, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 计算校准曲线回归方程、确定线性范围、以信噪比为 3 计算检出限。

在 0.5 g 样品中分别添加一定量的溴酸盐溴离子混合标准溶液, 使样品中分别含有 1.0 和 6.0 mg/kg 两个水平含量, 按照本实验方法进行提取及测定。每个水平重复测定 3 次, 同时做空白实验, 分别计算加标样品的平均回收率 (n=3)。

2. 结果与讨论

2.1 快速溶剂萃取条件的选择

2.1.1 萃取温度的选择

萃取时提高温度即增加了溶剂进入样品基体的扩散, 降低溶剂与样品基体之间的表面张力, 从而使溶剂溶解待测物的容量增加, 也就使得萃取量增加。本文在 50℃、75℃、100℃、125℃、150℃ 条件下分别提取样品中的溴酸盐, 结果表明: 随着温度的升高回收率也在增加, 当温度由 50℃ 升高至 100℃ 时回收率数值明显增加, 但由 100℃ 升高至 150℃ 时回收率数值变化不大, 故选取 100℃ 作为萃取温度。

2.1.2 萃取时间的选择

增加静态萃取时间可提高萃取效率, 但降低了工作效率, 为此, 本文在萃取压力 10.0 MPa, 萃取温度 100℃, 加热时间 3 min, 氮吹 60 s, 淋洗体积 60% 的条件下分别萃取 1~10 min。结果表明: 静态萃取时间 5 min 时即可达到较理想的效果。综合考虑到萃取效果和萃取时间, 循环次数选 2 次为宜。

根据上述研究表明: 利用快速溶剂萃取面粉中的溴酸根离子和溴离子, 萃取条件对萃取效率有较大影响, 依次是静态萃取温度、循环次数和萃取时间, 压力对萃取效率的影响较小。

2.2 色谱条件的优化

选择 Na_2CO_3 溶液为淋洗液，洗脱能力较强，可同时检测多种阴离子。电导抑制器将 Na_2CO_3 转化为弱电导的 H_2CO_3 以降低背景电导突出待测离子的电导从而提高检测灵敏度。选择 3.6 mM Na_2CO_3 溶液为淋洗液可以得到较好的保留时间重现性，较低的背景电导和检出限。分析样品时，淋洗液流速慢，检测灵敏度高，分离效果好，但所需时间较长；淋洗液流速快，所需时间短，但检测灵敏度有一定程度的降低，分离效果不好，所以，本次实验选用的淋洗液流速为 0.7 ml/min，各个离子分离良好（如图 1-2 所示）。

由于面粉样品中含有大量的 Cl^- ，当 Cl^- 浓度高时对于溴酸根离子的检测会产生干扰。因此要准确测定溴酸根离子、溴离子就必须选择合适的前处理方法，使待测组分和干扰离子能有效分离。对于氯离子含量高的样品，需通过银预处理柱以消除氯离子的影响。

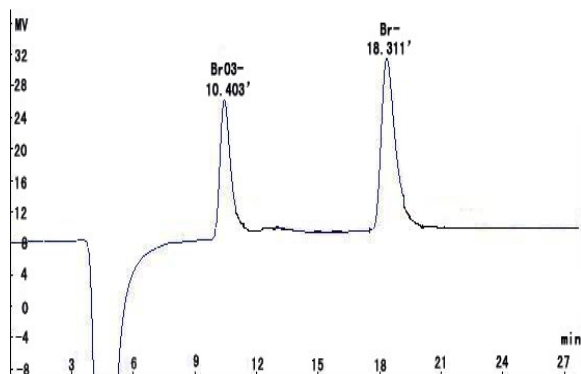


Figure 1 Ion chromatogram of binary mixtures of bromate and bromide ion(1mg/kg)

图 1 BrO_3^- 和 Br^- 标准溶液离子色谱图 (1mg/kg)

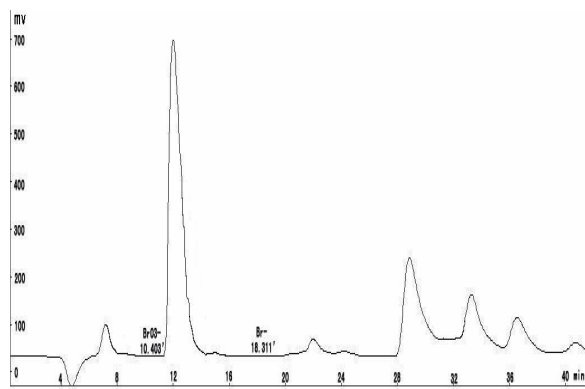


Figure 2 Ion chromatogram of sample

图 2 样品的离子色谱图

2.3 回归方程、线性范围及检测限

按 1.4 色谱条件测定对照品系列标准溶液，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，计算校准曲线回归方程、确定线性范围、以信噪比为 3 计算检出限。得到的线性回归方程分别为：溴酸根离子： $Y=9.57 \times 10^5 X - 4.379 \times 10^5$ ，线性相关系数 $r=0.9999$ ；溴离子： $Y=1.18 \times 10^6 X - 1.482 \times 10^5$ ，线性相关系数 $r=0.9997$ 。试验表明，两种离子在 1.0~6.0 mg/kg 范围内呈良好的线性关系。将标准液逐级稀释进样，测其峰高响应值及基线噪音强度，以 3 倍信噪比计算检出限为 2.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.4 精密度试验

吸取混合标准对照品溶液，按 1.4 色谱条件重复进样 6 次，每次 300 μL ，测得两种离子峰面积的相对标准偏差 (RSD) 为 1.39% 和 1.29% ($n=6$)，保留时间的相对标准偏差 (RSD) 为 0.39% 和 0.29% ($n=6$)。结果表明该分析方法具有良好的精密度。

2.5 加标回收率试验

在 0.5 g 样品中分别添加一定量的溴酸盐溴离子混合标准溶液，使样品中分别含有 1.0 和 6.0 mg/kg 两个水平含量，按照本实验方法进行提取及测定。每个水平重复测定 3 次，同时做空白实验，分别计算加标样品的平均回收率 ($n=3$)，所得结果见表 1。平均回收率为 94.06%~102.77%，相对标准偏差为 1.4639%~4.3343%。

Table 1. Recovery of BrO_3^- and Br^- from samples ($n=3$)

表 1. 样品加标回收率 ($n=3$)

标准物质	加标水平			
	1.0 mg/kg		6.0 mg/kg	
	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
BrO_3^-	94.0633	1.5174	95.2722	4.3343
Br^-	102.77	1.4639	100.9778	2.0834

3. 结论

本文建立了面粉中溴酸盐和溴离子的快速溶剂萃取-离子色谱检测方法。通过对实验条件的筛选和优化，确定了快速溶剂萃取条件和色谱条件。测定结果表明该方法简便、快捷、准确、灵敏度高，适用于面粉中溴酸盐和溴离子含量的测定。

References (参考文献)

- [1] Zhu Jinzhen, Liu Guang-xin, Determination of potassium bromate[J], *China Food Additives*, 2006, 3, P155-158(Ch).
朱金珍, 刘广新, 溴酸钾检测方法浅议[J], *中国食品添加剂*, 2006, 3, P155-158.
- [2] Fisher N, Hutchinson J. B, Berry, R, et al. Long-term toxicity and carcinogenicity studies of the bread improver potassium bromate I studies in rats[J]. *Food Cosmet Toxicol*, 1979, 17: 33-39.
- [3] Ginocchio, A V, Waite, V, Hardy J, et al. Long-term toxicity and carcinogenicity studies of the bread improver potassium bromate 2 studies in mice[J]. *Food Cosmet Toxicol*, 1979, 17: 41-47.
- [4] Li Ning, Potassium bromate safety toxicology[J], *Foreign Medical Sciences(Section Hygiene)*, 2006, 33(1), P44-46(Ch).
李宁, 溴酸钾的安全性毒理学研究进展[J], *国外医学卫生学分册*, 2006, 33 (1), P44-46.
- [5] OYAMADA N, KMBOTA K, VENO S, et al. Determination of bromate in foods by gas chromatography[J]. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 1984, 24: 563.
- [6] K. Himata, M. Noda, S. Ando, et al. Measurement of Bromate in Bread by Liquid Chromatography with Post - Column Flow Reactor Detection [J]. *Journal of AOAC international*, 2000, 83 (2) : 347-355.
- [7] Y. Kawasaki, H. Kubota, C. Yomota, et al. Improved sensitive determination method for bromate in bread [J]. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 2002, 43(4) : 221-224.
- [8] K. Himata, M. Noda, S. Ando, et al. Measurement of Bromate in Bread by High Performance Liquid Chromatography with Post - Column Flow Reactor Detection[J]. *Food Addit Contam.* 1997, 14(8): 809-818.
- [9] K. Himata, T. Kuwahara, S. Ando, et al. Measurement of Bromate in Bread by capillary gas chromatography with a mass detector (GC/MS) [J]. *Food Addit Contam*, 1994, 11(5): 559-569.
- [10] M. Dennis, A. Burrell, K. Mathieson, et al. The determination of the flour improver potassium bromate in bread by gas chromatographic and ICP - MS methods [J]. *Food Addit Contam*, 1994, 11(6): 633-639.
- [11] Pan Wei, Zheng Shunli, YU Lijun, et al., The formulation and application of determining the bromate in wheat flour[J], *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2008, 16(2): P59-63(Ch).
潘炜, 郑顺利, 于利军等, 小麦粉中溴酸盐测定方法的制定及应用[J], *粮油食品科技*, 2008, 16(2), P59-63.
- [12] Lil Qin, Huang Yun, Tang Qinxiu, Determination of the 19 PCB Congeners in Soil by GC-ECD with ASE[J], *The Administration and Technique of Environmental Monitoring*, 2008, 20(6), P37-39(Ch).
李琴, 黄云, 唐琴秀, 快速溶剂提取-气相色谱法测定土壤中19种多氯联苯单体[J], *环境监测管理和技术*, 2008, 20 (6), P37-39.
- [13] Fan Yuanmu, Huang Shaotang, Yu Xuejun, Determination of difluzenuron and triflumuron residues in greasy wool by accelerated solvent extraction technique and high performance liquid chromatography[J], *Chinese Journal Of Chromatography*, 2009, 27(4), P463-466(Ch).
樊苑牧, 黄绍棠, 俞雪钧, 快速溶剂萃取-高效液相色谱法测定含脂羊毛中残留的除虫脲和杀铃脲[J], *色谱*, 2009, 27 (4), P463-466.
- [14] Ye Mingli, Zhu Yan, Application of Accelerated Solvent Extraction (ASE) on the Analysis of Food and Pesticide Residue [J], *Modern Scientific Instruments*, 2003, (1), P35-36(Ch).
叶明立, 朱岩, ASE 加速溶剂萃取技术在食品、农残方面的分析应用[J], *现代科学仪器*, 2003, (1), P35-36.
- [15] Cui Yanhong, Ju Tianzhen, Cao Jun et al., Measurement of Semi-Volatile Organic Compounds in Vegetables Using Accelerated[J], *Journal of Agro-environmental Science*, 2003, 22(3), P364-367(Ch).
崔艳红, 巨天珍, 曹军等, 加速溶剂提取法测定蔬菜中的多环芳烃和有机氯化物[J], *农业环境科学学报*, 2003, 22 (3), P364-367.