



Application Note AN-U-080

Nitriti e nitrati nei prodotti a base di carne

Solida analisi di routine con cromatografia ionica

I sali di nitrito e nitrato sono utilizzati come conservanti nella carne e nei prodotti a base di carne. Sono etichettati sugli alimenti come E 249–E 252. Questi cosiddetti sali per la stagionatura prevengono la crescita dei batteri, stabilizzano il colore della carne e ne esaltano il sapore. I sali nitrati (E 251, E 252) hanno una bassa tossicità. Tuttavia, l'esposizione a lungo termine è preoccupante, poiché la parte inferiore dell'intestino riduce i nitrati in nitriti, che è un

precursore delle nitrosammime (classificate come cancerogene) [1]. Lo stesso nitrito è classificato come probabilmente cancerogeno per l'uomo. I MPL (livelli massimi consentiti) dopo il processo di fabbricazione variano per nitrito (E 249, E 250) tra 50–180 mg/kg [2] e per nitrati tra 150–300 mg/kg [3], a seconda del prodotto. La Commissione Europea limita i nitrati e i sali di nitrito carne lavorata a meno di 150 mg/kg [4]. I metodi HPLC-UV classici spesso soffrono di picchi

asimmetrici, bassa riproducibilità sui tempi di ritenzione e scarsa sensibilità. Altri metodi analitici come i metodi di analisi spettrofotometrica o automatizzata discreta mostrano interferenze a seconda delle diverse matrici di carne, rendendo difficile questo tipo di analisi per i laboratori in cui è

necessario analizzare un'ampia varietà di prodotti alimentari e bevande.

La cromatografia ionica con rivelazione UV offre a metodo robusto e universale per il controllo della qualità di nitriti e nitrati in diverse matrici di carne.

PREPARAZIONE CAMPIONE

Sono stati studiati vari prodotti a base di carne come lo stinco di maiale, la spalla di maiale, la salsiccia nera e la salsiccia di Chistorra. La stessa preparazione del campione ha funzionato per tutti i prodotti a base di carne testati.

I campioni sono stati trattati con precipitazioni Carrez per rimuovere grassi e proteine. La quantità di reagente Carrez viene adattato al contenuto di grassi e proteine del tipo di campione. Ad esempio, è stato

trattato un campione di carne tritata fresca (5 g). Carrez soluzioni (2,5 ml Carrez I + 2,5 ml Carrez II) e diluito a 100 ml con acqua ultrapura (UPW). Dopo centrifugazione (5000 rpm) e filtrazione (0,45 µm), 10 mL della soluzione sono stati ulteriormente diluiti con UPW a 50 ml (diluizione 5 volte). Per risultati coerenti, sono state preparate anche soluzioni standard di reagenti Carrez.

ANALISI

I campioni (50 µL) sono stati iniettati nel sistema IC dopo l'ultrafiltrazione in linea. Due colonne con proprietà diverse (Metrosep A Supp 7 - 250/4.0 e Metrosep A Supp 5 - 50/4.0) sono state utilizzate in serie per evitare la coeluizione di nitriti con sostanze organiche. Gli analiti sono stati separati mediante cromatografia isocratica a scambio anionico con un eluente carbonato/metanolo (3,6 mmol/L Na₂CO₃ +

15% metanolo) e una portata di 0,7 mL/min (**Tabella 1, Figure 1–4**). Una temperatura della colonna di 52 °C ha ulteriormente migliorato la risoluzione del picco di nitrito. La soppressione sequenziale ha ridotto il rumore di fondo per consentire il rilevamento sensibile di UV/VIS (205 nm). La quantificazione è stata eseguita in un intervallo di 0,02–2,00 mg/L per i nitriti e 0,05–5 mg/L per i nitrati.

Tabella 1. Riepilogo dei parametri del metodo IC.

Colonne	Metrosep A Supp 7 - 250/4.0 + Metrosep A Supp 5 - 50/4.0
Eluente	3,6 mmol/l Na ₂ CO ₃ + 15% metanolo
Flusso	0,7 ml/min
Temp	52°C
Iniezione	50 ml
Rilevamento	UV 205 nm

Le concentrazioni del campione sono state calcolate per il nitrato di sodio e il nitrito di sodio. Per mantenere il sistema pulito da qualsiasi contaminazione organica, il percorso del flusso del campione è stato risciacquato con metanolo/UPW

(1:1 v/v) dopo ogni analisi e il soppressore è stato rigenerato con una miscela di acido solforico (500 mmol/L), acido ossalico (100 mmol/L) e acetone (20% v/v).

RISULTATI

Le Figure 1–4 mostrano cromatogrammi esemplari per diversi campioni di carne testati. La concentrazione di nitriti variava da non rilevabile a 54 mg/kg e la concentrazione di nitrati era compresa tra 10 e 50 mg/kg. Durante questi test, i nitriti hanno superato il limite critico di 50 mg/kg in uno solo campione (spalla di maiale), mentre il nitrato era sempre misurato bene entro il limite di concentrazione consentito [4]. Studi a lungo termine nei laboratori di controllo qualità dei produttori di carne hanno dimostrato che questo metodo IC è

sufficientemente robusto e preciso per analisi di routine di nitriti e nitrati.

Questo metodo analitico universale è adatto anche per campioni di bevande e verdure. È stata valutata un'ampia varietà di campioni di alimenti e bevande, che mostravano picchi simmetrici, elevata riproducibilità dei valori di concentrazione e interferenze trascurabili dai composti della matrice. I limiti di quantificazione erano ben al di sotto di 5 mg/kg per il nitrito di sodio e il nitrato di sodio in tutti i campioni testati.

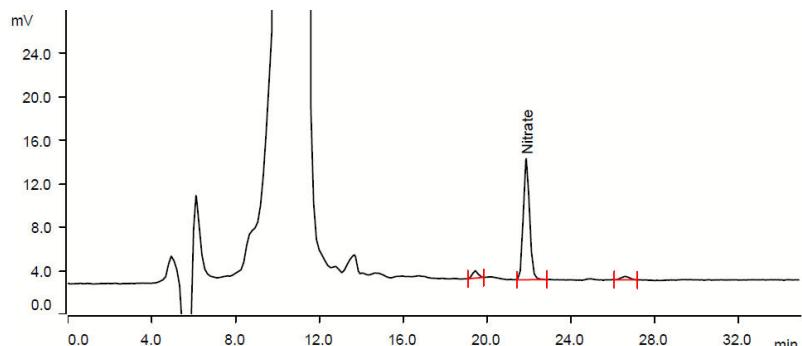


Figure 1. Cromatogramma di un campione di sanguinaccio nero. Risultati: nitrito di sodio <1,0 mg/kg e nitrato di sodio 22,5 mg/kg.

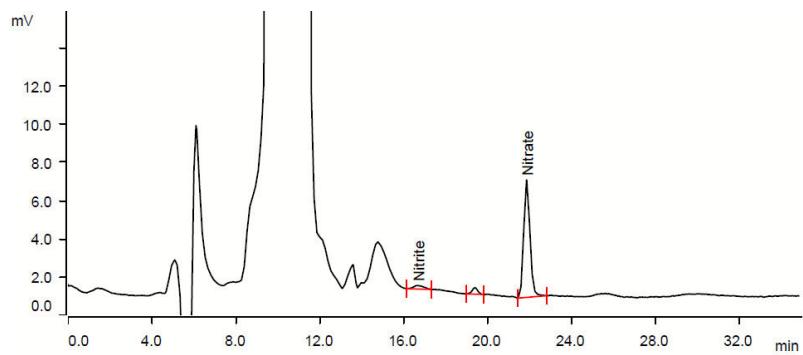


Figure 2. Cromatogramma di un campione di stinco di maiale. Risultati: nitrito di sodio 1,5 mg/kg e nitrato di sodio 9,6 mg/kg.

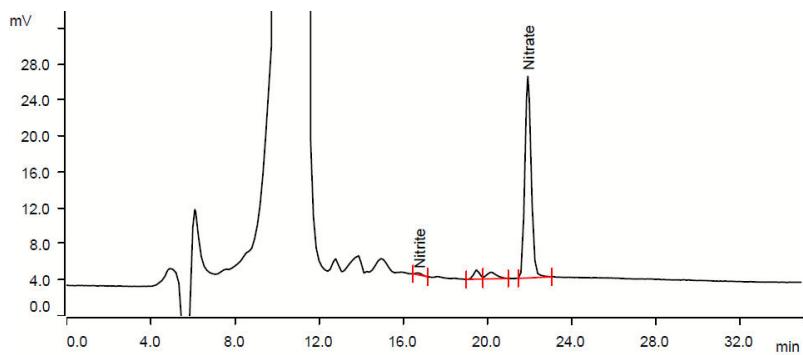


Figure 3. Cromatogramma di un campione di salsiccia Chistorra. Risultati: nitrito di sodio <1,3 mg/kg e nitrato di sodio 49,4 mg/kg.

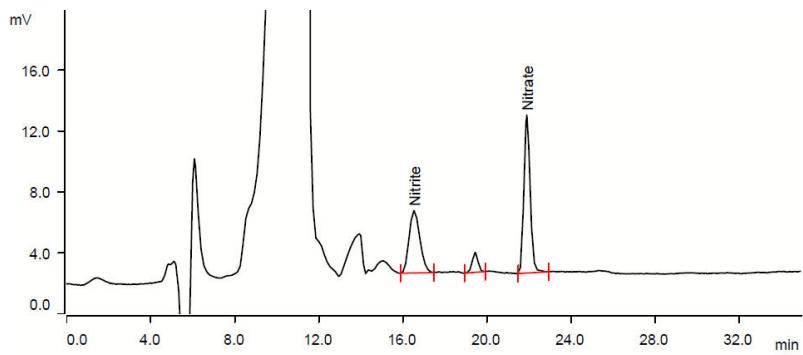


Figure 4. Cromatogramma di un campione di spalla di maiale. Risultati: nitrito di sodio 53,7 mg/kg e nitrato di sodio 20,0 mg/kg.

CONCLUSIONE

La preparazione del campione descritta e il metodo cromatografico hanno funzionato per tutti i prodotti a base di carne testati. Il metodo IC presentato con due colonne di separazione garantisce una risoluzione ottimale di nitriti e nitrati dai picchi della matrice interferente e quindi un'analisi sensibile per il controllo della qualità anche in matrici complesse (LOQ <5 mg/kg per i prodotti a base di carne). Questo metodo è già affermato in alcuni laboratori alimentari come metodo standard per il controllo della qualità, esibendo un'elevata precisione e riproducibilità indipendentemente dalla matrice alimentare. L'ultrafiltrazione in linea rende questo metodo ancora più adatto per analisi di routine rapide facendo

risparmiare tempo poiché la preparazione del campione è semplice e non richiede costose cartucce di preparazione del campione come in alcuni metodi tradizionali. Poiché qualsiasi matrice interferente viene rimossa dall'ultrafiltrazione in linea o viene ben risolta sulla colonna analitica, questo metodo mostra prestazioni analitiche superiori per la determinazione di nitriti e nitrati nei campioni di carne rispetto al classico HPLC-UV.

Nitriti e nitrati vengono quantificati direttamente, il che rappresenta un vantaggio rispetto ai metodi tradizionali in cui viene determinato il parametro somma dell'azoto totale (ad es. Metodo ufficiale AOAC 935.48 o 993.03).

RIFERIMENTI

1. Wang, P. et al. (2002), Donatori di ossido nitrico: attività chimiche e applicazioni biologiche, Recensioni chimiche 102 (4): 1091–1134.
2. EFSA (Autorità europea per la sicurezza alimentare) (2017), Rivalutazione del nitrito di potassio (E 249) e del nitrito di sodio (E 250) come additivi alimentari, EFSA Journal 15(6):4786.
3. EFSA (Autorità europea per la sicurezza alimentare) (2017), Rivalutazione del nitrato di sodio (E 251) e del nitrato di potassio (E 252) come additivi alimentari, EFSA Journal 15(6):4787.
4. Decisione n. 1129/2011/CE della Commissione europea (2011) dell'11 novembre 2011, che modifica l'allegato II del regolamento (CE) n. 1333/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio istituendo un elenco dell'Unione di additivi alimentari. Off J Eur Union L295 1-177.

Internal reference: AW IC ES6-0010-042020

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



930 Compact IC Flex Oven/SeS/Deg

Il 930 Compact IC Flex Oven/SeS/Deg è l'intelligente strumento Compact-IC con **forno della colonna, soppressione sequenziale e Degasser** incorporato. Per la rigenerazione del soppressore è possibile impiegare un 800 Dosino. Lo strumento può essere impiegato con qualsiasi metodo di separazione e di rilevamento.

Campi d'impiego tipici:

- Determinazione di anioni o cationi con soppressione sequenziale e rilevamento della conduttività



947 Professional UV/VIS Detector Vario SW

Il rilevatore intelligente di lunghezza d'onda singola 947 Professional UV/VIS Detector Vario SW consente di quantificare in modo sicuro e affidabile le sostanze attive nel campo ultravioletto o visibile. È possibile selezionare una lunghezza d'onda.



Metrosep A Supp 5 - 50/4,0

I sette anioni standard possono essere separati dalla Metrosep A Supp 5 - 50/4,0 in meno di 6 minuti. Anche il fluoruro viene separato dal picco di iniezione e può essere perfettamente integrato. La colonna che si basa su di un polimero alcool polivinilico si contraddistingue, come tutte le colonne della famiglia A Supp 5, per un numero elevato di piatti e quindi ottime prestazioni di separazione. La Metrosep A Supp 5 - 50/4,0 è la colonna di scelta quando devono essere eseguiti semplici compiti di separazione in breve tempo, senza rinunciare a limiti di determinazione molto bassi.



Metrosep A Supp 7 - 250/4,0

I prodotti di disinfezione nel trattamento delle acque sono sospettati di essere non solo un rischio per la salute, ma anche cancerogeni. Per questo motivo gli ossialogenuri, sono diventati oggetto di molte ricerche e metodi standard (ad esempio, l'EPA 300.1 Parte B, EPA 317.0, EPA 326.0). Si tratta soprattutto del bromato che è generato dal bromuro durante il trattamento di ozonizzazione dell'acqua potabile. La Metrosep A Supp 7 - 250/4,0 rappresenta una colonna di separazione ad alta prestazione per la determinazione simultanea degli anioni standard, degli ossialogenuri e dell'acido dicloroacetico. Con questa colonna questi ioni possono essere determinati con precisione e affidabilità anche nella parte più bassa del range dei µg/L. L'eccellenza di rilevamento si ottiene utilizzando polimeri di polivinilalcole da 5 µm; ciò permette di ottenere un numero di piatti molto elevato e di conseguenza eccezionali caratteristiche di separazione e di rivelazione. Inoltre la separazione può essere adattata alle esigenze applicative, modificando la temperatura.



919 IC Autosampler plus

L'919 IC Autosampler plus soddisfa i requisiti di laboratori con una media quantità di campioni. Con esso è possibile automatizzare i vari cromatografi ionici della gamma Metrohm.



800 Dosino

800 Dosino è un drive con hardware di scrittura/lettura per Unità di dosaggio intelligenti. Con cavo fisso (150 cm).



807 Dosing Unit 2 mL

807 Dosing Unit con chip dati integrato, con cilindro in vetro da 2 mL e protezione dalla luce, montabile sulla bottiglia del reagente con filettatura in vetro ISO/DIN GL 45. Tubo di connessione in FEP, punta antidiffusione.