

# 离子色谱在食品和农药残留分析中的最新应用

凌艳艳 朱岩

浙江大学西溪校区化学系 杭州 310028

**摘要:**离子色谱已经成为无机阴离子和部分有机离子的最主要的分析方法,应用的范围也从常规无机阴、阳离子分析发展到对更复杂的有机化合物,并在食品、医药、生化、农业等领域得到广泛应用。本文着重介绍目前最新的离子色谱发展技术及其在最近在对食品、农药等方面进行分析应用的情况。

离子色谱(IC)最初是为分析无机阴、阳离子而发展起来的,随着 IC 技术的发展,其应用范围也逐渐扩大,可分析的物质不仅包括各种无机阴、阳离子,还扩展到各种有机阴、阳离子及生化物质。随着人们对健康意识和环保意识的加强,IC 在食品和环境监控方面的发展尤为迅速。采用离子色谱可以对食品中各种防腐剂、添加剂等分析,并已建立了许多简单、实用的测定方法;我们曾对离子色谱在食品分析方面进行过介绍<sup>[1]</sup>,但随着离子色谱新技术的发展,在对食品添加剂、糖类、氨基酸及农药残留等的分析方面也有了新的进展。

## 1. IC 目前的发展情况

### 1.1 色谱柱的最新发展

1.1.1 Dionex 研制出一种新型的色谱柱,由于它也是由聚乙基苯乙烯-二乙烯基苯共聚物作为基质,所以它也具有较宽的 pH 值使用范围,和与水混溶的从 0~100% (v/v) 的普通反相有机溶剂的良好兼容性。它不仅可以用于离子交换色谱、还可以用于离子对和反相液相色谱<sup>[2, 3]</sup>,这种色谱柱我们称之为多维柱,也称多相柱。这种色谱柱填料被分为内外两层<sup>[3]</sup>,大孔颗粒空隙内为内层,大孔颗粒空隙内表面用具有疏水部分的缩氨酸功能化,因而具有较强的疏水性,可吸收弱极性的中性分子,实现离子对、以及反相液相色谱的分析,由于其孔径有一定的范围,因而阻止了较大的分子进入,提高分析的选择性;大孔颗粒外覆着的乳胶颗粒表面涂着的离子交换剂可实现离子交换分离,该部分具有较强的亲水性。正因为多维柱兼具离子交换和反相功能,大大扩大了 IC 的应用领域,特别能解决大量常规 HPLC 无法解决的分析问题,特别是对维生素、生物胺等的分析具有特别强的选择性。

1.1.2 新研制的并应用于实际分离的新型高效涂覆型离子色谱柱,该色谱柱采用混合阳离子和非离子表面活性剂动态或静态涂覆硅胶柱或聚合物树脂,不仅可以减小色谱柱的交换容量,而且可以大大提高色谱柱的柱效。例如分别在常规反相高效液相色谱柱等柱上非离子表面活性剂,然后再涂覆阳离子表面活性剂,制成的阴离子色谱柱柱效可以达到 80000 理论塔板数/米,可用 2mmol/L 高氯酸钠或 10mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 淋洗液实现紫外检测和抑制电导检测<sup>[4]</sup>,而以往报道的涂覆型离子色谱柱效只有 6400-10000。

### 1.2 检测器的最新发展

1.2.1 抑制电导检测:新一代抑制器提供很高的灵敏度。这种抑制器是由美国戴安公司推出的新型抑制器 Atlas 抑制器,它是 SRS 的改进型,将 SRS 的三明治结构改成叠片式结构,Atlas 较 SRS 更坚固耐用,抑制效率更高,基线更稳定,噪音更小。由于新型抑制器的使用,基线稳定,噪音小,可直接进样做到低 ng/ml 级水平,最新的报道 (Anal. Chem.) 对难做的高氯酸可做到 ng/L 水平。

1.2.2 脉冲安培检测:脉冲安培检测器的发展源于糖的检测。糖类虽可以在金或铂电极表面氧化,但氧化反应的产物会毒化电极的表面,受毒化的电极其表面的特征将改变,因而使基线漂移增强,背景噪声增高,响应值减小。为在发生氧化反应后除去电极表面的产物,恢复工作电极的性能,需在测定电压后于工作电极上先施加一个较高的正电位,然后施加一个较高的负电位,以除去电极表面可氧化或可还原的物质,由此产生了脉冲安培检测。

脉冲安培检测已逐步取代光学检测法,成为糖类<sup>[5, 6]</sup>以及各种聚醇<sup>[8]</sup>等多羟基化合物分析的一种重要检测手段。

1.2.3 积分安培检测器: 积分安培检测是对脉冲安培检测方式改进, 与普通的脉冲安培检测的区别在于: 普通的脉冲安培检测在一个脉冲周期中对电流积分所施加的电位是单一的, 而积分安培对工作电极施加的是一个对应时间波形的循环电位, 这就决定了脉冲安培检测对电流的测量是基于单次脉冲, 而积分安培在测量时是在整个循环过程中连续进行的。积分安培检测机理是连续的对工作电极施加循环电位, 使金属电极表面形成金属氧化物, 这些形成的金属氧化物对金属表面的待测物质的氧化起催化作用。因此对于那些具有孤对电子的物质如有未成键电子对基团 N, S 的胺<sup>[7]</sup>和硫化物等的测定, 该检测方法是适用的。

1.2.4 荧光检测器具有极高的灵敏度和选择性。荧光检测器在离子色谱分析中的应用也有了很大的发展, 随着离子色谱分离的适用范围扩大, 被分离大环类化合物可以采用荧光这种高灵敏、高选择性的检测, 这在生物和环境分析中尤其适用。如通过阴离子交换色谱交换分离, 荧光检测可以分析吡啶乙酸、吡啶丁酸, 该法采用多维柱 OmniPac PAX500, 0.01 mol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.45 V/V CH<sub>3</sub>OH 为淋洗液, 荧光检测激发波长 286 nm, 发射波长 360 nm, 能很好的分离检定<sup>[8]</sup>。

### 1.3 IC-MS 联用技术的发展

近年来, MS 技术因其不仅具有高灵敏的和高选择性的检测能力, 还具有对未知化合物在线定性的能力而逐步成为高效液相色谱的一种多功能的检测技术。随着液相色谱与质谱联用技术的发展, 产生了几种不同的接口技术, 常见的有: 离子束界面、热喷射 (TSP)、电子冲击 (EI)、阴极化学离子化离子束界面 (NCI)、离子喷射大气压力等。以上 HPLC 与 MS 的接口技术也可用于 IC。为克服流动相电解质带来的问题, 许多报道中采用在 IC 色谱柱之后 MS 接口之前接抑制器。Kim 等人采用阴离子交换色谱-UV+离子束 MS, 在色谱柱后, MS 接口前接抑制器, 成功的分析了水环境样品中的芳香磺酸<sup>[9]</sup>。W. Ahrer 等围绕着由流动相种类和浓度决定的 IC 与 MS 的联用之间的兼容性以及 MS 检测的灵敏度为研究对象, 使用离子交换色谱-大气压力离子化 MS 在接抑制装置和不接抑制装置两种情况下, 使用多种流动相包括碳酸盐、硫酸盐、草酸盐、柠檬酸盐等分别对水中常规低分子量的无机和有机阴离子以及卤氧离子等进行分析和检定<sup>[10]</sup>, 分离检测效果良好。另外, IC-MS 对于测定含有杂原子的农药特别适用。

## 2. 离子色谱在食品和农残分析中的应用

### 2.1 食品添加剂

2.1.1 防腐剂: 采用离子色谱抑制电导检测分离苯甲酸和山梨酸, 分离柱为两根 Dionex HPLC-AG 保护柱, 1.5mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 为淋洗液, 分离快速准确<sup>[12]</sup>。例如较常见的防腐剂苯甲酸以及尼泊金系列防腐剂, 如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯的测定, 采用 AG9HC 分离柱, 1mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 5mmol/L NaOH 淋洗液, 抑制电导检测和紫外检测串联, 紫外检测波长为 254nm, 分离效果和线性关系都较好<sup>[11]</sup>。

2.1.2 酸味剂: 食品中常见的酸味剂如柠檬酸、苹果酸、乳酸、琥珀酸等, 离子交换色谱分离这一类有机酸通常采用 IonPac® ICE-AS6 阴离子分离柱, 淋洗液为 0.4 mmol/L 七氟丁酸, 抑制电导检测器, 可以得到以上酸的良好分离, 该方法可直接被应用于分析白酒、红酒、啤酒等中的各种有机酸和其它阴离子的分析<sup>[5,6,13]</sup>。

2.1.3 食品中的甜味多为糖类或聚醇类物质, 其测定方式与糖类相同, 以食品中常用的甜味剂糖精的测定为例采用 8.0mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>+5.0mmol/L NaOH 为淋洗液, 在阴离子交换分离柱 AS-4 上分离, 抑制电导检测, 常规阴离子不干扰其测定, 对饮料样品可直接进样分析<sup>[14, 15]</sup>。

## 2.2 糖类分析

由于糖在碱性条件下阴离子化,对在恒电位下的金电极或铂电极的安培检测会产生响应值,因此可采用高灵敏度和选择性的脉冲安培检测器与离子色谱联用对糖类进行分析。朱岩在分析葡萄糖,果糖,蔗糖等过程中<sup>[16]</sup>,采用 NaOH 作淋洗液,在 AG6+AS6 阴离子分离柱上分离糖类,金电极脉冲安培检测器检测,分析效果较好;使用 NaOH 作淋洗液,在糖柱 Carbobac PA1 上分离各种聚合糖醇,脉冲安培检测<sup>[17, 18]</sup>,该方法相对于分析聚醇常使用的 GC+衍生来说,分析时间短,回收率高。

与 HPLC 相比较采用脉冲安培检测离子色谱法测定糖类有许多优越性。就检测器而言,通常 HPLC 采用光学检测器,然而糖类光学特征差,因此采用 HPLC 糖类往往采用示差折光检测,分析灵敏度和选择性比较低,无法完全满足痕量的生化分析的要求;采用脉冲安培检测,提高了分析的灵敏度和选择性,对痕量生化样品及基体复杂的样品分析具有优势。如用梯度淋洗,金电极为工作电极,Ag/AgCl 电极为参比电极,脉冲安培检测分析二糖、三糖等<sup>[19]</sup>,不仅分析时间缩短,由于安培检测灵敏度高,分析的检测限可低到几十个 ng/L。对于分析成分更复杂的糖类化合物如不同聚合度的麦芽糖、果糖等多糖时,常用 NaOH 与醋酸钠进行梯度淋洗,其中醋酸钠在淋洗过程中主要起推进作用,且对淋洗液的 pH 值不会产生影响。

## 2.3 氨基酸分析

目前氨基酸分析较常用的方法是高效液相色谱分离和柱前或柱后衍生紫外<sup>[20]</sup>或荧光检测<sup>[21]</sup>,这种方法已非常成熟。然而衍生反应的存在,总会影响测定的灵敏度和准确性。由于氨基酸是一种酸碱两性化合物,因此即可采用阳离子交换,又可采用阴离子交换分离氨基酸。虽然采用离子交换色谱间接电导检测法可以测定氨基酸<sup>[22]</sup>,该法采用对检测器是活性的流动相,测定两性的氨基酸,但实际测定过程有一定局限性。在强酸性或强碱性条件下,几乎所有氨基酸都能在铂电极或金电极上产生响应,而这现象产生的原因是金属电极表面生成的氧化物对氨基酸氧化起催化作用<sup>[23]</sup>。根据氨基酸的这两种特性,结合离子交换色谱与安培检测可实现氨基酸的直接分离检测。

阳离子交换分离氨基酸,一般采用较强酸高氯酸作淋洗液,梯度洗脱,铂电极为工作电极,参比电极为氢离子选择电极。然而该方法存在一定的局限性,如对于强酸性氨基酸在阳离子交换柱上保留很弱,分辨率很差;并且有部分氨基酸如酪氨酸、苯丙氨酸等在酸性条件下不稳定,因此氨基酸多采用阴离子交换法分离<sup>[7, 24, 25, 26, 27]</sup>,在此条件下几乎所有氨基酸都处于阴离子状态。由于不同氨基酸结构差异很大,同时分离 20 种常见氨基酸,一个固定浓度的淋洗液条件是不可能完成的,必须采用梯度淋洗。阴离子交换分离氨基酸,目前常采用较复杂的氢氧化钠/醋酸钠梯度淋洗,金电极为工作电极,pH 电极为参比电极,积分脉冲安培检测<sup>[28]</sup>,能同时测定 17 种  $\alpha$ -氨基酸及部分糖类及糖胺,大部分氨基酸的检测限可达到 fmol 范围。

## 2.4 农药测定

大多数农药结构复杂、品种繁多,虽然大多数可用 HPLC 或者 GC 分析。然而对部分不具有光学吸收且能够离子化的化合物而言,离子色谱是较好的选择。

草甘膦是一种除草剂,在农业生产上有广泛的用途。但它在环境中不易降解,并且易溶于水,对环境造成污染。由于草甘膦对光弱吸收,采用 HPLC 分离需要进行衍生或低波长紫外吸收,致使测定耗时,灵敏度不高。而草甘膦在水中有较大的电离,采用离子色谱抑制电导检测,分析柱为 AS4SC, 9mmol/LNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 4mmol/LNaOH 为淋洗液,流速为 1.5ml/min,在此条件下常规阴离子对分离无干扰,该方法可直接用于环境水样中痕量草甘膦的测定<sup>[29]</sup>。对于其它除草剂如三嗪类除草剂莠去津、扑草净、扑灭通等选择性内吸传导型除草剂。这些除草剂的使用有用量、温度等条件的限制,因此对它们必须准确的定量以控制其使用量。

三嗪类除草剂作为一种阳离子形态有机化合物可以用阳离子交换柱分离,在紫外波长为230nm处检测。采用CG-12阳离子交换分离柱紫外检测,淋洗条件为0.2mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+25/100(v/v) CH<sub>3</sub>CN,得到较好的分离<sup>[30]</sup>。

对氯苯氧乙酸是一种常见的农药,由于其含有羧酸结构,因而可采用阴离子交换色谱分离-抑制电导检测<sup>[31]</sup>,分离柱为Ionpac AG3SC+AS4SC,流动相为0.8 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>+0.5 mmol/L NaOH,抑制电导检测器。可将其与常规阴离子很好的分离,可用于对对氯苯氧乙酸和工业级产品的测定。

各种氯代乙酸,由于可在水中离解,其分析可采用的离子色谱交换法,如使用Ionpac AG9HC+AS9HC (2mm)阴离子色谱柱,15 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>,5 mmol/L NaOH流动相,抑制电导检测器分离乙酸、一氯乙酸、二氯乙酸、三氯乙酸,分析效果较好<sup>[32]</sup>。

吲哚乙酸和吲哚丁酸均为植物生长调节剂,对吲哚乙酸和吲哚丁酸的测定除了在荧光检测中所提到的方法外<sup>[8]</sup>,还可以采用离子色谱法-抑制电导检测法<sup>[33]</sup>,该方法采用的色谱柱为Ionpac AG3SC+AS4SC,流动相为3 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>+3 mmol/L NaOH,抑制电导检测器检测。

## 2.5 其它化合物分析

对毒物的测定也有广泛的应用。Jaime等采用离子交换色谱柱后电化学氧化荧光检测+MS对海产品中常见的PSP毒素进行测定,分析结果准确可靠,该方法被应用于测定浮游植物和监控海产品中PSP的含量<sup>[34]</sup>。还有一些常见的毒物如苯酚等一些酚类物质的分离,采用离子色谱法也能获得良好的分离效果<sup>[35]</sup>。

### 参考文献

1. 朱岩, *国外分析仪器技术与应用*, 1997, (1), 21
2. P. L. Annable, *J. Chromatogr. A*, 1996, 724, 199-206
3. J. R. Stillian, C. A. Pohl, *J. Chromatogr.*, 1990, 499, 249-266
4. Z. Yan, P. R. Haddad, J. S. Fritz, *J. Chromatogr. A*, in press
5. Z. Yan, Z. Xingde, N. Weijin, *Mikrochimica Acta*, 1997, 127, 189-194
6. 朱岩,朱利中,冯坚, *分析化学*, 1990, 18(2), 102-105]
7. R. Draisci, L. Giannetti, P. Boria, L. Lucentini, L. Palleschi, S. Cavalli, *J. Chromatogr. A*, 1998, 798, 109-116
8. 吴东亮, 徐茂生, 张培志, 张培敏, 孙素敏, 徐育, 朱岩, *宁波高等专科学校学报*, 2001, 13 (增刊), 147-150
9. I. S. Kim, F. I. Sasinos, D. K. Rishi, R. D. Stephens, M. A. Brown, *J. Chromatogr.*, 1991, 589, 177-183
10. A. Werner, B. Wolfgang, *J. Chromatogr. A*, 1999, 854, 275-287
11. 蒋银土, 朱岩, 沈璞, 胡美琴, *分析化学*, 2001, 29 (10), 1239
12. 朱岩, *分析化学*, 1991, 19 (3), 313-316
13. 郑一新, 陈廷俊, 夏丙乐, 朱岩, *烟草科技*, 1992, (5), 82
14. 朱岩, 杨更生, 庄向平, *化学世界*, 1990, (4), 175-178
15. 朱岩, 朱利中, 庄向平, *分析化学*, 1990, 18 (3), 263-265
16. 朱岩, *痕量分析*, 1990, (1, 2), 97
17. J. E. Hallsworth, N. Magan, *J. Microbiol. Meth.*, 1997, 29, 7-13
18. 朱岩, 王雪元, *食品科学*, 1990, (8), 54-56]
19. 朱岩, *分析仪器*, 1990, (3), 43-46
20. L. Joergensen, H. N. Thestrup, *J. Chromatogr. A*, 1995, 706:421-428
21. H. Liu, M. C. Sanuda-Pena, J. D. Harvey-White, S. A. Cohen, *J. Chromatogr. A*, 1998, 828, 383-395

22. 朱岩, 王素芬, *分析化学学报*, **2000**, 16 (2), 174
23. D. C. Johnson, D. Dobberpuhl, R. Roberts, P. Vandenberg, *J. Chromagr.* **1993**, 640, 79-96
24. V. Rizzo, A. Anesi, L. Montalbetti, G. Bellantoni, R. Trotti, G. V. Melzi d'Eril, *J. Chromatogr. A*, **1996**, 729, 181-188
25. Cavalli S, Cardellicchio N. *J. Chromatogr. A*, **1995**, 706:429~436
26. F. Qu, Z. H. Qi, K. N. Liu, S. F. Mou. *J. Chromatogr. ,B:Biomed. Appl.*, **1999**, 730:;161~166
27. J. B. Phillips Jr., B. M. Cox, *J. neurosci. Meths.*, **1997**, 75,207-214
28. P. Jandik, J. Cheng, D. Jensen, S. Manz, N. Avdalovic, *J. Chromatogr., B: Biomed. Appl.*, **2001**, 758(2), 189-196
29. Y. Zhu, F. F. Zhang, C. L. Tong, W. P. Liu. *J. Chromatogr. A*, **1999**, 850, 297-301
30. 蒋银土, 朱岩, 郭莹莹, 王慕华, 王炯, 阮秀秀, *浙江大学学报 (理学版)*, **2001**, 28 (5), 533-536
31. 裘亚钧, 徐育, 张佑球, 吴东亮, 张培敏, *宁波高等专科学校学报*, **2001**, 13 (增刊), 155-158
32. 宋周虎, 郭莹莹, 王炯, 杜汉根, 赵建新, 朱岩, *理化检验-化学分册*, **2001**, 37 (增刊), 97-99
33. 裘亚钧, 凌艳艳, 徐育, 张佑球, 吴东亮, 张培敏, *宁波高等专科学校学报*, **2001**, 13 (增刊) 151-154
34. E. Jaime, C. Hummert, P. Hess, B. Luchas. *J. Chromatogr. -A*, **2001**, 929, 43-49
35. 吕伯升, 朱岩, *环境污染与防治*, **1991**, 13 (2), 39-41

## **New application of ion chromatography on food and pesticide residua analysis**

Ling yanyan, zhu yan

*(Department of chemistry, xixi campus, zhejiang University, hangzhou 310028)*

**Abstract** : Ion chromatography technique has been applied at analyzing common inorganic anions and some organic ions such organic acids, carbohydrates and amino acids etc. and more and more complicated sample can be analyze. The review described last development of ion chromatography technique and application of ion chromatography separation technique at food and pesticide sample analysis.