

固相萃取-离子色谱法测定茶叶中的阴离子

郑远利, 范旻, 穆凯艳, 谭伟, 杨敏, 王红斌*

(云南民族大学 化学与生物技术学院, 民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室,
云南 昆明 650500)

摘要: 建立了用离子色谱同时测定茶叶中的 F^- 、 Cl^- 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 5 种重要阴离子的分析方法。以 Ionpac AS11 为分离柱、AG11 为保护柱、NaOH 等浓度洗脱, 以普洱绿茶为样品, 考察了不同的回流时间, 提取液体积, 筛目大小对茶叶提取率的影响, 其他 3 种茶叶作为推广。结果表明: 该方法回归方程的线性相关系数在 0.999 1~0.999 8 之间, 各组分的检出限在 0.015 mg/L~0.041 mg/L 之间, RSD 值 < 5 %, 加标回收率在 80.6 %~113.7 % 之间。该方法具有快速、灵敏、准确的特点, 用于实际茶叶样品中阴离子的分析, 结果令人满意。

关键词: 固相萃取; 离子色谱法; 茶叶; 阴离子

SPE-Ion Chromatographic Determination of Inorganic Anions in Tea

ZHENG Yuan-li, FAN Ya, MU Kai-yan, TAN Wei, YANG Min, WANG Hong-bin*

(Key Laboratory of Ethnic Medicine Resource Chemistry, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, School of Chemistry and Biotechnology, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, Yunnan, China)

Abstract: Conditions for separation and detection of F^- , Cl^- , NO_2^- , NO_3^- and SO_4^{2-} by gradient ion chromatography with suppressed conductivity detection were studied. NaOH solution as mobile phase, the target component in the extract were separated on AS11 column with AG11 as guard column. Puer tea as samples, investigated different reflux time, extract volume, the impact of mesh size on the tea extraction rate. It was found that the correlation coefficients of linear regression equations were above 0.999 1~0.999 8, and the detection limits of those anions were in the range of 0.015 mg/L~0.041 mg/L, RSD % < 5 %, the recoveries of the method were between 80.6 % to 113.7 %. The method offered fast operation, good reproducibility, high sensitivity and accuracy. The method is used for the actual of anion in the tea samples analysis, the result is satisfactory.

Key words: SPE; ion chromatograph; tea fluoride; anion

茶叶是人们不可缺少的健康饮品^[1], 是中国人的传统饮料, 茶叶与其他植物源性食品相比, 富含茶多酚类和色素类化合物^[2], 经不同工艺加工的茶叶产品成分也有很大差异, 完善对茶叶中阴离子的定性、定量分析在茶叶生产加工过程中是必不可少的环节, 对基金项目: 云南民族大学绿色化学与功能材料研究省创新团队项目 (2011HC008); 云南省高校绿色化学新能源与材料科技创新团队项目 (2011UY09); 2012 年国家级大学生创新创业训练计划项目 (201210691001)

作者简介: 郑远利 (1989—), 女 (汉), 硕士研究生, 主要从事分离分析研究工作。

* 通信作者: 王红斌 (1966—), 男 (汉), 教授, 主要从事分离分析的教學与科研工作。

茶叶品质开发具有重要意义, 茶叶中的 F、Cl、N、S 是人体必需的元素^[3]。摄入适量的氟有益于人体的健康, 可降低龋齿的发生, 但摄入过量的氟会对人体产生危害^[4-5], 茶叶中含有硝酸盐, 进入人体后可能被还原为亚硝酸盐, 使人体缺氧, 导致高铁血红蛋白症, 甚至形成致癌物质亚硝胺^[6]。目前测定茶叶中阴离子的方法有分光光度法、比色法、滴定法、离子选择性电极法、毛细管电泳等^[7-8], 这些方法操作复杂, 干扰因素多, 不能在一次测定中很好地对多种阴离子进行测定。离子色谱法^[9-11]用于阴离子的测定具有简便、快速、灵敏、试剂用量小、污染少、准确、选择性好、重现性好和多组分同时测定的优点, 已被广泛用于能源、环境、地质、食品、

医药等领域。本文采用回流法提取、固相萃取^[12]净化,离子色谱法对普洱绿茶、普洱茶生饼、普洱茶熟饼和绿茶中的5种无机阴离子进行分析测定,为茶叶中无机阴离子的分析检测提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器及试剂

茶叶样品来源:普洱绿茶、普洱茶生饼、普洱茶熟饼购于超市,绿茶从茶树上采摘晾干后制得。

ICS-1500型离子色谱仪、DS6温控电导检测器、IonPac AS11 (250 mm × 4.0 mm) 离子交换柱、IonPac AG11 (50 mm × 4.0 mm) 保护柱、ASRS-300 自动再生抑制器、chromeleon 工作站(软件带空白扣除);美国戴安公司;超声波清洗机;套式恒温器;0.45 μm 微孔过滤器、SPE-C18 固相萃取小柱、尼龙 0.22 μm 微孔滤膜。

NaOH、KF、KCl、KNO₂、KNO₃、K₂SO₄ 均为优级纯;甲醇(分析纯);试验用水为超纯水(电阻率为 18 MΩ·cm)。

标准贮备液(1 000 mg/L):将氟化钾、氯化钾、亚硝酸钾、硝酸钾、硫酸钾等用超纯水配制,于 4℃ 条件下保存待用。

1.2 色谱条件

淋洗液:7.5 mmol/L NaOH;流速:0.7 mL/min;进样量:25 μL;柱温:30℃,以保留时间定性,峰面积定量。

1.3 样品前处理

将茶叶置于烘箱中,于 80℃ 干燥 2 h 后在研钵中研碎,过不同目数的筛子备用。准确称取 0.1 g 茶叶样品,加水 30 mL,在微沸状态下回流^[13]40 min,冷却后,用 0.45 μm 的微膜过滤后用超纯水定容至 100 mL 容量瓶中,取 5 mL 提取液过 300 mg C18-SPE 柱,收集滤液过 0.22 μm 有机膜微孔滤膜,在色谱条件下进行测定。

1.4 标准曲线的绘制

取不同体积的 F⁻、Cl⁻、NO₂⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻ 标准储备液(1 000 mg/L),分别用超纯水稀释,配制一系列不同浓度 5 种阴离子的混合标准溶液,在选定的色谱条件下,测定离子的峰面积。以质量浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得到相应的线性回归方程。将待测样品的色谱峰面积代入回归方程,得到样品中各离子的浓度。

2 结果与分析

2.1 前处理条件的选择

2.1.1 淋洗液浓度

淋洗液浓度较低时不能将目标组分完全洗脱出来,且保留时间相对较长,随着淋洗液浓度的增大,洗

脱能力增强,保留时间缩短,分离度降低。由于茶叶实际样品成分复杂,干扰较多,试验了 6.5、7.5、8.0 mmol/L 等不同浓度的淋洗液后,选择 7.5 mmol/L 的 NaOH 溶液为淋洗液。

2.1.2 淋洗液流速

淋洗液流速较小,保留时间长,低流速时目标组分在 15 min 内不能完全洗脱出来,随着流速增大,保留时间缩短,当淋洗液流速为 0.8 mL/min 时,氯离子和亚硝酸根离子不能完全分离。综合考虑峰形、分析时间、峰高及泵压等因素,通过比较了 0.6、0.7、0.8 mL/min 的流速后,确定淋洗液最佳流速为 0.7 mL/min。

2.1.3 浸提时间对茶叶中各阴离子浸出的影响

试验了 20、30、40、60 min 不同回流时间对阴离子浸出的影响,试验结果如图 1 所示。

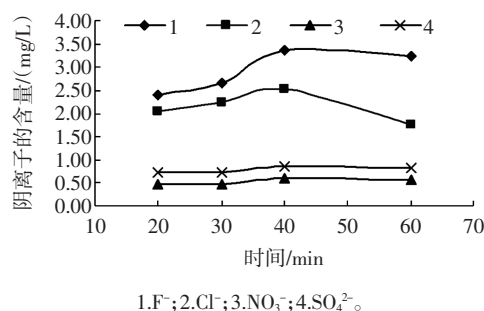


图 1 浸提时间的影响

Fig.1 Effect of extraction time

由图 1 可知,回流 40 min 时阴离子提取率达到最大。故试验选择最佳提取时间为 40 min。

2.1.4 提取液体积对茶叶中各阴离子浸出的影响

试验考察了不同提取液体积对提取率的影响。分别加入 15、20、30、40 mL 的超纯水,回流 40 min 后分别进行测定,试验结果如图 2 所示。

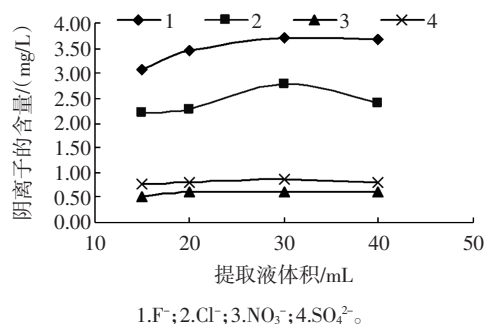


图 2 提取液体积的影响

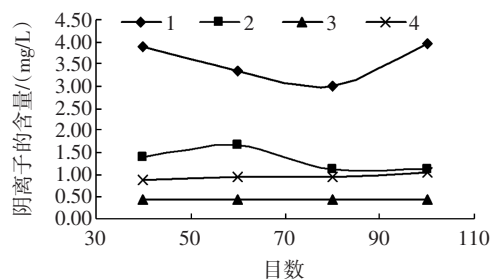
Fig.2 Effect of extraction volume

试验结果表明,不同提取液体积对 F⁻、Cl⁻ 的提取率有较大影响,从图 2 中可以看出,随着提取液的量的增加,F⁻ 和 Cl⁻ 的含量增加,当提取液的量为 30 mL 时,对 F⁻ 和 Cl⁻ 的提取达到最大。不同提取液体积对 NO₃⁻、

SO_4^{2-} 的影响较小,加入提取液体积为 30 mL 时各离子的相对提取率较高。因此选择提取液体积为 30 mL。

2.1.5 不同筛目对茶叶中阴离子浸出的影响

将茶叶烘干后用研钵研碎,分别过 40、60、80、100 目的筛子,准确称取 0.1 g 茶叶样品,经前处理后,进仪器测定,结果如图 3 所示。



1. F^- ; 2. Cl^- ; 3. NO_3^- ; 4. SO_4^{2-} 。

图 3 筛目大小的影响

Fig.3 Effect of mesh size

从图 3 中可以看出,过 100 目筛子的样品中的 Cl^- 的含量不是最大,但其他 3 种离子的含量都比过其他筛目的离子含量高,综合考虑选用 100 目的筛子。

2.2 方法的检出限、相关系数和标准曲线

配制一系列不同浓度的标准溶液,按本试验方法对 5 种无机阴离子标准溶液进行测定,以峰面积(y)对质量浓度(x)进行线性回归,得到 5 种阴离子的线性范围、线性方程和检出限,见表 1。

表 1 5 方法的线性范围、线性方程和检出限

Table 1 Linearity ranges, linear regression equations and the detection limits of the methods

阴离子	线性方程	线性范围/ (mg/L)	检出限/ (mg/L)	相关 系数	RSD/%
F^-	$y=0.173\ 2x-0.016\ 3$	0.06~6.0	0.017	0.999\ 4	3.37
Cl^-	$y=0.150\ 9x-0.001\ 1$	0.06~6.0	0.015	0.999\ 4	3.55
NO_2^-	$y=0.115\ 1x-0.019\ 5$	0.1~10.0	0.038	0.999\ 7	2.24
NO_3^-	$y=0.116\ 7x-0.018\ 8$	0.1~10.0	0.041	0.999\ 8	2.07
SO_4^{2-}	$y=0.136\ 7x-0.021\ 2$	0.1~10.0	0.021	0.999\ 1	4.20

从表 1 中可知:方法的检出限在 0.015 mg/L~0.041 mg/L 之间,相关系数在 0.999 1~0.999 8 范围内,相对标准偏差 $\text{RSD}<5.0\%$ 。

2.3 方法的精密度和加标回收试验

为了验证方法的准确性,采用标准加入法对普洱茶样品中的 F^- , Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} 5 种组分做加标回收试验,结果如表 2 所示。

由表 2 可知 5 种阴离子的加标回收率在 80.8 %~108.2 %之间。通过在选定的色谱条件下,测定 1.0 mg/L 混合标准溶液,平行进样 7 次,测定结果计算相对标准

表 2 普洱茶加标回收率及精密度($n=7$)

Table 2 Tests for precision and recovery in Puer tea ($n=7$)

阴离子	本底值/ (mg/L)	测量值/ (mg/L)	加标量/ (mg/L)	回收率/%	RSD/%
F^-	4.329	4.649	0.307\ 8	104.0	2.77
Cl^-	1.142	1.434	0.317\ 3	92.0	2.96
NO_2^-	0	0.469	0.576\ 2	81.4	2.34
NO_3^-	0.42	0.846	0.527\ 3	80.8	1.30
SO_4^{2-}	2.39	3.018	0.580\ 2	108.2	2.23

偏差(RSD),结果如表 2 所示,结果表明 RSD 均小于 5.0 %,表明方法的精密度较好。

2.4 方法的推广

以普洱茶为样品,试验得出最佳前处理条件。在最佳条件下测定 3 种茶叶作为方法推广,加标回收率如表 3 所示。

表 3 5 种阴离子的加标回收试验结果

Table 3 The recovery rate of the five anions in tea samples

阴离子	绿茶回收率/%	普洱茶生饼 回收率/%	普洱茶熟饼 回收率/%
F^-	97.3	98.8	113.7
Cl^-	104.3	93.6	103.1
NO_2^-	80.6	86.9	97.7
NO_3^-	83.1	111.5	110.9
SO_4^{2-}	101.8	105.1	90.0

由表 3 可知,5 种阴离子的加标回收率在 80.6 %~113.7 %之间,满足要求。

2.5 实际样品分析

按选定的最佳试验条件,对普洱茶、普洱茶生饼、普洱茶熟饼、绿茶 4 种不同的茶叶样品进行了测定,茶叶样品经提取后测定阴离子含量结果如表 4。

表 4 茶叶样品中阴离子含量的测定结果

Table 4 Measurement results of five anions in tea samples

样品名称	阴离子含量/(mg/L)			
	F^-	Cl^-	NO_3^-	SO_4^{2-}
普洱茶生饼	5.577	2.143	0.502	2.716
普洱茶	4.329	1.142	0.420	2.390
普洱茶熟饼	3.953	2.815	0.635	3.371
绿茶	3.646	1.514	0.422	2.742

注: NO_2^- 在本试验方法条件下 4 种茶叶中均未检测到。

由表 4 可知,在 4 种茶叶样品中均未检测到 NO_2^- 原因是:所检测的茶叶样品中 NO_2^- 的含量很低或茶叶的抗氧化作用^[4]。在该试验方法的条件下不能检出。混合标准溶液色谱图和普洱茶生饼色谱图分别为图 4 和图 5 所示。国内外饮用水中无机阴离子限量标准表,如表 5 所示。

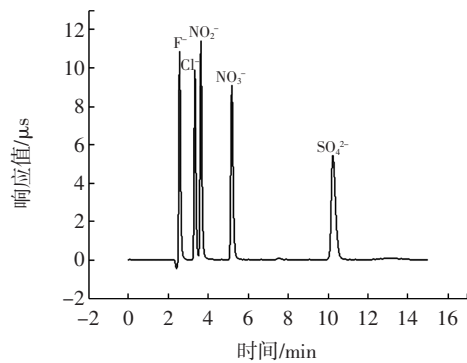


图4 混合标准溶液色谱图

Fig.4 Chromatograms of mixed standards of inorganic anions

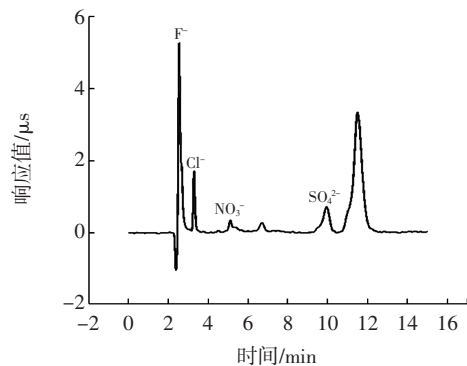


图5 普洱茶生饼色谱图

Fig.5 Chromatogram of raw puer tea cake

表5 国内外饮用水中无机阴离子限量标准表

Table 5 Determination results for different countries of drinking water

阴离子	饮用水水质限量标准/(mg/L)		
	美国	欧盟	中国
F ⁻	4	1.5	1
Cl ⁻	250	250	250
NO ₂ ⁻	1	0.5	暂无
NO ₃ ⁻	10	10	250
SO ₄ ²⁻	250	250	250

3 结论

本试验研究了提取溶液体积、提取时间、不同筛目等不同影响因子对茶叶中5种阴离子测定的影响。试验采用 ICS-1500 型离子色谱仪, Ionpac AS11 为分

离柱, 选用 SPE-C18 作为前处理净化富集柱, 建立了电导抑制—离子色谱法分离并同时检测茶叶中的 F⁻、Cl⁻、NO₂⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻ 5 种重要阴离子的试验方法。该试验方法中在 4 种茶叶中都没有检测到 NO₂⁻。所测定的茶叶浸提液中几种阴离子与国内外饮用水水质标准作对比, 普洱茶熟饼和绿茶中的 F⁻ 没有超过美国饮用水标准, 茶叶中的 F⁻ 超过欧盟和中国饮用水标准, 建议适量饮茶。本方法有较好的选择性与重现性, 且准确、快速, 对测定茶叶中阴离子可提供一定参考。

参考文献:

[1] 贾玮,黄峻榕,凌云,等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定茶叶中 290 种农药残留组分[J]. 分析测试学报, 2013, 32(1): 9-22

[2] 裴亨,高效液相色谱法测定茶叶中烟酸的含量[J]. 茶叶科学, 2011, 31(2):124-128

[3] 余卫娟,张杰,殷月芬,等. 离子色谱法测定茶叶中无机阴离子及其用于茶叶的分类[J]. 理化检验:化学分册,2012,48(3):272-274

[4] 陈练,陈新焕,杨万彪.离子色谱法同时测定茶叶中氟化物、溴化物的不确定度分析[J].食品工业科技,2012,33(17):322-324

[5] 陈练,陈新焕,罗丽容,等. 离子色谱法同时测定茶叶中氟化物, 溴化物[J]. 食品工业, 2012(11): 158-160

[6] 蔡芸梅, 侯如燕,高柱,等.离子色谱法测定茶叶中的硝酸盐和亚硝酸盐[J].茶叶科学,2012,32(2):95-99

[7] 黄芳,吴晓霞,刘燕晓,等.离子色谱法同时测定茶叶中多种阴离子[J].化学分析计量, 2011,20(1):65-67

[8] 刘静,张宁,袁悦,等. 离子色谱法测定环境水样中无机阴离子[J]. 安徽农业科学, 2011,39(16): 9772-9773

[9] 魏益华, 张金艳, 罗林广. 离子色谱法测定农村饮用水中阴离子[J]. 理化检验: 化学分册, 2012, 48(2): 213-214

[10] 谢静,杨树科,戴建辉,等. 离子色谱法测定瓶装水中阴离子[J]. 理化检验: 化学分册, 2011, 47(7): 808-810

[11] 李建元. 碧螺春茶叶中无机阴离子的离子色谱测定法[J]. 职业与健康, 2011, 27(7): 762-763

[12] 李海滨. 野波罗蜜根皮中总黄酮提取方法的比较研究[J]. 云南民族大学学报 (自然科学版), 2014, 23(1): 39-43

[13] 史娟. 加热回流法和超声波法提取淫羊藿苷的试验研究[J]. 湖北农业科学, 2013(1): 49

[14] 张天英,支春翔,张浩,等. 茶叶发酵过程中多酚变化规律及抗氧化性研究[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(15): 3144-3147

收稿日期:2014-09-19