

食品中亚硫酸盐的离子色谱法测定

黄惠玲^{*}, 王玉健, 卓海华, 刘红专, 徐 莉, 纪少凡, 曾 敏, 林正锋
(海南出入境检验检疫局技术中心, 海口 570105)

摘 要: 建立了食品中亚硫酸盐的离子色谱检测方法。样品采用 40 mmol/L NaOH 溶液提取, 甲醛作稳定剂, 经 ENVF-Carb 活性碳小柱除去提取液中的色素, 石油醚除去提取液中的油脂, 用配有电导检测器的离子色谱仪测定。以 AS9-HC 为色谱柱, 流动相为 8 mmol/L Na₂CO₃-2.5 mmol/L NaOH, 亚硫酸盐的残留量在 0~6.0 mg/L 的范围内线性关系良好, 相关系数为 0.9989, 相对标准偏差为 1.3%~9.1%, 回收率在 88.4%~98.1% 之间。

关键词: 食品; 亚硫酸盐; 离子色谱法

中图分类号: O657.7

文献标识码: A

文章编号: 1000-0720(2009)08-015-04

亚硫酸盐作为添加剂, 在食品中应用十分广泛, 用于食品中解离成亚硫酸, 亚硫酸具有还原性, 起到漂白、脱色、抗氧化和防腐作用^[1-3]。许多国家对其在食品中的残留量有严格的控制,。

目前, 食品中亚硫酸盐的标准检测方法有比色法^[4,5]、碘量法^[7]、蒸馏-碱滴定法^[6,8,9]等。离子色谱法是检测食品中亚硫酸盐的方法之一, 国内外有文献报道, 它们采用安培检测器的离子排斥色谱法测定食品中亚硫酸盐残留量^[10-12], 但是安培检测器的电极易受污染, 而且一般实验室很少配置这样的检测器。本文采用通用型的电导检测器-离子色谱法进行检测, 样品用 NaOH 将结合型的亚硫酸释放出来, 与甲醛生成稳定的羟甲基磺酸, 经 ENVF-CARB 活性碳小柱除去提取液中的色素, 石油醚除去提取液中的油脂。该法具有准确、快速、重复性好等优点, 可满足进出口食品中亚硫酸盐的检测。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

DX-1000 型离子色谱仪(美国 Dionex 公司), 配备抑制型电导检测器; 0.2 μm 的水相滤膜; ENVF-CARB 石墨化碳黑小柱(康林公司); 水为高纯水, 其电阻率为 18.2 MΩ·cm, YM-10 型超滤器(美国

millipore 公司)。

石油醚(色谱纯), 亚硫酸盐标准品(由 Sigma 公司提供, 纯度需按 1.2.1 式测定); 甲醛、碘、KI、浓 HCl 为分析纯。

1.2 SO₂ 标准溶液的配制

1.2.1 Na₂SO₃ 纯度的测定 精确称取约 250 mg Na₂SO₃ 于盛有 50 mL 碘溶液(0.1 mol/L)的碘价瓶中, 在室温下放置 5 min, 加入 1 mL 浓 HCl, 摇匀, 立即用 0.1 mol/L 的 Na₂S₂O₃ 标准溶液滴定过剩的碘至淡黄色, 加入 0.5 mL 10 g/L 淀粉指示剂, 继续滴定至无色。同时做试剂空白试验。按式: $X = \frac{c \times (V_1 - V_2)}{m} \times 100$, 计算 Na₂SO₃ 纯度。

1.2.2 标准储备溶液、标准工作溶液的配制

SO₂ 标准储备溶液(1000 μg/mL): 准确称取 0.1969 g Na₂SO₃ (纯度经 1.2.1 步骤计算)于 100 mL 容量瓶中, 加入 2.0 mL 的甲醛, 加水溶解定容。标准工作溶液可根据需要配制成所需浓度, 需加入甲醛作稳定剂, 溶液中甲醛的体积分数为 0.74%。

1.3 色谱条件

色谱柱: IonPac[®] AS9-HC, 4 mm ×250 mm (带 IonPac[®] AG9-HC, 4 mm ×250 mm 保护柱); 流动

* 收稿日期: 2008-08-23; 修订日期: 2008-11-16

作者简介: 黄惠玲(1969-), 女, 高级工程师; E-mail: huilinghuang-1@126.com

相: 8 mmol/L Na_2CO_3 -2.5 mmol/L NaOH; 流速: 1.0 mL/min; 抑制器: ASRS 4 mm 阴离子抑制器; 外加水抑制模式, 抑制电流 50 mA。检测器: 电导检测器, 检测池温度: 30。进样量: 50 μL 。

1.4 样品处理

1.4.1 提取 准确称取 2.5 g (样品量可视含量高而定) 的均匀试样(精确至 0.001 g)。将试样置于 50 mL 的具塞并有刻度的塑料离心管中, 加入 15 mL 的水溶解, 加入 1.0 mL 1.0 mol/L NaOH, 加入 1.0 mL 甲醛, 摇匀, 对于酸性样品, 用 1.0 mol/L NaOH 调节稀释液的 pH > 11, 以水稀释至 25 mL, 在涡旋振荡器上混匀 5 min, 以 9000 r/min 离心 30 min。上清液备用。

1.4.2 净化 对于含油脂较多的样品: 从 1.4.1 的提取液中取出 10 mL 的上清液于另一 50 mL 具塞塑料离心管中, 加入 10 mL 石油醚, 在涡旋振荡器上混匀 1 min, 以 9000 r/min 离心 10 min。弃去上层有机相, 再加入 10 mL 的石油醚, 再重复提取 1 次。弃去上层有机相, 取其下清液经 0.2 μm 的水性滤膜过滤后, 注入超滤器样品杯中, 于 9000 r/min 下离心 30 min 进行超滤, 超滤液供离子色谱仪测定。

对于含色素较多的样品: 从 1.4.1 的提取液中取出上清液 5 mL 过活性炭小柱(用 5 mL 高纯水预淋洗), 调整流速在 1.5 mL/min 左右, 弃去前 3 mL 样品流出液, 收集后 2 mL 样品溶液于具塞玻璃管中, 经 0.20 μm 水性滤膜过滤后, 注入超滤器样品杯中, 于 9000 r/min 下离心 30 min 进行超滤, 超滤液供离子色谱仪测定。

由于亚硫酸盐容易氧化成硫酸盐, 因此样品和标准溶液都应是新鲜配制的, 并减少暴露在空气中的时间。样品和标准溶液在甲醛稳定液中的稳定时间是 24 h。样品开封后应尽快分析。

1.5 分析测定

按上述色谱条件, 待基线稳定后, 按标样、样品、标样、样品顺序等体积进样, 外标法计算含量。

2 结果与讨论

2.1 甲醛的用量及其稳定性试验

亚硫酸根不稳定, 易被氧化成硫酸根, 样品及标准溶液必须加入稳定剂, 以减慢亚硫酸根的氧化速率, 本方法参考文献[12]采用甲醛做 SO_2 的稳定剂, 亚硫酸与甲醛生成稳定的羟甲基磺酸

盐。羟甲基磺酸根离子与亚硫酸根离子在 AS9 柱上的保留时间是一致的。甲醛的加入量不影响其在 AS9 柱上的保留时间。

实验了在 SO_2 标准储备溶液、标准工作液中, 加入 36% 甲醛的 0、0.25、0.5、1.0、2.0、2.5、3.0 mL, 测定 2.0 mg/L SO_2 标准工作溶液的响应面积。结果表明: 未加入甲醛稳定液的标准溶液, 其响应面积只是加入甲醛稳定液的一半, 并且被氧化的速率非常快, 连续进样 5、6 针后, 响应面积就接近为零; 甲醛的加入量大于 2.0 mL 时, 即溶液中甲醛的体积分数为 0.74%, 测定的结果都较稳定, 因此选择甲醛的最佳加入量为 2.0 mL。

在样品溶液中由于甲醛可能与食品中的一些化合物发生加成等反应, 因此加入食品中的甲醛量要过量, 实验证明样品溶液中甲醛的最佳体积分数为 1.48% (即在 25 mL 样品稀释液中, 加入 2 mL 的甲醛)。在含 4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 SO_2 果脯样品, 加入 2 mL 的甲醛后连续进 8 针测定 SO_2 的含量, 其稳定性试验结果表明亚硫酸盐被氧化的速率大约是 1.8%/h。因此样品和标准溶液都应是新鲜配制的, 并减少暴露在空气中的时间。未加稳定液的样品开封后应尽快分析。

2.2 共存离子的影响和色谱条件的优化

食品含有较多的无机和有机阴离子, 要准确检测亚硫酸盐, 必须把 SO_3^{2-} 与共存离子有效分离, 分离柱的选择是离子色谱仪分析的关键。能将 SO_3^{2-} 与共存离子分离的离子色谱柱有 AS9、AS15 和 AS18 柱, 只是 AS15 和 AS18 柱是氢氧根选择性阴离子交换柱, 测定时存在着 CO_3^{2-} 干扰 SO_3^{2-} 测定, AS9-HC 柱是测定 SO_3^{2-} 的最佳选择, 基本上无共存离子的干扰。

分离柱选定后, 淋洗液对分离效果起决定性作用, 特别是 PO_4^{3-} 与 SO_3^{2-} 的分离, 随着淋洗液中 pH 的增加, 电离增加, PO_4^{3-} 的保留时间也随着增加。为了选择合适的淋洗液, 配制一系列浓度的 Na_2CO_3 -NaOH 淋洗液, 分别对样品中可能含有的阴离子 (F^- 、 Cl^- 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、乙酸根、甲酸根、柠檬酸根等), 将其配制成混合水样进行测定, 实验表明: 8 mmol/L Na_2CO_3 -2.5 mmol/L NaOH 的淋洗液能快速、较好地将 SO_3^{2-} 与 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 等共存阴离子分离开, 如图 1。 SO_3^{2-} 出峰时

间约为 17.3 min。

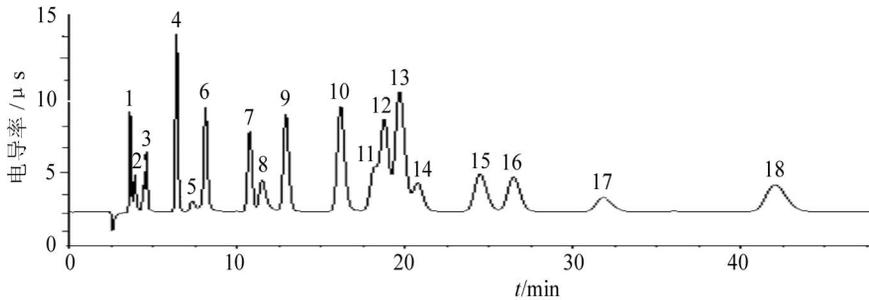


图 1 18 种阴离子和有机酸 (20 mg/L) 在 AS-9HC 柱上的色谱图

Fig. 1 The ion chromatograms of 18 anion and organic acid standards mixture on a AS-9HC column

1- 乙酸; 2- 甲酸 + 甲醛; 3- 丙酮酸; 4- Cl^- ; 5- 山梨酸; 6- NO_2^- ; 7- Br^- ; 8- 苯甲酸; 9- NO_3^- ; 10- SO_3^{2-} ; 11- 苹果酸; 12- SO_4^{2-} ; 13- 酒石酸; 14- 马来酸; 15- PO_4^{3-} ; 16- 草酸; 17- 三氯乙酸; 18- 琥珀酸

2.3 样品净化方法的选择

对于含色素较多的果脯、葡萄等样品，用活性炭小柱净化提取液，本方法选用 ENVF-CARB SPE 活性炭小柱可有效去除色素的干扰：取 5 mL 提取液过柱，保留最后的 2 mL 进样分析。经实验证明，过柱后的 5 mL 提取液，只有最后的 2 mL 才能真实地反映提取液中 SO_2 的浓度，前面 3 mL 的过柱液的浓度，已受预淋洗时柱内残留水的稀释，应弃去。对于含油脂较多的样品如饼干，用 2 × 10 mL 石油醚可萃取除去其油脂。

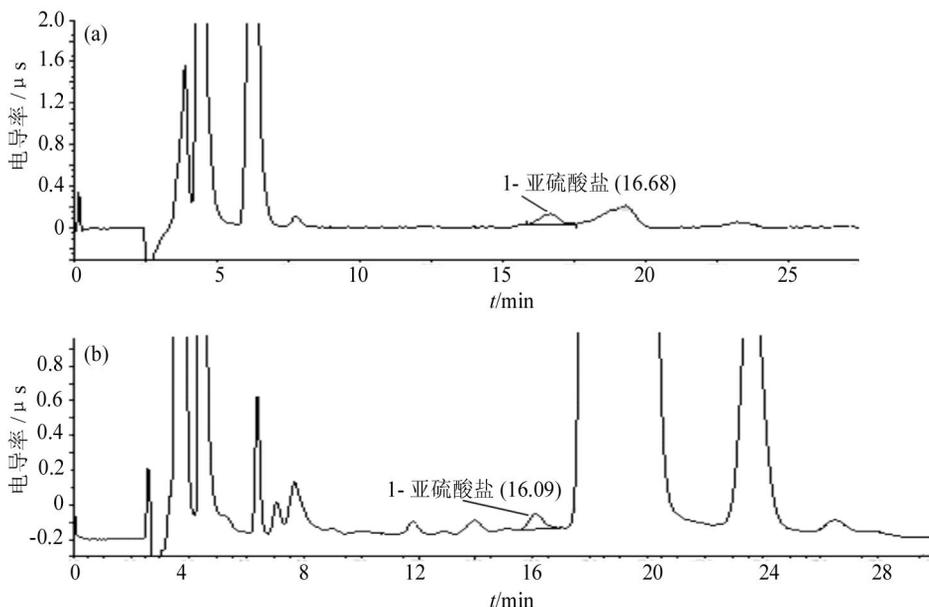
2.4 线性与检出限

将 SO_2 标准储备溶液配制成含量分别为 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工

作液，按实验条件进行测定，以峰面积和质量浓度作标准曲线图，在 0 ~ 6.0 mg/L 范围内呈良好线性关系，回归方程 $y = 0.0888x - 0.0154$ ，相关系数 $r = 0.9989$ 。检出限根据 3 倍信噪比确定为 4.0 mg/kg。

2.5 回收率及精密度

按照 2.4 样品处理步骤操作，对本底不含亚硫酸盐的饼干、葡萄、果脯样品中分别添加 4.0、10.0、30.0 mg/kg 3 个水平进行回收测定，每个水平重复 8 次，本方法的平均回收率和相对标准偏差如表 1。空白样品添加 4.0 mg/kg SO_2 标准品的离子色谱图见图 2。



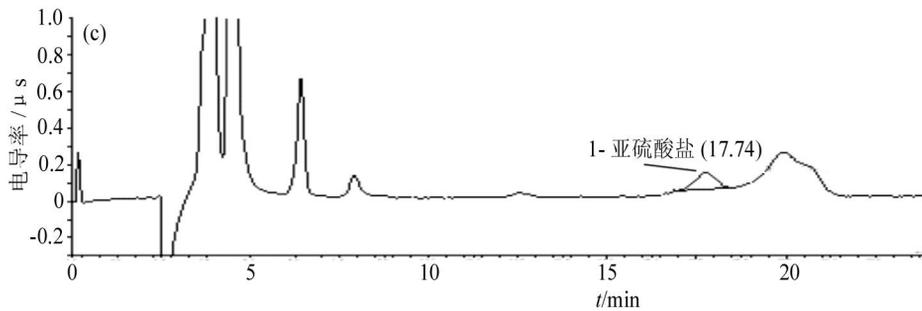


图 2 空白样品添加 4 mg/kg SO₂ 标准品的离子色谱图

Fig. 2 Ion chromatograms of the blank samples spiked with 4 mg/kg SO₂

(a) 饼干; (b) 葡萄; (c) 果脯

表 1 方法的精密度和回收率

Tab. 1 The precision and recovery of the method

加入量 (mg/kg)	饼干		葡萄		果脯	
	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
4.0	93.8	5.5	89.0	6.5	91.0	9.0
10.0	89.4	4.5	90.0	4.4	88.4	6.2
30.0	93.7	1.2	95.3	1.4	98.1	1.9

参考文献

- [1] 黎永杰, 赵美萍. 食品与发酵工业, 2004, 30(5): 99
- [2] 黄惠玲, 陶文庆. 检验检疫科学, 2006, (8): 38
- [3] GB2760-2000 食品添加剂使用卫生标准
- [4] GB/T5009.34-2003 食品中亚硫酸盐的测定方法
- [5] SN/T 0857-2000 进出口啤酒中 SO₂ 的检验方法
- [6] 日本厚生省环境卫生局. 食品中添加剂的分析方法. 北京: 中国标准出版社, 1988. 62
- [7] SN/T0230. (1~2)-1993 出口脱水蔬菜(大蒜制品) 检验规程
- [8] ISO5522-1981 水果、蔬菜及其制品 - SO₂ 总量的测定
- [9] 中华人民共和国进出口商品检验局 AOAC 编译委员会. 美国公职分析化学家协会公定分析方法 (第 15 版). 北京: 中国科学技术出版社, 1995. 1285
- [10] Hie Joon Kim. J Assoc of Anal Chem, 1990, 73(2): 216
- [11] 刘 拮, 刘克纳, 宋 强等. 食品与发酵工业, 1997, 23(4): 19
- [12] Arantza Armentla Alvarez, M Jesus Pena Egidio. J AOAC Int, 1993, 76(3): 565

Determination of sulfite in food by ion chromatography

HUANG Hui-ling^{*}, WANG Yurjian, ZHUO Hai-hua, LIU Hong-zhuan, XU Li, JI Shaofan, ZENG Min and LIN Zhengfeng (Technological Center, Hainan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Haikou 570105), Fenxi Shiyanshi, 2009, 28(8): 15~18

Abstract: A method for the determination of sulfite in food by ion chromatography has been established. The samples were extracted with 40mmol/L NaOH and reacted with formaldehyde to form hydroxymethyl sulfonic acid. The pigment and fat were removed with ENVI-Carb cartridge and petroleum ether, respectively. Then the derivation, hydroxymethyl sulfonic acid, was determined with ion chromatography equipped with a conductance detector, quantified by an external standard method. In the method AS 9-HC chromatographic column was used and the mobile phase was 8 mmol/L Na₂CO₃-2.5 mmol/L NaOH. The linear range for sulfite residue is 0~6.0 mg/L with the correlation coefficient of 0.9989, relative standard deviations and recoveries are 1.3%~9.1% and 88.4%~98.1%, respectively. The method is proved to be rapid, accurate and practical.

Key words: Ion chromatography; Food; Sulfite