

离子色谱柱后衍生光度法检测食品中含硫的阴离子化合物

陈梅兰^①, 范云场^②, 叶明立^③, 曾雪灵^③, 朱岩^{②*}

① 浙江树人大学生物与环境工程学院, 杭州 310015;

② 浙江大学化学系, 杭州 310028;

③ 戴安中国有限公司杭州实验室, 杭州 310028

* 通讯作者, E-mail: zhuyan@zju.edu.cn

收稿日期: 2009-05-30; 接受日期: 2009-07-06

摘要 研究了一种离子色谱柱后衍生直接光度法测定食品中含硫阴离子化合物. 采用 IonPac AS22A 分析柱(250 mm×4 mm), IonPac AG22A 保护柱(50 mm×4 mm), 4.5 mmol·L⁻¹ 碳酸钠和 0.8 mmol·L⁻¹ 碳酸氢钠等度淋洗, 柱温设为室温, 衍生试剂是 0.24 g·L⁻¹ 碘液和 0.2% 磷酸(V:V)的混合溶液, 检测波长为 288 nm. 样品用 20 mg·L⁻¹ 草酸溶液萃取, 经高速离心、上层清液过 C18 预处理小柱及 0.45 μm 过滤膜后直接进样. 实验结果表明, 方法的检测限硫离子、甲醛合次硫酸氢根离子、亚硫酸根离子、硫氰酸根离子及硫代硫酸根离子分别为 0.006, 0.004, 0.006, 0.006 和 0.007 mg·L⁻¹. 一天之内的相对标准偏差分别为 4.86%, 3.24%, 3.76%, 2.68% 和 2.07%. 实际样品测定, 除硫离子外, 方法的回收率分布在 67.2%~116.5% 之间, 硫离子的回收率为 38%~45%.

关键词

柱后衍生

离子色谱

含硫阴离子化合物

1 引言

当今, 含硫的还原性化合物特别是亚硫酸盐和甲醛合次硫酸氢钠(俗称吊白块)被添加到食品中, 它们可以防止微生物霉变, 同时可增进食品的风味. 但这些含硫化合物对人体有一定的危害, 特别对喉咙有刺激作用. 因此各国对它的使用有一定限制, 在中国对亚硫酸盐的添加量不同的食品有不同的规定, 而对甲醛合次硫酸氢钠的使用是严格禁止的^[1]. 由于很多含硫的还原性阴离子化合物本身不稳定, 相互之间会发生反应, 所以很有必要建立一种方法同时测定这些化合物. 已有的测定含硫阴离子化合物的报道主要有电泳法测定酒中的亚硫酸盐^[2]、脉冲电极

法同时测定亚硫酸盐和硫代硫酸盐^[3,4]、光度法同时测定酒中的硫化物和亚硫酸盐及废水中的亚硫酸盐^[5,6]、高效液相色谱法同时测定废水中的硫化物、亚硫酸盐及硫代硫酸盐^[7]、离子色谱法同时测定硫代硫酸盐和硫氰酸盐和离子色谱法测定唾液中的硫氰酸盐^[8~10]及离子色谱柱后衍生间接紫外法同时测定水中硫化物、亚硫酸盐、硫氰酸盐和硫代硫酸盐^[11~13]. 但这些报道的方法往往只测定液体样品中一种或几种含硫的阴离子, 而同时在食品中测定 5 种含硫的具有还原性的阴离子还未见报道. 已报道的离子色谱柱后衍生法测定含硫阴离子化合物采用间接光度法检测, 或用叠氮化钠作衍生试剂. 本文提出一种同时

测定 5 种含硫的阴离子的方法是采用直接光度法, 相比间接紫外法提高了检测的灵敏度, 相比其他方法, 提高了检测准确性, 同时该方法也不使用有毒的爆炸性的叠氮化钠化学品. 该方法应用于实际样品, 除硫化物的测定回收率偏低外, 其他含硫阴离子化合物均有较好的测定结果.

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

ICS-1500 离子色谱仪(美国戴安公司), VWD-3400 紫外检测器(美国戴安公司), 台式离心机 TGL-16G (上海安亭科学仪器厂), 编结反应管(375 μL), IonPac AS22A 分析柱, IonPac AG22A 保护柱(均购自美国戴安公司).

色谱纯甲醇购自美国天地公司, 碳酸钠是优级纯, 其余试剂都是分析纯(均购自上海试剂有限公司), 所有用水均为电阻率为 $18.3 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$ 的去离子水. 硫离子、甲醛合次硫酸氢根离子、亚硫酸根离子、硫氰酸根离子、硫代硫酸根离子标准贮备液($1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 每天新配制, 其中硫离子和硫代硫酸根离子贮备液在配制时使用硫化钠和硫代硫酸钠晶体, 配制前先除去晶体上表面一层可能不纯物. 配制标准贮备液所用的试剂均为分析纯. 使用时把标准贮备液用去离子水稀释成所需的标准使用液.

2.2 实验方法

Dionex ICS-1500 离子色谱仪使用三通接头引进衍生试剂, 待测分析物经离子色谱分离后与衍生试剂在编结反应管($375 \mu\text{L}$)中反应, 反应物进入Dionex VWD-3400 紫外检测器进行紫外检测, 检测波长为 288 nm . 色谱柱采用IonPac AS22A分析柱($250 \text{ mm}\times 4 \text{ mm}$), IonPac AG22A保护柱($50 \text{ mm}\times 4 \text{ mm}$). 淋洗液为 $4.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸钠和 $0.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸氢钠的混合物. 淋洗液流速为 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

柱后反应试剂的配制方法如下: 称取 0.06 g 单质碘加入 20 mL 无水甲醇超声溶解, 然后加入 0.5 mL 磷酸, 最后加水稀释到 250 mL . 编结反应管的温度为常温, 室内温度用空调调节, 柱后反应试剂的流速为 $0.7 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. 图 1 是仪器结构示意图.

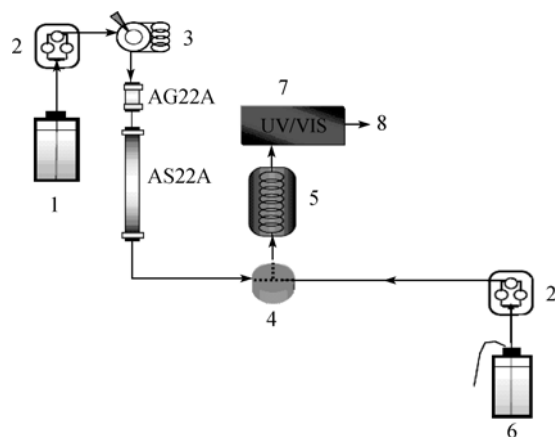


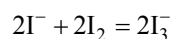
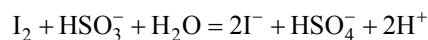
图 1 仪器结构及反应原理图

1. 淋洗液; 2. 泵; 3. 进样阀; 4. 三通混合器; 5. 编结反应管; 6. 衍生液; 7. 紫外检测器; 8. 废液

2.3 实验原理

由于食品中成分复杂, 常含有各种添加剂, 而含硫的阴离子特别是硫代硫酸盐有较强的保留, 实验中既需要选用柱容量较高的分析柱进行分离, 同时要求方法对待测物有较高的灵敏度和较低检出限. 我们采用柱容量较高 IonPac AS22A 阴离子交换分析柱.

另外, 考虑到食品含有复杂的添加剂, 而电导检测的非特异性可能导致测定结果的假阳性, 我们采用柱后衍生紫外检测法. 方法是: 采用 $4.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸钠和 $0.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸氢钠混合物的缓冲体系作为淋洗液, 分离五种含硫的阴离子, 磷酸酸化后的碘液作为柱后衍生液. 经实验 $4.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸钠和 $0.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸氢钠混合物缓冲体系的 pH 值为 10.30 , 与碘液(0.2% 磷酸酸化)混合后体系的 pH 值为 2.76 . 衍生液中的单质碘与柱后分离出的还原性的含硫化合物在混合体系的酸性环境中反应生成 I^- , 剩余的 I_2 与新生成的 I^- 进一步生成 I_3^- , 最后反应生成的 I_3^- 有较强的紫外吸收, 可进行紫外检测. 柱后反应方程如下(以 SO_3^{2-} 为例):



2.4 样品前处理

样品经风干、粉碎,称取 5.0 g 已粉碎的样品加 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 草酸稀释至 50 mL,充分振摇,高速离心 ($10000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)15 min,取上清液过 C18 小柱,滤液再过 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤膜后直接进样。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件

采用 IonPac AS22A 分析柱 ($250 \text{ mm}\times 4 \text{ mm}$), IonPac AG22A 保护柱 ($50 \text{ mm}\times 4 \text{ mm}$), $4.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸钠和 $0.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸氢钠为淋洗液,流速为 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的色谱条件的色谱图如图 2 所示。

3.2 衍生液中碘浓度的优化

由于 I_2 液作为反应的氧化剂,所以 I_2 液浓度对最后 I_3^- 的生成有较大的影响,首先实验了 I_2 在水和甲醇混合液中的最大溶解度,实验表明 $0.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 是 I_2

的最大溶解度,其中水和甲醇的比例为 (50/20, V/V); 然后我们实验了 I_2 浓度 ($0.12 \sim 0.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 对反应的影响,选择的硫阴离子浓度分别为甲醛合次硫酸氢根离子 ($1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 硫离子 ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 亚硫酸根离子 ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 硫氰酸根离子 ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 硫代硫酸根离子 ($7.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 结果表明, $0.24 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 I_2 的浓度是比较合适的。具体实验结果见表 1。

3.3 磷酸浓度的影响

实验原理表明: 反应中的酸性对最后 I_3^- 的生成量也会产生影响,故对 H_3PO_4 浓度 ($0.12\% \sim 0.4\%$) 的影响效应进行实验,选择硫的阴离子浓度同 3.2 节。当 H_3PO_4 浓度升高到 0.2% 后,峰响应变化已不明显。具体的影响见表 2。

3.4 衍生液流速的影响

设置 $0.3 \sim 1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 衍生液流速考察对峰面积的影响,选择硫阴离子浓度同 3.2 节。实验结果表明:

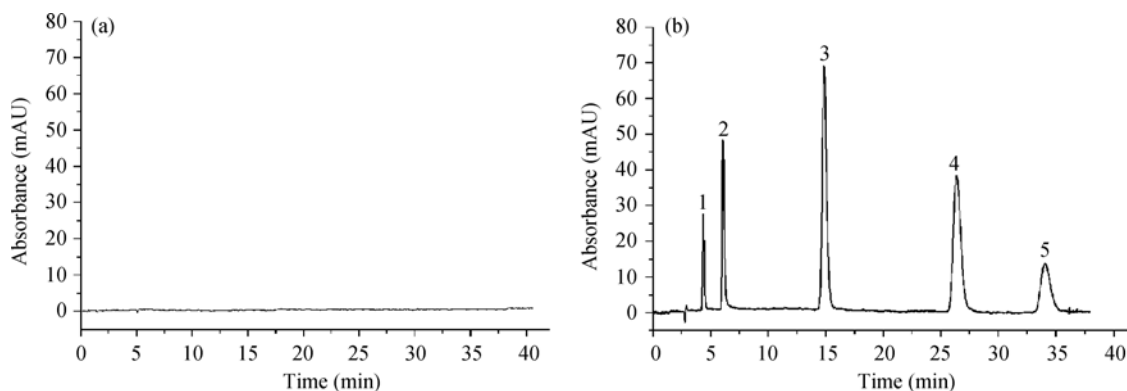


图 2

(a) 为空白的色谱图; (b) 为 5 种阴离子的色谱图; 1. 甲醛合次硫酸氢根离子 ($1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 2. 硫离子 ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 3. 亚硫酸根离子 ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 4. 硫氰酸根离子 ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 5. 硫代硫酸根离子 ($7.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

表 1 碘浓度变化对峰面积的影响

碘浓度 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	硫阴离子峰面积响应值				
	硫离子	甲醛合次硫酸氢根离子	亚硫酸根离子	硫氰酸根离子	硫代硫酸根离子
0.16	3.8400	8.4302	26.9970	25.6050	10.7266
0.20	4.0421	9.1710	28.0140	25.5710	12.7608
0.24	4.9637	9.4782	32.0187	33.3714	14.3795
0.32	4.9090	9.8559	32.0187	33.3710	14.4651

表 2 磷酸浓度的变化对峰面积的影响

磷酸浓度(% , V/V)	硫阴离子峰面积响应值				
	硫离子	甲醛合次硫酸氢根离子	亚硫酸根离子	硫氰酸根离子	硫代硫酸根离子
0.12	4.6732	9.3595	31.8513	35.8579	14.3795
0.20	4.7061	11.6321	33.1283	39.1417	14.6578
0.30	4.6954	10.2243	33.0084	40.8300	14.6005
0.40	4.7012	10.2546	33.1256	40.8243	14.6211

表 3 衍生液流速对峰信号的影响

衍生液流速(mL·min ⁻¹)	硫阴离子峰面积响应值				
	硫离子	甲醛合次硫酸氢根离子	亚硫酸根离子	硫氰酸根离子	硫代硫酸根离子
0.7	4.6732	11.6321	33.1283	39.1417	14.8796
0.8	4.7148	10.9894	32.9631	40.9557	14.8445
0.9	4.6954	10.2243	33.0084	40.8300	14.6005
1.0	4.7010	10.3562	33.1021	40.5461	14.2498

表 4 线性关系、检测限及精密度^{a)}

分析物	线性方程	线性范围(mg/L)	相关系数(<i>r</i> ²)	RSD (%)	检测下限S/N=3 (μg·mL ⁻¹)
硫离子	<i>y</i> ₁ =0.9415 <i>x</i> +0.2215	1 ~ 40	1.000	4.86	0.006
	<i>y</i> ₂ =5.838 <i>x</i> +0.7667		1.000		
甲醛合次硫酸氢根离子	<i>y</i> ₁ =1.2777 <i>x</i> -1.6402	1 ~ 40	0.9986	3.24	0.004
	<i>y</i> ₂ =6.1524 <i>x</i> -5.7108		0.9970		
亚硫酸根离子	<i>y</i> ₁ =2.4589 <i>x</i> -3.9376	1 ~ 40	0.9948	3.76	0.006
	<i>y</i> ₂ =5.7262 <i>x</i> -9.7439		0.9956		
硫氰酸根离子	<i>y</i> ₁ =2.9492 <i>x</i> +6.9951	1 ~ 40	0.9995	2.6	0.006
	<i>y</i> ₂ =3.1863 <i>x</i> +15.709		0.9961		
硫代硫酸根离子	<i>y</i> ₁ =1.254 <i>x</i> +1.5723	1 ~ 40	0.9995	2.0	0.007
	<i>y</i> ₂ =1.1948 <i>x</i> +3.4392		0.9969		

a) *y*₁: 峰面积, *y*₂: 峰高; *x*: 待测物浓度

当流速为 0.3 ~ 0.5 mL·min⁻¹ 时基线噪声太大, 流速为 0.7 mL·min⁻¹, 峰形较好, 继续升高流速至 1.0 mL·min⁻¹时, 信号响应变化不明显, 实验最后确定流速为 0.7 mL·min⁻¹, 具体实验数据见表 3.

3.5 精密度、线性关系及检出限

在以上优化的条件下, 试验了方法的相对标准偏差(RSD, *n* = 8), 线性关系和检出限, 具体结果见表 4.

3.6 实际样品检测结果及加标回收率实验

按 2.4 节样品前处理方法对样品进行处理, 然后直接进样分析, 每个样品平行测定 3 次, 计算平均值, 并对方法的回收率进行了检验, 实验发现硫化物的回收率偏低, 所以在后面的回收率实验中, 我们略去了硫化物. 分析结果见表 5, 腐竹样品的色谱图见图 3.

4 结论

本文提出的以离子色谱柱后衍生紫外法测定食

表 5 样品的测定结果和加标回收率

样品	分析物	测定值 ($n=3$) ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	加标量($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	回收量($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	回收率($n=3$) (%)
腐竹	甲醛合次硫酸氢根离子	ND ^{a)}	0.02	0.0135	67.23
	亚硫酸根离子	0.2345	0.20	0.3694	67.45
	硫氰酸根离子	ND	0.05	0.0366	73.10
	硫代硫酸根离子	0.0532	0.05	0.1049	103.4
粉丝	甲醛合次硫酸氢根离子	ND	0.02	0.0183	91.47
	亚硫酸根离子	ND	0.05	0.0416	83.11
	硫氰酸根离子	ND	0.05	0.0426	85.12
	硫代硫酸根离子	ND	0.05	0.0542	108.50
银耳	甲醛合次硫酸氢根离子	ND	0.02	0.016	80.0
	亚硫酸根离子	ND	0.05	0.0456	91.49
	硫氰酸根离子	ND	0.05	0.0518	103.56
	硫代硫酸根离子	ND	0.05	0.0582	116.50

a) ND = 未检测到

品中的含硫阴离子, 该方法简便, 不仅可以同时测定 5 种含硫的阴离子, 还可克服电导法可能存在的假阳性; 同时使用草酸溶液进行超声萃取, 对还原性含硫化合物的稳定性可起一定的保护作用; 对于成份复杂的食物添加剂, 使用 AS22A 可获得有效分离; 方法应用于实际样品的测定, 其中甲醛合次硫酸氢根离子、亚硫酸根离子、硫氰酸根离子和硫代硫酸根离子可获得满意的结果, 而硫离子回收率偏低, 偏低的原因我们还在研究中。

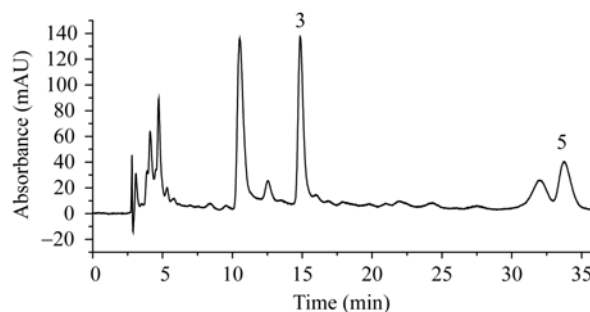


图 3 腐竹样品的色谱图

3. 亚硫酸根离子; 5. 硫代硫酸根离子

致谢 本工作得到国家自然科学基金(批准号: 20775070)、浙江省自然科学基金(批准号: Y507252)、浙江省钱江人才计划(批准号: 2008R10028)和浙江省分析测试基金(批准号: 2007F70061)资助, 特此一并致谢。

参考文献

- 1 中华人民共和国质检总局. 2002, 183 令
- 2 Masár M, Danková M, Ö, Ivecká E, Stachurová A, Kanišský D, Stanislawski B. Determination of total sulfite in wine Zone electrophoresis-isotachopheresis quantitation of sulfat on a chip after an in-sample oxidation of total sulfite. J Chromatogr A, 2005, 1084: 101—107 [\[DOI\]](#)
- 3 Yilmaz Ü T, Somer G. Determination of trace sulfite by direct and indirect methods using differential pulse polarography. Anal Chim Acta, 2007, 603: 30—35 [\[DOI\]](#)
- 4 Kalal H S, Ghadiri M, Beigi A A M, Sadjadi S A S. Simultaneous determination of trace amounts of sulfite and thiosulfate in petroleum and its distillates by extraction and differential pulse polarography. Anal Chim Acta, 2004, 502: 133—139 [\[DOI\]](#)

- 5 Tzanavaras P D, Thiakouli E, Themelis D G. Hybrid sequential injection-flow injection manifold for the spectrophotometric determination of total sulfite in wines using o-phthalaldehyde and gas-diffusion. *Talanta*, 2009, 77: 1614—1619 [\[DOI\]](#)
- 6 Safavi A, Moradlou O, Maesum S. Simultaneous kinetic determination of sulfite and sulfide using artificial neural networks. *Talanta*, 2004, 62: 51—56 [\[DOI\]](#)
- 7 Hursea T J, Abeydeera W P P. Quantification of sulfur and sulfur-containing compounds in wastewaters by means of a combination of liquid chromatographic methods. *J Chromatogr A*, 2002, 942: 201—210 [\[DOI\]](#)
- 8 Demkowska I, Polkowska Z, Namieśnik J. Application of ion chromatography for the determination of inorganic ions, especially thiocyanates in human saliva samples as biomarkers of environmental tobacco smoke exposure. *J Chromatogr B*, 2008, 875: 419—426 [\[DOI\]](#)
- 9 Niemann R A, Anderson D L. Determination of iodide and thiocyanate in powdered milk and infant formula by on-line enrichment ion chromatography with photodiode array detection. *J Chromatogr A*, 2008, 1200: 193—197 [\[DOI\]](#)
- 10 Michigami Y, Morooka M, Ueda K. Determination of sulphite and sulphate by ion chromatography using a weakly basic phthalate eluent. *J Chromatogr A*, 1996, 732: 403—407 [\[DOI\]](#)
- 11 Miura Y, Fukasawa K, Koh T. Determination of sulfur anions at the ppb level by ion chromatography utilizing their catalytic effects on the postcolumn reaction of iodine with azide. *J Chromatogr A*, 1998, 804: 143—150 [\[DOI\]](#)
- 12 Miura Y, Mieko T, Tsubamoto M, Koh T. Ion chromatographic determination of sulfide, sulfite and thiosulfate in mixtures by means of their postcolumn reactions with iodine. *Anal Sci*, 1994, 10: 595—600 [\[DOI\]](#)
- 13 Miura Y, Mieko T, Maruyama T, Koh T. Ion chromatographic determination of L-Ascorbic sulfite, sulfide and thiosulfate using a cation-Exchanger of low crosslinking. *Anal Sci*, 1995, 11: 617—621 [\[DOI\]](#)

Determination of sulfur anions by ion chromatography-postcolumn deriviation and spectrophotometric detection

CHEN MeiLan¹, FAN YunChang², YE MingLi³, ZENG XueLing³ & ZHU Yan^{2*}

1. College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China;

2. Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310028, China;

3. Laboratory of Dionex Corporation, Hangzhou 310028, China

Abstract: A novel method for determination of formaldehyde sulfoxylate, sulfide, sulfite, thiocyanate, and thiosulfate in foodstuffs by ion chromatography separation with postcolumn deriviation and direct spectrophotometric detection has been developed. All species are separated at Dionex IonPac AG22A and AS22A with mobile phase of a mixture of 4.5 mmol·L⁻¹ sodium carbonate and 0.8 mmol·L⁻¹ sodium bicarbonate at a flow-rate of 1.0 mL·min⁻¹. The postcolumn deriviation solution was 0.24% iodine in 0.2% phosphate acid and the detection wavelength was set at 288 nm. The detection limits (LOD, signal-to-noise ratio of 3) of sulfide, formaldehyde sulfoxylate, sulfite, thiocyanate, thiosulfate, were 0.006, 0.004, 0.006, 0.006, and 0.007 mg·L⁻¹, respectively. Within-day relative standard deviations (RSD, *n*=8) of sulfide, formaldehyde sulfoxylate, sulfite, thiocyanate, thiosulfate were 4.86%, 3.24%, 3.76%, 2.68% and 2.07%, respectively. The recoveries of real samples were in the range of 67.2 % to 116.5%, with the exception of sulfide. The recoveries of sulfide were only in the range of 38%—45%.

Keywords: postcolumn deriviation, ion chromatography, sulfur-containing inorganic compounds