

# 分光光度法快速检测青方腐乳中的硫化钠含量

李 丰<sup>1,2</sup>, 毓志超<sup>2\*</sup>

(1. 广州汇标检测技术中心, 广州 510670; 2. 广州智汇生物科技有限公司, 广州 510670)

**摘要:** **目的** 建立分光光度法快速检测青方腐乳制品中硫化物(以  $\text{Na}_2\text{S}$  计)的方法。**方法** 通过比较乙酸铅标准溶液反应前后的吸光度差值计算出消耗的乙酸铅量, 换算得到样品中硫化钠的含量, 以此间接检测方法判断样品中硫化物的添加情况。**结果** 在干扰离子浓度为 0.1 mol/L 的条件下, 经掩蔽剂去除后加标回收率均提高到 88.45%~91.73%, 相对标准偏差为 0.28%~1.74%。乙酸铅分光光度检测结果在 1~5 mg/kg 范围内满足要求, 相关系数大于 0.999。测定硫化钠的方法定量限为 6.0 mg/L。**结论** 该方法操作简便快速, 稳定性好、专属性强, 仪器设备需求简单, 适用于青方腐乳中非法使用硫化钠的快速检测。

**关键词:** 硫化钠; 青方腐乳; 分光光度法; 快速检测

## Rapid determination of sodium sulfide in Qingfang sufu by spectrophotometry

LI Feng<sup>1,2</sup>, YU Zhi-Chao<sup>2\*</sup>

(1. Guangzhou Huibiao Testing Technology Center, Guangzhou 510670, China;  
2. Guangzhou Zhihui Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou 510670, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for rapid determination of sulfide (based on  $\text{Na}_2\text{S}$ ) in Qingfang sufu products by spectrophotometry. **Methods** The amount of lead acetate consumed was calculated by comparing the absorbance difference before and after the reaction of lead acetate standard solution, and the content of sodium sulfide in the sample was obtained by conversion. The addition of sulfide in the sample was determined by indirect detection method. **Results** Under the condition that the interfering ion concentration was 0.1 mol/L, the recovery rates of standard addition after the removal of the masking agent were increased to 88.45%–91.73%, and the relative standard deviations were 0.28%–1.74%. The results of lead acetate spectrophotometry met the requirements in the range of 1–5 mg/kg, and the correlation coefficient was greater than 0.999. The limit of quantitation of sodium sulfide was 6.0 mg/kg. **Conclusion** The method is simple, fast, and stable, and has strong specificity, and the demand of instrument and equipment is simple, which is suitable for rapid detection of the illegally used sodium sulfide in Qingfang sufu.

**KEY WORDS:** sodium sulfide; Qingfang sufu; spectrophotometry; rapid detection

基金项目: 广州市科技计划项目(201906010045)

Fund: Supported by the Guangzhou Science and Technology Project (201906010045)

\*通信作者: 毓志超, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: zhsw\_yuzhichao@126.com

\*Corresponding author: YU Zhi-Chao, Guangzhou Zhihui Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou 510670, China. E-mail: zhsw\_yuzhichao@126.com

## 0 引言

腐乳是中国流传数千年的传统民间美食,是一种将豆腐利用霉菌发酵、腌制,二次加工的豆制品<sup>[1-3]</sup>,西方人誉之为“东方奶酪”。腐乳通常分为青方<sup>[4]</sup>、红方<sup>[5]</sup>和白方<sup>[6]</sup>。臭豆腐<sup>[7]</sup>属于青方,是指在腌制过程中加入苦浆水、盐水;大块、红辣、玫瑰等酱腐乳属于红方;甜辣、桂花、五香等属于白方。另外还有在制备过程中添加糟米,称为糟方;添加黄酒称为醉方;添加芝麻、玫瑰等称为花方<sup>[8]</sup>。现有媒体报道称部分商贩使用硫酸亚铁(俗称绿矾)<sup>[9]</sup>和硫化钠<sup>[10]</sup>快速生产臭豆腐,成品比传统工艺制备臭豆腐时间更短且品相更佳。绿矾、硫化钠与发酵物形成的卤汁可快速使臭豆腐上味着色<sup>[11]</sup>,加快臭豆腐发酵速度<sup>[12]</sup>,提高产量的同时使外观更符合消费者认知;但绿矾、硫化钠作为违法添加的非食用物质<sup>[13]</sup>,食用后会残留在消化道,分解出硫化氢,造成硫化氢中毒。因此检测青方腐乳中非法使用硫化钠具有重要的意义<sup>[14]</sup>。目前常见的硫化钠检测方法主要有化学滴定法<sup>[15]</sup>、电位滴定法<sup>[16]</sup>、沉淀法<sup>[17]</sup>、拉曼光谱法<sup>[18]</sup>、荧光探针法<sup>[19]</sup>、离子色谱法<sup>[20]</sup>、分光光度法<sup>[21]</sup>等。其中,离子色谱法应用最为广泛,灵敏度高、准确度高。但目前的离子色谱技术存在定性能力较差、操作难度高、仪器造价昂贵等缺点制约着其使用与推广。相比于离子色谱法,分光光度法具备易操作、使用成本低等优点,这使其逐步替代离子色谱法成为主流检测方法。目前常用检测硫化钠的分光光度法为亚甲基蓝法<sup>[21]</sup>,检测的是溶解态下的-2价硫。该方法的检测过程需要保持酸性环境,且容易受到其他存在于样品基质中的氧化剂或还原剂的干扰,抗干扰能力较差,准确度不高。

鉴于此,本研究参考了同类分光光度检测方法<sup>[22-23]</sup>,建立了一种通过分光光度计测定溶液中与硫化钠反应后剩余的乙酸铅的量,经计算得到样品中硫化钠的含量的方法,以此间接检测手段判断样品中硫化物的添加情况。本方法避免了复杂基质成分对直接检测硫化钠的干扰,检测时间短,使用试剂无毒无害且易于保存,适用于实验室或抽样现场检测,满足了目前对于快速检测方法即时性及准确性的要求,为青方腐乳中非法使用硫化钠的现场快速检测提供了一定参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

ICS-3000 型离子色谱仪(配有 Ag 工作电极、pH/AS/AgCl 复合参比电极、Ti 对电极的 ED3000 电化学检测器、Chromleon 6.80 色谱工作站,美国戴安公司);XW-80A 旋涡混匀器(上海青浦沪析公司);HH-2 水浴锅(常州澳华公司);KQ-100DE 超声波清洗机(昆山超声仪

器公司);TDL-40B 电动离心机(常州中捷公司);AE223 触摸式彩屏电子天平(上海舜宇恒平公司);Alpha1900 紫外-可见分光光度计(上海谱元仪器公司)。

硫化钠标准品(纯度 95%,上海晶纯公司);氢氧化钠、三水合乙酸铅、36.5%浓盐酸、硫脲、柠檬酸三铵、二甲酚橙、邻菲罗啉、乙酸钠、冰乙酸、98.5%硫代硫酸钠、65%~68%浓硝酸、氯化钙、氯化镁、硫酸铜、氯化铁、氯化铝(分析纯,国药集团有限公司);0.22 μm 微孔滤膜(有机系,天津津腾公司);实验室用水为超纯水。

臭豆腐为市售常规产品。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 标准溶液配制

硫化钠标准溶液配制:准确称取 0.0526 g 硫化钠标准物质,用超纯水溶解,定容至 50 mL,配制成质量浓度为 100 mg/L 的标准贮备液,常温避光保存。

乙酸铅标准溶液配制:准确称取 0.1166 g 三水合乙酸铅,用超纯水溶解,定容至 100 mL,配制成质量浓度为 1000 mg/L 的标准贮备液,常温避光保存。

#### 1.2.2 样品制备与检测

样品经粉碎后称取(2.0±0.5) g(精确至 0.01 g)于 500 mL 烧杯中,向烧杯中以 1:0.02:1.5[m(sample):m(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>):m(H<sub>2</sub>O)]的比例加入固体硫代硫酸钠<sup>[24]</sup>和超纯水。用玻璃棒顺时针搅拌上述溶液 30 s 左右,200 W、40 kHz、35 °C 条件下超声 15 min。再经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,得滤液及滤出物,滤液记为滤出液 A。向滤出物中加入 4.0 mL 0.05 mol/L 的氢氧化钠溶液,振荡混匀 5 min,静置 6 min 后过滤,得到滤出液 B。

向滤出液 B 中逐滴加入 0.1 mol/L 稀盐酸调节 pH 至中性(7±0.1,以 pH 计读数为准),得到中间液 C,混合滤出液 A 与中间液 C 得到中间液 D,向中间液 D 中加入 2 mL 5 mg/L 乙酸铅标准溶液,振荡混匀 20 s 后,静置 6 min,得到待测液。取 2 mL 待测液,依次加入 90 μL 1.3 mol/L 硫脲溶液、90 μL 0.2 mol/L 柠檬酸三胺溶液、90 μL 2 g/L 二甲酚橙溶液、90 μL 1.5 g/L 邻菲罗啉溶液和 90 μL 的乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH 5.4),得到显色液。显色液于波长 625.0 nm 处,用 1 cm 比色皿,以相应试剂空白作参比,经紫外-可见分光光度计测定吸光度,得到乙酸铅显色液对应的吸光度值,经标准工作曲线( $Y=0.0046X^3+0.0275X^2+0.4425X+0.0188$ , $r^2=0.9994$ ,其中 X 为吸光度值,Y 为对应乙酸铅浓度)计算得到未反应的乙酸铅的量。

根据标准曲线计算得到对应的乙酸铅浓度值,经式(1)计算样品中硫化钠含量(单位为 mg/L)。

$$\frac{C_n}{M_1} = \frac{[C_0 - C_1]}{M_2} \quad (1)$$

式中: $M_1$ ,硫化钠分子量; $M_2$ ,乙酸铅分子量; $C_n$ ,硫化钠

浓度, mg/L;  $C_1$ , 乙酸铅浓度, mg/L;  $C_0$ , 方法中乙酸铅曲线最高使用浓度值, mg/L;

实验流程时间控制在 25 min 以内, 经计算得到的硫化钠浓度为样品基质中硫化物浓度之和, 当样品中硫化物含量较低或无硫化物存在时, 经反应消耗的乙酸铅溶液较少或无消耗, 此时分光光度检测阶段得到的吸光度值接近方法设定最高值(2 mL 5 mg/L 乙酸铅溶液在方法中完全与显色剂反应后检测到的吸光度值)。此时可目视显色液颜色初步判读, 再经计算后与定量限比较( $< 6$  mg/L); 当样品中硫化物含量较高或极多时, 经反应消耗的乙酸铅溶液较多或已全部反应消耗, 此时分光光度检测阶段得到的吸光度值接近方法设定最低值或为零。此时经计算后与定量限比较, 计算结果大于等于方法定量限( $\geq 6$  mg/L)则可判读为阳性, 反之为阴性。本研究方法由于设定了乙酸铅浓度的上限, 所以当硫化物含量远超检测范围时(完全反应 2 mL 5 mg/L 乙酸铅溶液的硫化物的量), 计算结果只能用于经对比后根据定量限定性判读, 无法进行定量判读。

所以综合考虑, 本研究的快速检测方法判读方式为定性判读。

### 1.2.3 对照方法色谱条件

本实验选用离子色谱法作为对照方法。

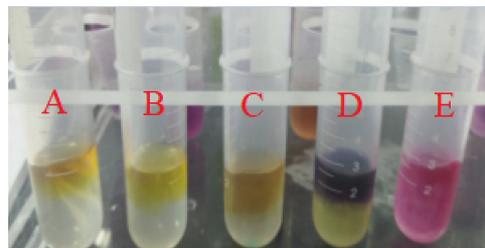
离子色谱条件如下: 色谱柱: AG7 型保护柱(4 mm $\times$ 50 mm, 10  $\mu$ m)和 AS7 型分析柱(4 mm $\times$ 250 mm, 10  $\mu$ m)。淋洗液: 100 mmol/L 氢氧化钠-250 mmol/L 乙酸钠淋洗液, 等度洗脱, 流速为 1.0 mL/min。检测器: 脉冲安培检测器(配有 Ag 工作电极、AS/AgCl 参比电极和 Ti 对电极)。检测器时间程序: 0.00 s, -0.1 V; 0.20 s, -0.1 V 开始积分; 0.90 s, -0.1 V, 积分结束; 0.91 s, -1.0 V; 0.93 s, -0.3 V; 1.00 s, -0.3 V。进样体积: 100  $\mu$ L。柱温: 35  $^{\circ}$ C。

## 2 结果与分析

### 2.1 前处理条件的优化与分析

#### 2.1.1 干扰因素分析

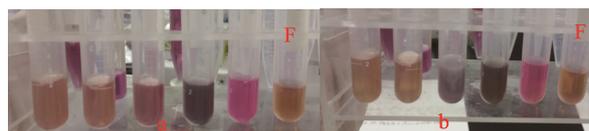
本研究中铅离子的显色反应在一定程度上会被其他重金属离子干扰<sup>[25-26]</sup>, 如:  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 。现选取常见的 5 种物质作为对比参照物, 即  $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{MgCl}_2$ 、 $\text{CuSO}_4$ 、 $\text{FeCl}_3$ 、 $\text{AlCl}_3$  进行实验。分别配制以上 5 种化合物的 0.1 mol/L 空白待测液(替代 1.2.2 中的中间液 D), 加入 2 mL 5 mg/L 乙酸铅标准溶液, 振荡混匀 20 s 后, 静置 6 min, 得到待测液。取 2 mL 待测液, 分别加入 90  $\mu$ L 2 g/L 二甲酚橙溶液、90  $\mu$ L 1.5 g/L 邻菲罗啉溶液和 90  $\mu$ L 的乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH=5.4), 立即观察现象, 如图 1。混合静置 1 min 后观察现象, 如图 2(a)所示, 混合静置 10 min 后观察现象, 如图 2(b)所示。



注: (A):  $\text{CaCl}_2$ ; (B):  $\text{MgCl}_2$ ; (C):  $\text{CuSO}_4$ ; (D):  $\text{FeCl}_3$ ; (E):  $\text{AlCl}_3$ 。

图 1 不同浓度干扰离子对铅离子显色检测结果的影响

Fig.1 Influence of different concentrations of interfering ions on the results of color detection of lead ion



注: (a): 静置 1min 后显色情况; (b): 静置 10min 后显色情况; (F): 空白对照。

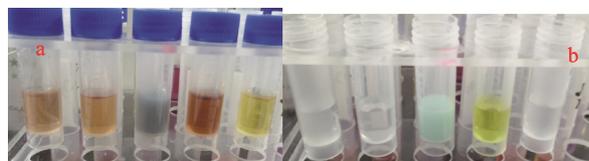
图 2 不同类别干扰离子对铅离子显色检测结果的影响颜色对比  
Fig.2 Comparison of influence of different kinds of interfering ions on the results of color detection of lead ion

经过实验分析可知, 部分金属离子对乙酸铅显色反应的干扰情况是存在的, 且随着反应时间延长, 干扰现象并没有得到缓解。所以研究如何避免对此类现象的发生, 是很有必要的。

#### 2.1.2 掩蔽剂的选择与分析

由于检测的物质为发酵豆制品成品, 其基质成分复杂, 很容易存在 2.1.1 中对铅离子显色过程干扰的金属离子, 所以需要在添加显色剂前尽可能的去除这些干扰离子。本研究选取了硫脲及柠檬酸三胺作为干扰离子掩蔽剂<sup>[27-28]</sup>, 通过实验分析了掩蔽剂的用量与方法。

分别取用 2.1.1 中 5 种 0.1 mol/L 金属离子溶液。根据 1.2.2 中制备与检测方法, 依次加入 30  $\mu$ L 1.3 mol/L 硫脲溶液、30  $\mu$ L 0.2 mol/L 柠檬酸三胺溶液、90  $\mu$ L 2 g/L 二甲酚橙溶液、90  $\mu$ L 1.5 g/L 邻菲罗啉溶液和 90  $\mu$ L 的乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH=5.4), 得到显色液, 结果见图 3(a)。再次重复以上操作, 调整硫脲溶液(1.3 mol/L)和柠檬酸三胺溶液(0.2 mol/L)使用量至各 90  $\mu$ L, 得到显色液, 结果见图 3(b)。



注: (a): 加入掩蔽剂的显色情况; (b): 未加入掩蔽剂的显色情况; 从左至右以此为:  $\text{CaCl}_2$ ;  $\text{MgCl}_2$ ;  $\text{CuSO}_4$ ;  $\text{FeCl}_3$ ;  $\text{AlCl}_3$ 。

图 3 不同类别干扰离子对铅离子显色检测结果的影响颜色对比  
Fig.3 Comparison of different kinds of interfering ions on the results of color detection of lead ion

根据实验结果分析,在浓度为 0.1 mol/L 干扰离子的条件下,将掩蔽剂用量暂定为 90  $\mu$ L 1.3 mol/L 硫脲溶液、90  $\mu$ L 0.2 mol/L 柠檬酸三胺溶液。

### 2.1.3 结果验证与分析

根据 2.1.2 中掩蔽剂用量,分析了 7 种金属离子在分光光度计显色过程中对结果的干扰情况(表 1)。选用空白基质(经检测无硫化钠及其他干扰实验结果的金属离子)豆制品代替样品,按照 1.2.2 项的步骤进行制样与检测,在样品中分别添加不同浓度的干扰离子,计算回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。当实验过程中未使用二甲酚橙与邻菲罗啉:添加金属离子浓度为 0.1 mol/L 时,平均回收率最低为 2.58% ( $Zn^{2+}$ ),对应 RSD 为 9.76%;平均回收率最高为 140.66% ( $Cu^{2+}$ ),对应 RSD 为 0.25%。添加金属离子浓度为 1.0 mol/L 时(添加掩蔽剂),平均回收率最低为 9.02% ( $Zn^{2+}$ ),对应 RSD 为 4.84%;平均回收率最高为 148.12% ( $Cu^{2+}$ ),对应 RSD 为 0.25%。当

实验过程中加入二甲酚橙与邻菲罗啉:平均回收率提高到 88.88%~90.64%。即使在较高干扰离子浓度条件下,平均回收率也有所提高。

根据实验结果可知,在干扰离子浓度为 0.1 mol/L 的条件下,经掩蔽剂去除后加标回收率均提高到 88.45%~91.73%,相对标准偏差为 0.28%~1.74%,取得了较好的实验结果。

## 2.2 方法学验证

### 2.2.1 非线性关系

配制浓度为 1.0~5.0 mg/L 的系列乙酸铅标准溶液,选取空白基质样品,按照 1.2 方法进行分析,以显色液的吸光度值为横坐标,以对应乙酸铅标准溶液浓度值为纵坐标,在 625.0 nm 波长下测试结果并绘制工作曲线。为保证相关系数大于 0.999,在 1.0~5.0 mg/kg 范围内,构建二元三次方程,见图 4 所示。

表 1 不同离子对铅离子显色反应影响程度的差异  
Table 1 Influence of different ions on color reaction of lead ion

类别	阳离子类型	回收率/%	回收率平均值/%	RSD/%
1 <sup>#</sup>		60.10/60.88/60.30	60.43	0.67
2 <sup>#</sup>	$Ca^{2+}$	88.59/90.25/91.73	90.19	1.74
3 <sup>#</sup>		59.66/60.36/59.96	59.99	0.59
1 <sup>#</sup>		65.11/64.91/65.51	65.18	0.47
2 <sup>#</sup>	$Mn^{2+}$	90.25/89.75/89.95	89.98	0.28
3 <sup>#</sup>		60.01/60.41/60.91	60.44	0.75
1 <sup>#</sup>		108.29/108.59/109.19	108.69	0.42
2 <sup>#</sup>	$Mg^{2+}$	89.22/88.92/89.42	89.19	0.28
3 <sup>#</sup>		119.56/119.36/118.96	119.29	0.26
1 <sup>#</sup>		2.35/2.85/2.55	2.58	9.76
2 <sup>#</sup>	$Zn^{2+}$	90.26/90.96/90.59	90.60	0.39
3 <sup>#</sup>		8.65/8.90/9.50	9.02	4.84
1 <sup>#</sup>		140.26/140.79/140.92	140.66	0.25
2 <sup>#</sup>	$Cu^{2+}$	89.26/88.93/88.45	88.88	0.46
3 <sup>#</sup>		148.52/147.78/148.06	148.12	0.25
1 <sup>#</sup>		60.74/61.03/61.52	61.10	0.65
2 <sup>#</sup>	$Fe^{3+}$	90.20/90.85/90.62	90.56	0.36
3 <sup>#</sup>		58.61/57.91/58.46	58.33	0.63
1 <sup>#</sup>		60.44/60.82/61.38	60.88	0.78
2 <sup>#</sup>	$Al^{3+}$	90.22/90.69/91.02	90.64	0.44
3 <sup>#</sup>		59.56/59.75/58.97	59.43	0.68

注: 1<sup>#</sup>为 0.1 mol/L 浓度金属离子存在下,无掩蔽剂添加情况下,回收率计算结果; 2<sup>#</sup>为 0.1 mol/L 浓度金属离子存在下,添加掩蔽剂后,回收率计算结果; 3<sup>#</sup>为 1.0 mol/L 浓度金属离子存在下,添加掩蔽剂后,回收率计算结果。

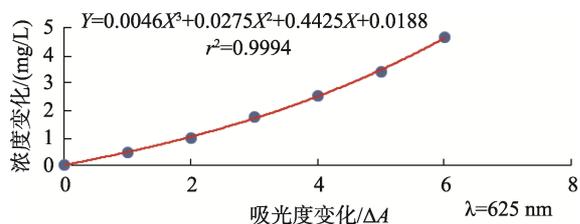


图 4 不同吸光度值对照浓度梯度  
Fig.4 Gradient with different absorbance values

从图 4 中结果发现, 吸光度变化值与浓度变化值呈非线性关系, 这与朗伯比尔定律的理论一次线性关系不符。随着乙酸铅浓度升高, 吸光度值的变化速度明显减缓, 这可能是由于高浓度的乙酸铅在复杂样品基质背景下, 与存在于样品中的某些物质发生了化学或物理变化, 使部分乙酸铅无法按既定的规则与显色剂络合, 从而造成吸光度变化值偏低, 因此导致了此类现象的发生。

2.2.2 特异性及准确率

通过 ICS-3000 型离子色谱仪进行了一系列平行对照实验, 结果见表 2。由实验结果可知: 在现有检测方法背景下, 通过离子色谱<sup>[18]</sup>进行豆制品中硫化钠检测, 检测结果与本实验方法相对准确率 > 94%, 6 mg/L 加标浓度及以上浓度, 假阳性率不超过 15%(5%~15%), 假阴性率不超过 10%(3.33%~6.67%), 满足对于快速检测方法的一般指标要求<sup>[29]</sup>。

2.2.3 定量限

在基质样品处理液中加入硫化钠标准溶液(1~20 mg/L), 分别重复测定多次, 结果见表 2。方法定量限为 6.0 mg/L。

2.2.4 加标检测结果验证

平行称取 6 份臭豆腐样品(均取自同一批号, 同一厂家产品), 每份约 2.0 g, 每份根据样品量加入 6.0 mg/L 的硫化钠。按 1.2 方法检测, 计算回收率。结果见表 3。6 份样品在本研究方法下全部检出为阳性。

表 2 离子色谱法与快速检测方法平行对照实验结果

Table 2 Results of parallel control experiment between ion chromatography and rapid detection method

类别	硫化钠加标浓度/(mg/L)	数量 (阴/阳)	阴性结果	阳性结果	显著性差异 #( $\chi^2$ )	特异性 $\Delta(P-/\%)$	假阴性率 $\ast(Pf-/%)$	假阳性率 $\blacktriangle(Pf+/\%)$	相对准确率 $\star/\%$
1*	1.0	20/30	20	30	/	/	/	/	/
2*		20/30	48	2	15.18	100	93.33	0	不计
1*	3.0	20/30	20	30	/	/	/	/	/
2*		20/30	45	5	12.80	100	83.33	0	不计
1*	6.0	20/30	20	30	/	/	/	/	/
2*		20/30	21	29	0	100	3.33	0	98
1*	8.0	20/30	20	30	/	/	/	/	/
2*		20/30	22	28	0.5	100	6.67	0	96
1*	10.0	20/30	20	30	/	/	/	/	/
2*		20/30	17	33	1.33	85	0	15	94
1*	12.0	20/30	20	30	/	/	/	/	/
2*		20/30	19	31	0	95	0	5	98
1*	20.0	20/30	20	30	/	/	/	/	/
2*		20/30	18	32	0.5	90	0	10	96

注: 1\*为离子色谱法对应检测结果, 使用方法为离子色谱法测定臭豆腐中的硫化物含量<sup>[18]</sup>; 2\*为快速检测方法对应检测结果, 使用方法为本实验方法; #为:  $\chi^2=(|N12-N21|-1)^2/(N12+N21)$ , 自由度(df)=1;  $\Delta$ 为:  $P=N22/N2$ .  $\ast$ 为:  $Pf=N12/N1=100-N11/N1$ .  $\blacktriangle$ 为:  $Pf+=N21/N2=100-N22/N2$ .  $\star$ 为  $(N11+N22)/(N1.+N2.)$ .  $N1.=N11+N12$ ;  $N1.=N11+N12$ ;  $N2.=N21+N22$ ; 其中 N11 代表阳性样品检出阳性结果的总数、N12 代表阳性样品检出阴性结果的总数、N21 代表阴性样品检出阳性结果的总数、N22 代表阴性样品检出阴性结果的总数。

表 3 加标回收率实验  
Table 3 Recovery experimental results

样品量/g	硫化钠加标浓度/(mg/kg)	本实验阳性结果	本实验阴性结果	离子色谱测得值/(mg/kg)
2.011	6.0	√	/	5.82
2.015		√	/	5.69
1.998		√	/	5.98
2.020		√	/	5.56
1.989		√	/	5.95
1.990		√	/	5.90

由加标回收率实验结果可以看出, 该方法的结果符合率达到 100%, 由此可知, 本方法具有较好的准确度, 可靠性高。

### 2.3 实际样品检测

采用本方法对 5 种、每种各 2 个批次不同厂家生产的臭豆腐样品进行检测, 按照 1.2 项下方法制备待测样品 10 份, 按照 1.2 中的检测方法进行测定, 根据结果得到 10 份臭豆腐样品中硫化钠含量均低于定量限。经对照离子色谱法验证, 硫化钠含量结果均为阴性(未检出)。

## 3 结 论

本研究建立了分光光度法快速检测青方腐乳中的硫化钠含量方法。通过检测乙酸铅溶液在反应体系中消耗的量, 计算得出样品中硫化物的含量。本方法中乙酸铅分光光度计算工作曲线的相关系数为 0.9994, 硫化物定量限为 6.0 mg/L, 结果为定性判读。方法单批次检测时间不超过 25 min, 而同类离子色谱法<sup>[18]</sup>检测时间超过 1 h, 相对比而言本研究达到了规定的一般快速检测方法的要求<sup>[29]</sup>。方法中选择了金属铅离子的检测而非直接对硫化钠进行检测, 避开了诸多干扰因素的影响, 同时也提高了反应的特异性及灵敏度, 为食品安全及食品发酵工业中的监管提供了一定的参考。基于本方法可研制对应快速检测试剂盒, 将来或可成为食品质量安全监督管理过程中一项有效的检测手段。

### 参考文献

- 何理. 发酵型臭豆腐生产工艺及营养价值的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.  
HE L. Stinky tofu production technology and nutritional value research [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012.
- 李里. 臭豆腐风味产生菌的分离、鉴定及风味产生机理初探[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.  
LI L. Stinky tofu flavor producing bacteria isolation, identification and flavor production mechanism [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010.
- HERAWATI H, KAMSIATI E. Characteristics of vegetarian patties burgers made from tofu and tempeh [J]. IOP Confer Ser: Earth Environ Sci, 2021, 653(1): 012103.
- 马艳莉, 刘亚琼, 夏亚男, 等. 青方腐乳关键挥发性风味物质研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(5): 316-321.  
MA YL, LIU YQ, XIA YN, *et al.* Study on key volatile flavor compounds of Qingfang sufu [J]. Mod Food Technol, 2015, 31(5): 316-321.
- 廖婷, 来栋, 张静, 等. 臭豆腐新工艺配方的研制与开发[J]. 宁德师范学院学报(自然科学版), 2019, 31(3): 297-302.  
LIAO T, LAI D, ZHANG J, *et al.* Research and development of a new formula for stinky tofu [J]. J Ningde Norm Univ (Nat Sci Ed), 2019, 31(3): 297-302.
- 胡文康, 孙莉, 王嘉瑞, 等. 不同类型腐乳中挥发性风味成分比较分析[J]. 中国调味品, 2020, 45(4): 47-54.  
HU WK, SUN L, WANG JR, *et al.* Comparative analysis of volatile flavor components in different types of sufu [J]. Chin Cond, 2020, 45(4): 47-54.
- 唐辉, 钟瑞敏, 朱建华, 等. 电子鼻结合 OAV 分析臭豆腐卤水挥发性成分及风味活性物质[J/OL]. 中国食品学报: 1-9. [2021-04-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4528.TS.20210302.0906.004.html>  
TANG H, ZHONG RM, ZHU JH, *et al.* Analysis of volatile components and flavor active substances in stinky tofu brine by electronic nose combined with OAV [J/OL]. J Chin Inst Food Sci Technol: 1-9. [2021-04-01]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4528.TS.20210302.0906.004.html>
- 贺静. 三种接种方式臭豆腐卤水发酵过程中主要指标研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2017.  
HE J. Study on main indexes of stinky tofu brine fermentation by three inoculation methods [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2017.
- 郑雅杰, 龚竹青, 易丹青, 等. 以硫铁矿烧渣为原料制备绿矾新技术[J]. 化学工程, 2005, (4): 51-55.  
ZHENG YJ, GONG ZQ, YI DQ, *et al.* A new technology for preparation of chlorite from pyrite cinder [J]. Chem Eng, 2005, (4): 51-55.
- 徐敏, 郑晓红, 李艳, 等. 以科学探究素养为导向的化学实验探究试题的命制——以氯化铁与硫化钠的反应现象为例[J]. 化学教育(中英文), 2020, 41(23): 11-16.  
XU M, ZHENG XH, LI Y, *et al.* The ordering of scientific inquiry oriented inquiry questions in chemical experiments: Taking the reaction between ferric chloride and sodium sulfide as an example [J]. Chem Educ (Chin Eng), 2020, 41(23): 11-16.
- 唐辉, 陈霖, 曾玉伦, 等. 长沙臭豆腐上色工艺优化及卤水浸泡前后风味物质比较[J]. 南方农业学报, 2019, 50(4): 831-837.  
TANG H, CHEN L, ZENG YL, *et al.* Color optimization of stinky tofu in

- Changsha and comparison of flavor compounds before and after soaking in brine [J]. *J Southern Agric*, 2019, 50(4): 831–837.
- [12] YANG W, GAO YY, LIANG W, *et al.* Identification and analysis of the flavor characteristics of unfermented stinky tofu brine during fermentation using SPME-GC-MS, e-nose, and sensory evaluation [J]. *J Food Measure Characteriz*, 2020, 14(1): 597–612.
- [13] 王英, 郎充, 谢静莉. 臭豆腐卤液来源的 *Lactobacillus curieae* 全基因组测序及几株乳酸菌发酵植物原料的功能活性研究[A]. 第十届乳酸菌与健康国际研讨会摘要汇编[C]. 2015: 2.  
WANG Y, LANG C, XIE JL. Whole genome sequencing of *Lactobacillus curieae* from stinky tofu brine and functional activity of several lactic acid bacteria fermented plant materials [A]. Summary of the 10th International Symposium on lactic acid bacteria and health [C]. 2015: 2.
- [14] 薛峰, 彭亚锋, 雷涛, 等. 味精中硫化钠含量测定的探讨[J]. *中国调味品*, 2011, 36(2): 115–117.  
XUE F, PENG YE, LEI T, *et al.* Determination of sodium sulfide in monosodium glutamate [J]. *Chin Cond*, 2011, 36(2): 115–117.
- [15] 秦根红, 康英源, 王树勋, 等. 一种快速检测硫化钠、硫化钡混合物中硫化钡的方法-EDTA 容量法[J]. *无机盐技术*, 2008, (4): 21–24.  
QIN GH, KANG YY, WANG SX, *et al.* EDTA volumetric method for rapid determination of barium sulfide in sodium sulfide and barium sulfide mixture [J]. *Inorg Salt Technol*, 2008 (4): 21–24.
- [16] 吴晓飞, 李茜. 利用自动电位滴定法测定碱液中氢氧化钠、硫化钠和碳酸钠的含量[J]. *产业与科技论坛*, 2013, 12(14): 59–61.  
WU XF, LI X. Determination of sodium hydroxide, sodium sulfide and sodium carbonate in lye by automatic potentiometric titration [J]. *Ind Technol Forum*, 2013, 12(14): 59–61.
- [17] 贺晓莹, 李晨, 王鹏飞, 等. 硫化钠沉淀法从含铑溶液中富集铑工艺研究[J]. *无机盐工业*, 2021, 53(4): 81–85.  
HE XY, LI C, WANG PF, *et al.* Study on the process of enriching rhodium from rhodium containing solution by sodium sulfide precipitation [J]. *Inorg Salt Ind*, 2021, 53(4): 81–85.
- [18] 河北省食品质量监督检验研究院. 一种快速检测味精中硫化钠含量的激光拉曼光谱方法: 中国, CN201110398167. 4 [P]. 2012-05-02.  
Hebei Institute of Food Quality Supervision and Inspection. A laser Raman spectroscopy method for rapid detection of sodium sulfide in monosodium glutamate: China, CN201110398167. 4 [P]. 2012-05-02.
- [19] KATLA J, KANVAH S. Styrylisoxazole-based fluorescent probes for the detection of hydrogen sulfide [J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2018, 17(1). DOI: 10.1039/C7PP00331E
- [20] 赵钰玲, 梁君妮, 焦艳娜, 等. 离子色谱法测定臭豆腐中的硫化物含量[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(24): 123–126.  
ZHAO YL, LIANG JN, JIAO YN, *et al.* Determination of sulfide content in stinky tofu by ion chromatography [J]. *Food Res Dev*, 2015, 36(24): 123–126.
- [21] 张俊峰, 栾海光, 宋健伟. 亚甲基蓝分光光度法测定铋浸出液中硫化钠[J]. *中国无机分析化学*, 2019, 9(4): 43–46.  
ZHANG JF, LUAN HG, SONG JW. Determination of sodium sulfide in antimony leaching solution by methylene blue spectrophotometry [J]. *Chin Inorg Anal Chem*, 2019, 9(4): 43–46.
- [22] 杨志洁, 郭洁, 杜建华, 等. 用二甲酚橙显色快速测定植物叶上的铅含量[J]. *理化检验(化学分册)*, 2000, (9): 412–414.  
YANG ZJ, GUO J, DU JH, *et al.* Rapid determination of lead content in plant leaves by xylenol orange [J]. *Phys Test Chem Anal (Part B Chem Anal)*, 2000, (9): 412–414.
- [23] 万邦和, 张玉林, 马烨云. 二甲苯酚橙与铅离子反应的分光光度法研究[J]. *科学通报*, 1966, (1): 17–20.  
WAN BH, ZHANG YL, MA YY. Spectrophotometric study on the reaction of xylenol orange with lead ion [J]. *Sci Bull*, 1966, (1): 17–20.
- [24] 王永斌, 黄建芬, 栗威, 等. 硫代硫酸钠沉淀法富集铜冶炼废酸中铈的实验研究[J]. *岩石矿物学杂志*, 2015, 34(1):110–116.  
WANG YB, HUANG JF, LI W, *et al.* Experimental study on enriching rhenium in copper smelting waste acid by sodium thiosulfate precipitation method [J]. *J Rock Mineral*, 2015, 34(1): 110–116.
- [25] 李超群, 田宗平, 曹健, 等. 游离酸测定过程中金属离子水解干扰和配位剂掩蔽的探讨[J]. *冶金分析*, 2016, 36(5): 69–75.  
LI CQ, TIAN ZP, CAO J, *et al.* Discussion on metal ion hydrolysis interference and complexing agent masking in the determination of free acid [J]. *Metall Anal*, 2016, 36(5): 69–75.
- [26] ENKHZAYA S, MATSUNE H, SHIOMORI K, *et al.* Chromium adsorption on sodium sulfide treated sheep wool [J]. *J Phys: Confer Ser*, 2021, 1763(1). DOI: 10.1088/1742-6596/1763/1/012009
- [27] 谭沁文, 李维国, 丛媛媛, 等. 改进分光光度法测 Ni 以规避大量干扰离子[J]. *环境工程学报*, 2012, 6(9): 3161–3166.  
TAN SW, LI WG, CONG YY, *et al.* Improved spectrophotometer to measure Ni to avoid a large amount of interference ions [J]. *J Environ Eng*, 2012, 6(9): 3161–3166.
- [28] 方月娟, 夏道宗. 分光光度法测定天然产物提取物对铅离子螯合能力的研究[J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(2): 295–298.  
FANG YJ, XIA DZ. Study on the chelating ability of natural product extract to lead ion by spectrophotometry [J]. *Chin J Tradit Chin Med*, 2016, 34(2): 295–298.
- [29] 广东省市场监督管理局办公室关于开展 2020 年食用农产品快速检测产品评价工作的通知 [EB/OL]. [2020-12-16]. [http://amr.gd.gov.cn/zwgk/tzgg/content/post\\_3151648.html](http://amr.gd.gov.cn/zwgk/tzgg/content/post_3151648.html) [2021-01-02].  
Notice of the office of Guangdong market supervision and Administration Bureau on the evaluation of edible agricultural products in 2020 [EB/OL]. [2020-12-16]. [http://amr.gd.gov.cn/zwgk/tzgg/content/post\\_3151648.html](http://amr.gd.gov.cn/zwgk/tzgg/content/post_3151648.html) [2021-01-02].

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

## 作者简介



李 丰, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品发酵。

E-mail: zhsw\_lifeng@126.com



韩志超, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: zhsw\_yuzhichao@126.com