

四氯汞钠吸收比色法测定香菇中二氧化硫残留量

高牡丹, 李 静, 鲍连艳*

(山东省食品药品检验研究院, 济南 250100)

摘 要: **目的** 建立四氯汞钠吸收比色法测定香菇中二氧化硫残留量。**方法** 样品与盐酸蒸馏后反应生成二氧化硫气体, 与四氯汞钠溶液混合反应后过滤, 取滤液与甲醛及盐酸副玫瑰苯胺作用生成紫红色络合物, 与标准系列比色定量, 计算得到样品中二氧化硫含量。**结果** 在 0~0.16 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 二氧化硫的浓度与吸光度有良好的线性关系, $r^2=0.9991$ 。相对标准偏差为 1.0%~2.8%, 相对极差为 3.1%~7.6%。与国标法相比, 不存在显著性差异($F < F_{表}$)。**结论** 该方法精密度高, 准确度好, 操作简便, 适用于香菇二氧化硫残留量的检测。**关键词:** 香菇; 二氧化硫; 滴定; 比色; 蒸馏; 过滤; 分光光度法

Determination of sulfur dioxide residue in *Lentinus edodes* by sodium mercury tetrachloride absorption colorimetry

GAO Mu-Dan, LI Jing, BAO Lian-Yan*

(Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250100, China)

ABSTRACT: Objective To establish a sodium tetrachloromercuric absorption colorimetry for the determination of sulfur dioxide residue in *Lentinus edodes*. **Methods** The sample was distilled with hydrochloric acid to generate sulfur dioxide gas, which was mixed with sodium tetrachloromercuric solution and then filtered. The filtrate was mixed with formaldehyde and pararosaniline hydrochloride to form a purplish red complex, and compared with standard series colorimetric quantity to calculate the sulfur dioxide content in the sample. **Results** In the concentration range of 0–0.16 $\mu\text{g/mL}$, the concentration of sulfur dioxide had a good linear relationship with the absorbance, $r^2=0.9991$. The relative standard deviations were 1.0%–2.8%, and the relative ranges were 3.1%–7.6%. Compared with the national standard method, there was no significant difference ($F < F_{table}$). **Conclusion** The method has high precision, good accuracy and simple operation, which is suitable for detecting residual sulfur dioxide in *Lentinus edodes*.

KEY WORDS: *Lentinus edodes*; sulfur dioxide; titration; colorimetric; distillation; filter; spectrophotometry

1 引 言

香菇是一种有益食用菌, 含有多糖、蛋白质、矿物元素、微量元素、维生素和少量含硫天然风味物质等对人体有益的营养成分^[1-3]。在 GB 2760-2014《食品安全标准 食品添加剂使用标准》中香菇属于“干制的食用菌和藻类”范畴, 其二氧化硫残留量限量为 0.05 g/kg^[4]。按照标准规

定合理使用二氧化硫类食品添加剂不会对人体健康造成危害, 但长期超限量接触二氧化硫可能导致人类呼吸系统疾病及多组织损伤^[5]。现有相关检测二氧化硫标准有 GB 5009.34-2016《食品安全国家标准 食品中二氧化硫的测定》^[6]和 NY/T 1373-2007《食用菌中亚硫酸盐的测定 充氮蒸馏—分光光度法》^[7]。但 GB 5009.34-2016^[6]在测定香菇二氧化硫残留量过程中, 由于香菇含硫风味化合

*通讯作者: 鲍连艳, 高级工程师, 主要研究方向为食品检验与质量控制。E-mail: 280286057@qq.com

*Corresponding author: BAO Lian-Yan, Senior Engineer, Shandong Institute of Food and Drug Control, No. 99, Tianzhu Road, High-tech Zone, Jinan 250100, China. E-mail: 280286057@qq.com

物的干扰^[8-10],蒸馏后吸收液会变为浅棕色至黑色悬浊液(鲜香菇吸收液为淡棕色,干制香菇吸收液颜色较深,可至黑色),严重影响滴定终点判定,无法得到准确的分析结果。NY/T 1373-2007 由于最后比色体系为碱性,盐酸副玫瑰苯胺有明显的颜色效应,造成试剂干扰较大,难以得到准确的结果^[11]。而且该方法步骤复杂,不利于操作。由于标准方法存在缺陷,使香菇样品出现错检、误判的风险增大,因而亟需能够准确测定香菇二氧化硫残留量检测方法,为我国政府部门食品安全的监管工作提供更科学的依据,以更好地保障食品安全,保护消费者的身体健康。

通常采用四氯汞钠溶液浸泡提取样品中的二氧化硫,然后使用分光光度法进行测定^[12]。但是由于四氯汞钠浸泡香菇后液体为浅棕色至深棕色,过滤也难以除去,在比色环节中,使吸光度明显增大,无法得到准确的结果。胡华英^[13]以四氯汞钠溶液为吸收液,加酸蒸馏,接收液显色后进行比色定量。然而实际香菇蒸馏后四氯汞钠接收液为棕色至黑色悬浊液,无法直接进行比色定量。因此本研究将蒸馏后的接收液进行过滤,然后比色定量,能够有效消除干扰,并将前期建立的“乙酸铅吸收加酸过滤滴定法”^[14]和本方法进行了简要分析比较。2种方法均能够有效消除香菇含硫化物干扰,准确测定二氧化硫残留量,弥补现有二氧化硫检测方法的不足,为日后标准修订提供参考。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

2.1.1 材料

鲜香菇 1#~2#、干香菇 1#~4#: 购自市场,样品粉碎均匀;干制银耳阳性质控样: 实验室自制,粉碎均匀。

2.1.2 试剂与试剂配制

盐酸、乙酸铅、可溶性淀粉、亚硫酸氢钠、冰乙酸、氯化高汞、氯化钠、氨基磺酸铵、甲醛(36%)(分析纯,国药集团有限公司);盐酸副玫瑰苯胺(分析纯,天津科密欧有限公司)、碘标准滴定溶液(0.1 mol/L)、硫代硫酸钠标准溶液(0.1 mol/L)(上海安谱实验科技股份有新公司);改性聚醚消泡剂(济南多维桥化工有限责任公司)。

四氯汞钠吸收液: 称取 13.6 g 氯化高汞及 6.0 g 氯化钠,溶于水中并稀释定容至 1000 mL,放置过夜,过滤后备用。

盐酸副玫瑰苯胺显色液: 吸取 20 mL 盐酸副玫瑰苯胺,置于 100 mL 容量瓶中,边加水稀释,边加盐酸(1:1, V:V),使溶液刚好保持黄色,定容。

二氧化硫标准溶液(1 mg/mL): 按照 GB/T5009.34-2003^[15]标准中 3.10 配制和标定。

二氧化硫标准使用液(2 μg/mL): 临用前将二氧化硫标准溶液(1 mg/mL)以四氯汞钠吸收液稀释至 2 μg/mL。

2.2 仪器与设备

MS204S 电子分析天平(瑞士梅特勒公司);ST106-1RW 智能一体化蒸馏仪(济南盛泰电子科技有限公司);UV-2700 紫外可见分光光度计(日本岛津公司)。

2.3 实验方法

称取 10 g 均匀样品(精确至 0.01 g,取样量可视含量高低而定)置于 500 mL 蒸馏烧瓶中。加入约 250 mL 水,加入适量消泡剂和玻璃珠。装上冷凝装置,冷凝管下端插入预先加入 25 mL 四氯汞钠吸收液的 200 mL 容量瓶的液面下。然后在蒸馏瓶中加入 10 mL 盐酸溶液(1:1, V:V),立即盖塞,加热蒸馏。当吸收液约 150 mL 时,使冷凝管下端离开液面,再蒸馏 1 min,用水定容,摇匀,过滤备用。吸取 1.00~5.00 mL 滤液于 25 mL 带塞比色管中。

另吸取 0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.50、2.00 mL 二氧化硫标准使用液(2 μg/mL)(相当于比色液浓度: 0、0.016、0.032、0.048、0.064、0.08、0.12、0.16 μg/mL),分别置于 25 mL 带塞比色管中。于试样及标准管中各加入四氯汞钠溶液至 10 mL,然后再加入 1 mL 氨基磺酸铵溶液(12 g/L)、1 mL 甲醛溶液(2 g/L)及 1 mL 盐酸副玫瑰苯胺显色液,定容后摇匀,放置 20 min。用 1 cm 比色皿,以零管调节零点。于波长 550 nm 处测吸光度,绘制标准曲线。根据样品试液的吸光度,计算样品中二氧化硫含量。

3 结果与分析

3.1 标准曲线、线性范围及方法检出限

按照 2.3 进行实验,标准曲线各点吸光度见图 1。以吸光度为纵坐标,二氧化硫含量为横坐标,建立标准曲线回归方程为 $Y=0.0401X+0.0034$,相关系数 $r^2=0.9991$,表明在 0~0.16 μg/mL 浓度范围内,二氧化硫的浓度与吸光度有良好的线性关系。以 3 倍空白值的标准偏差($n=20$)对用的样品浓度计算检出限^[16]。当样品质量为 10.00 g 时,测定体积为 5.00 mL 时,检出限为 1 mg/kg,测定下限为 1.6 mg/kg。

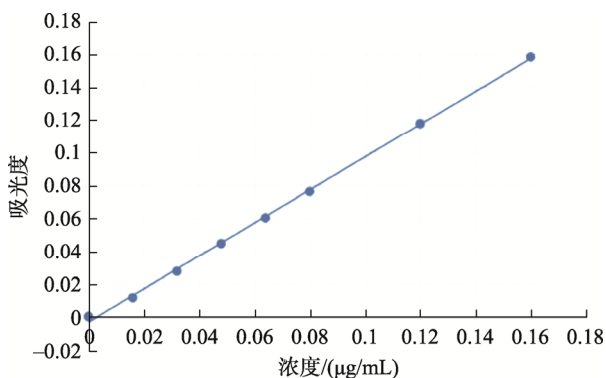


图1 二氧化硫标准曲线

Fig.1 Standard curve of sulfur dioxide

3.2 方法比对实验

由于国标法在测定香菇样品二氧化硫残留量时, 无法得出准确数据, 通过多方考察与资料收集, 选取同时适用于国标法和硼砂吸收滴定法(2.3)检测的干制银耳质控样, 进行方法比对试验。每种方法重复测定 8 次, 进行二氧化硫残留量检测, 对方法的准确度进行考察, 检测结果见表 1。将 2 组数据按照 F 检验法进行分析: 在 95% 的置信度下, 查表得 $F_{表}=3.79$, $F=1.20$, $F < F_{表}$, 表明 2 种方法的检验数据不存在显著性差异^[17]。通过 F 检验法分析, 说明四氯汞钠吸收比色法准确可信。

3.3 精密度实验

选取 6 个不同含量水平的香菇阳性样品按照四氯汞钠吸收比色法(2.3)重复测定 10 次进行精密度试验(结果见表 2)。从表 2 看出, 检验结果的相对标准偏差为 1.0%~2.8%, 均小于 3.8%, 符合 GB/T 27417-2017 《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》对实验室内变异系数的要求^[18]; 检验结果的相对极差为 7.6%, 符合 GB 5009.34-2016^[6]对精密度的要求(在重复性条件下, 获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值的 10%)。

3.4 与“乙酸铅吸收加酸过滤滴定法”的分析比较

“乙酸铅吸收加酸过滤滴定法”为前期研究中建立的测定香菇二氧化硫的新方法^[14]。本研究将这 2 种方法根据实验原理进行了简要分析比较, 详见表 3, “四氯汞钠接收比色法”采用的是分光光度法, 空白仪器响应值明显, 检出限可达 1 mg/kg, 对于二氧化硫残留量低含量样品, 准确度

较高, 对于高含量样品, 由于稀释倍数太大, 导致检测误差加大。因此, 建议低含量样品(≤ 40 mg/kg, 根据检测上限确定)用此方法测定。“乙酸铅吸收加酸过滤法”为滴定检测。一般这种方法的空白滴定体积在 0.15~0.25 mL, 因此对于低含量样品, 由于样品滴定体积与空白滴定体积差别太小, 会导致结果误差较大。因此建议检测高含量样品(≥ 20 mg/kg, 根据样品滴定体积大于 3 倍空白滴定体积确定)可以用此方法测定。

表 1 方法比对实验结果
Table 1 Test results of method comparison

序号	国标法 SO ₂ 残留量 结果/(mg/kg)	四氯汞钠吸收比色法 SO ₂ 残留量结果/(mg/kg)
1	62.8	65.7
2	64.3	63.1
3	61.5	62.0
4	63.7	63.0
5	62.0	62.7
6	61.5	62.4
7	62.7	62.7
8	63.4	63.4
平均值	62.7	63.1
标准偏差/%	1.03	1.13
F 值	1.20	

表 2 精密度实验结果
Table 2 Results of precision test

序号	四氯汞钠吸收比色法 SO ₂ 残留量结果/(mg/kg)					
	鲜香菇 1#	鲜香菇 2#	干香菇 1#	干香菇 2#	干香菇 3#	干香菇 4#
1	17.5	30.4	45.3	80.4	125.3	354.0
2	17.3	31.1	45.1	81.5	123.3	354.4
3	16.7	32.6	44.3	83.5	126.0	352.0
4	17.4	31.4	46.1	82.5	127.2	350.1
5	18.0	32.5	45.2	80.4	126.6	352.1
6	17.2	30.6	45.9	80.3	124.9	349.7
7	16.8	31.4	43.9	81.4	127.8	348.7
8	16.7	30.6	43.8	82.0	126.1	357.3
9	16.9	32.6	44.5	82.5	126.1	351.7
10	17.5	32.3	44.8	81.4	124.5	359.5
平均值	17.2	31.6	44.9	81.6	125.8	353.0
相对标准偏差/%	2.5	2.8	1.7	1.3	1.1	1.0
相对极差/%	7.6	7.0	5.1	3.9	3.6	3.1

表 3 2 种方法简要分析比较
Table 3 Brief analysis and comparison of 2 methods

方法	实验原理	简要分析
乙酸铅吸收加酸过滤滴定法	在密闭容器对样品进行酸化、蒸馏。生成的 SO ₂ 用乙酸铅溶液吸收。吸收后的溶液用盐酸酸化，过滤去除杂质，再以碘标准溶液滴定，根据所消耗的碘标准溶液体积计算样品二氧化硫残留量。	SO ₂ 被吸收后，和乙酸铅生成亚硫酸铅沉淀。加入盐酸溶液后，亚硫酸铅转化为可溶性的亚硫酸。过滤去除杂质，滤液透明，滴定终点容易判定。香菇中的含硫风味物质在蒸馏过程中同时被蒸馏出来，生成黑色物质，推测可能为不溶性硫化铅，硫化铅不溶于弱酸溶液，因此加盐酸过滤后可以消除其带来的影响 ^[19] 。
四氯汞钠接收比色法	在密闭容器对样品进行酸化、蒸馏。生成的二氧化硫气体被四氯汞钠吸收液生成稳定的可溶性络合物。过滤消除杂质干扰，滤液再与甲醛及盐酸副玫瑰苯胺作用生成紫红色络合物，与标准系列比较定量。	蒸馏后生成的二氧化硫气体被四氯汞钠吸收液生成可溶性稳定络合物，过滤后比色定量。蒸馏后同样存在四氯汞钠接收液变为黑色悬浊液问题。推测有可能生成不溶性硫化汞，过滤可以除去 ^[19] 。

4 结 论

本实验改进了香菇中二氧化硫的测定方法，通过以四氯汞钠吸收液代替乙酸铅接收液，解决了国标方法检测香菇样品的方法缺陷。此方法进行了精密度、方法比对试验，相对标准偏差<3.8%， $F=1.20$ ，表明本实验所建立的分析方法结果可靠，且设备要求简单，操作简便，可以在企业和检验机构中推广使用。此外本文通过比较分析本方法与前期建立的“乙酸铅吸收加酸过滤滴定法”^[14]，2 种方法均可以准确测定香菇中二氧化硫残留量，检测者可以根据自身情况选择其中的方法进行检测。

参考文献

[1] 徐晓飞, 向莹, 张小爽, 等. 不同干燥方式对香菇品质的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(17): 259–262.
Xu XF, Xiang Y, Zhang XS, *et al.* Effect of different drying methods on quality of mushroom [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(17): 259–262.

[2] 张小爽, 徐晓飞, 张丙青, 等. 不同潮期香菇营养成分的比较研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(6): 691–694, 724.
Zhang XS, Xu XF, Zhang BQ, *et al.* Comparison of nutrition components in mushroom in different batches [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2012, 28(6): 691–694, 724.

[3] 何晋浙, 孙培龙, 朱建标, 等. 香菇营养成分的分析[J]. 食品研究与开发, 1999, (6): 44–46.
He JZ, Sun PL, Zhu JB, *et al.* Analysis of nutritional components of *Lentinus edodes* [J]. *Food Res Dev*, 1999, (6): 44–46.

[4] GB 2760-2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].
GB 2760-2014 National food safety standards-Standards for the use of food additives [S].

[5] 李芳. 食品中二氧化硫的危害及检测方法[J]. 职业与健康, 2009, 25(3): 315–316.
Li F. Hazard and detection method of sulfur dioxide in food [J]. *Occupat Health*, 2009, 25(3): 315–316.

[6] GB 5009.34-2016 食品安全国家标准 食品中二氧化硫的测定[S].
GB 5009.34-2016 National food safety standards-Determination of sulfur dioxide in food [S].

[7] NY/T 1373-2007 食用菌中亚硫酸盐的测定充氮蒸馏-分光光度计法[S].
NY/T 1373-2007 Determination of sulfite in edible fungi by nitrogen-Filled distillation-spectrophotometer [S].

[8] 李文, 陈万超, 杨焱, 等. 香菇生长过程中挥发性风味成分组成及其风味评价[J]. 核农学报, 2018, 32(2): 325–334.
Li W, Chen WC, Yang M, *et al.* Volatile flavor components and flavor quality evaluation of *Lentinula edodes* harvested at different growth stages [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2018, 32(2): 325–334.

[9] 肖冬来, 张迪, 黄小菁, 等. 香菇挥发性风味成分的气相色谱-离子迁移谱分析[J]. 福建农业学报, 2018, 33(3): 309–312.
Xiao DL, Zhang D, Huang XJ, *et al.* Aromatic volatiles in *Lentinula edodes* determined by gas chromatography-Ion mobility spectrometry [J]. *Fujian J Agric Sci*, 2018, 33(3): 309–312.

[10] 安晶晶, 王成涛, 刘国荣, 等. 鲜香菇与干香菇挥发性风味成分的分析 GC-MS[J]. 食品工业科技, 2012, 33(14): 68–71.
An JJ, Wang CT, Liu GR, *et al.* Analysis of volatile aroma components of fresh and dry *Lentinus edodes* with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(14): 68–71.

[11] 曹继英. 盐酸付玫瑰苯胺的结构与颜色效应[J]. 环境监测管理与技术, 1993, (3): 15–17.
Cao JJ. Structure and color effect of pararosaniline hydrochloride [J]. *Admin Tech Environ Monitor*, 1993, (3): 15–17.

[12] 王刚, 高山娇, 万成堂, 等. 盐酸副玫瑰苯胺法测量香菇中亚硫酸盐的不确定度分析[J]. 农业机械, 2013, (14): 60–62.
Wang G, Gao SJ, Wan CT, *et al.* Uncertainty analysis of sulfite in *Lentinus edodes* by pararosaniline hydrochloride method [J]. *Farm Mach*, 2013, (14): 60–62.

[13] 胡华英. 香菇中二氧化硫的快速测定方法[J]. 科技资讯, 2012, (26): 5–6.
Hu HY. Rapid determination of sulfur dioxide in *Lentinus edodes* [J]. *Sci Technol Inf*, 2012, (26): 5–6.

[14] 高牡丹, 李静, 鲍连艳, 等. 香菇中二氧化硫残留量检测方法的改进[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(31): 179–181.
Gao MD, Li J, Bao LY, *et al.* Improvement of detection method of sulfur dioxide residue in *Lentinus edodes* [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2018, 46(31): 179–181.

[15] GB/T 5009.34-2003 食品中亚硫酸盐的测定[S].
GB/T 5009.34-2003 Determination of sulphite in foods [S].

- [16] GB/T 5009.1-2003 食品卫生检验方法 理化部分 总则[S].
GB/T 5009.1-2003 General principles of physical and chemical parts of food hygiene inspection methods [S].
- [17] 武汉大学. 分析化学(第五版)(上册)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
Wuhan University. Analytical chemistry(fifth edition)(upper book) [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.
- [18] GB/T 27417-2017 化学分析方法确认和验证指南[S].
GB/T 27417-2017 Guidelines for validation and verification of chemical analysis methods [S].
- [19] 邵学俊, 董平安, 魏益海. 无机化学(第二版)(下册)[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2003.
Shao XJ, Dong PA, Wei YH. Inorganic chemistry (second edition) (lower book) [M]. Wuhan : Wuhan University Press, 2003.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



高牡丹, 工程师, 主要研究方向为食品检测与研究。

E-mail: 51980184@qq.com



鲍连艳, 高级工程师, 主要研究方向为食品检验与质量控制。

E-mail: 280286057@qq.com