

碘铂酸盐比色法测定葱属植物中总硫化物的含量

朱艳雯, 陈璐璐, 刘玲, 颜廷才, 檀德宏, 白冰*

(沈阳农业大学食品学院 沈阳 110866)

摘要 为解决葱属硫化物检测方法技术难度大、检测目标单一等局限性,本文以谷胱甘肽(GSH)为标准品,利用还原硫漂白碘铂酸盐的原理建立了一种瞬时检测葱属硫化物的方法,并对 6 种葱属植物中硫化物的含量进行检测。结果表明,该方法在线性范围(0~30 $\mu\text{g/mL}$)内线性关系良好($R^2>0.9997$),最低检出限(LOD)为 0.26 $\mu\text{g/mL}$,最低定量限(LOQ)为 0.78 $\mu\text{g/mL}$,可重复性数据为 90.4%,加标回收率均满足 80%~120%,变异系数均满足 0~5%,试验确定了检测环境为中性或酸性。利用此方法检测出 6 种葱属植物中硫化物的含量与高效液相色谱-电喷雾电离-质谱联用(HPLC-ESI-MS)法(丹磺酰氯衍生)所测得结果无显著性差异。此比色法的建立为现场快速检测葱属硫化物提供技术参考。

关键词 碘铂酸盐比色法;葱属;硫化物;HPLC-ESI-MS

文章编号 1009-7848(2023)09-0339-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.09.036

葱属、菌菇类和藻类中所含的硫化物主要是硫取代的半胱氨酸衍生物^[1-5],它们包括 3 类:烷基(烯基)半胱氨酸、烷基(烯基)半胱氨酸亚砷(蒜氨酸)和 γ -谷氨酰-烷基(烯基)半胱氨酸肽类^[6-7],它们都是葱属植物(如大蒜、洋葱、韭菜等)中风味硫的来源^[8-11],且具有生理活性^[12],如:降血糖^[13-14]、降血脂^[15]、抗菌^[16]、抗肿瘤^[17]、抗炎^[18-19]、清除自由基^[20]等。在食品工业或功能活性研究中定量分析葱属硫化物具有重要意义^[21]。

目前,常用的毛细管电泳法(CE)^[22-23]和气相色谱法(GC)^[24]仅局限于检测半胱氨酸亚砷类物质^[25],且需要衍生化处理,GC 还受含硫氨基酸衍生物不易气化和高热敏性的限制。液相色谱法(HPLC)检测前需进行柱前衍生^[26](丹磺酰氯苯、邻苯二甲醛/叔丁基硫醇、苄甲基氯甲酸酯等)处理,且仅有丹磺酰氯衍生处理才能同时实现样品中半胱氨酸硫基取代物、亚砷类硫化物以及 γ -谷氨酰-半胱氨酸衍生物的测定^[27-29]。不论是 CE、GC 还是 HPLC 均属于大型仪器检测法,不仅需要复杂的衍生化处理,还需要标准品定量。其它比色法,如用于检测氨基酸的茚三酮法^[30],检出限低

(mg/mL),对含硫氨基酸(如 Cys、Met)显色差;DTNB 法^[31]只能测定含有二硫键或游离巯基的硫化物。因此,开发出一种简单、快速、线性和重现性好、干扰小并能同时检出总有机硫化物的方法是非常有意义的。

本文研究一种可用于检测葱属硫化物的碘铂酸盐比色法,以谷胱甘肽(GSH)为标准品,对该比色法评价,指标包括:标准曲线、最低检出限(LOD)、最低定量限(LOQ)、可重复性、摩尔消光系数(ϵ)、重现性、准确度、精密度。以国内外公认的高效液相色谱-电喷雾电离-质谱联用(HPLC-ESI-MS)技术^[32]进行验证,比较 6 种葱属作物(白皮蒜、紫皮蒜、大葱、韭菜、黄洋葱及紫洋葱)的总硫化物含量。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

白皮蒜、紫皮蒜、大葱、韭菜、黄皮洋葱、紫皮洋葱,购于沈阳农业大学农贸市场;谷胱甘肽(GSH)、六氯铂酸、碘化钾、乙二胺四乙酸(EDTA)、四硼酸钠、丹磺酰氯等,购于鼎国生物技术有限公司;12 种硫化物的标准品:S-甲基-L-半胱氨酸(SMC)、S-烯丙基-L-半胱氨酸(SAC)、S-丙基-L-半胱氨酸(SPC)、S-丁基-L-半胱氨酸(SBC)、S-甲基-L-半胱氨酸亚砷(MCSO)、S-烯丙基-L-半胱氨酸亚砷(ACSO)、S-丙基-L-半胱氨酸

收稿日期:2022-09-21

基金项目:辽宁省教育厅面上项目(LJKMZ20221040);国家自然科学基金项目(31571799)

第一作者:朱艳雯,女,博士生

通信作者:白冰 E-mail:baibing@syau.edu.cn

酸亚砷 (PCSO)、*S*-丁基-*L*-半胱氨酸亚砷 (BCSO)、 γ -谷氨酰-*S*-甲基-*L*-半胱氨酸 (GSMC)、 γ -谷氨酰-*S*-烯丙基-*L*-半胱氨酸 (GSAC)、 γ -谷氨酰-*S*-丁基-*L*-半胱氨酸 (GSBC)、 γ -谷氨酰-*S*-丙基-*L*-半胱氨酸 (GSPC), 通过化学合成以及离子交换层析得到, 经过高效液相色谱-电喷雾电离-质谱联用 (HPLC-ESI-MS)、核磁共振氢谱 (^1H 和 ^{13}C NMR) 以及圆二色谱检测确定, 其纯度 > 95%^[15-16]。

高效液相色谱-电喷雾电离-质谱联用仪, 美国 Agilent 公司; 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; RE-52A 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; 台式高速离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 硫化物标准溶液的配制 12 种硫化物标准品可划分为 3 类, *S*-烷基-*L*-半胱氨酸类 (a 类): SMC (1a)、SAC (2a) 质量浓度范围: 10~60 $\mu\text{g}/\text{mL}$, SPC (3a): 10~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, SBC (4a): 5~30 $\mu\text{g}/\text{mL}$; *S*-烷基-*L*-半胱氨酸亚砷类 (b 类): MCSO (1b)、PCSO (3b) 和 BCSO (4b) 质量浓度范围为 10~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ACSO (2b): 2~10 $\mu\text{g}/\text{mL}$; γ -谷氨酰-*S*-烷基-*L*-半胱氨酸类 (c 类): GSMC (1c)、GSAC (2c)、GSPC (3c) 和 GSBC (4c) 质量浓度范围均为 100~600 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 配置溶液为磷酸缓冲液 (0.2 mol/L, pH 7.0)。标准品 GSH 质量浓度范围为 0~30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.2.2 高效液相色谱-电喷雾电离-质谱联用 (HPLC-ESI-MS)

1.2.2.1 丹磺酰氯衍生 分别取大蒜 (白皮、紫皮)、洋葱 (黄皮、紫皮)、韭菜、大葱各 10 g, 浸于 70% 乙醇 (80 mL), 煮沸灭酶; 冷却后加入 50 mL 酸化甲醇 (0.01 mol/L HCl) 研磨至匀浆, 酸化甲醇定容至 150 mL 后进行旋转蒸发 (40 $^{\circ}\text{C}$) 浓缩至 10 mL, 0.02 mol/L 硼酸盐调节 pH 值至 9.2, 并用酸化甲醇定容至 25 mL, -20 $^{\circ}\text{C}$ 储存。取 100 μL 前处理样液, 加入 250 μL 0.1 mol/L 丹磺酰氯-乙腈试剂和 1.65 mL 0.020 mol/L 硼酸缓冲液 (pH 9.2), 充分振荡后放置 15 min。

1.2.2.2 液相质谱色谱条件 HPLC-MS; Dikma C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm ID, 5 μm); 流动相:

$V_{(0.05 \text{ mol/L 醋酸钠})} : V_{(\text{甲醇})} = 70/30$ (0 min), 60/40 (35 min), 25/75 (60 min), 25/75 (65 min), 70/30 (70 min); 10 mg/mL; 20 μL ; 0.9 mL/min; 质谱 0.4 mL/min; 35 $^{\circ}\text{C}$; 250 nm; 30 Pa; ESI-MS 负离子扫描模式^[1]。

1.2.3 比色法样品的前处理 取 6 种葱属作物样品 (白皮蒜、紫皮蒜、大葱、韭菜、黄皮洋葱、紫皮洋葱) 各 5 g, 分别浸没于乙醇 (70%, 80 mL), 沸水浴加热 5 min, 冷却至室温, 匀浆, 70% 乙醇定容至 100 mL, 8 000 r/min 离心 15 min, 取上清液备用。

1.2.4 碘铂酸盐显色剂的配置 50 μL , 2×10^{-5} mmol/L 的六氯铂酸溶液与 5 mL 0.33 mol/L 的碘化钾溶液室温下充分混合, 放置 12 h 后用 1 mol/L 的冰醋酸定容至 50 mL, 配成碘铂酸盐显色剂备用。

1.2.5 比色法测定程序 取 40 μL 上清液于试管中, 40 $^{\circ}\text{C}$ 鼓风干燥箱烘干后冷却至室温, 加入 2 mL 磷酸缓冲溶液 (0.2 mol/L, pH 7.0) 和 1 mL 碘铂酸盐显色剂室温下混匀后于 495 nm 下测定吸光度, 同时作对照。

1.2.6 比色法的评价指标 比色法从线性指标、检出限 (LOD)、定量限 (LOQ)、可重复性、摩尔消光系数 (ϵ) 这 5 个指标进行评价。并利用上述提到的 6 种葱属作物样品从重现性、准确度和精确度验证比色法。

1.2.6.1 标准曲线 标准曲线被定义为吸光值和浓度的比值, 即 $(S/Q)_i = (S_i - a)/Q_i$, 其中 $(S/Q)_i$ 表示曲线中第 i 个点的吸光值 (S) 与浓度 (Q) 的比值, 即斜率, 其中 a 表示该曲线在 y 轴的截距。

1.2.6.2 最低检出限 (LOD) 和最低定量限 (LOQ) 最低检出限 (LOD): 检测出的分析物的最低浓度, $\text{LOD} = 3.3 \sigma/S$; 最低定量限 (LOQ): 能定量检测出分析物的最低量, $\text{LOQ} = 10 \sigma/S$, 两式中 σ 表示对标准品进行 3 次平行测定, 所计算出的线性回归方程在 y 轴截距的标准偏差; S 表示标准曲线的斜率。

1.2.6.3 可重复性 可重复性由相对标准偏差的平均值来表示, 即可重复性 $= (\text{RSD})_{\text{eve}} = (\text{SD}(i)/\text{Mean}(i))_{\text{eve}}$, SD 表示在吸光度的标准偏差; Mean 表示吸光度的平均值; i 表示标准品质量浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)。

1.2.6.4 摩尔消光系数 (ϵ) 摩尔消光系数 $\epsilon=A/(c \times l)$, 式中: ϵ 的单位为 $\text{cm}^2/\mu\text{mol}$, A 表示吸光值; c 表示样品浓度 ($\mu\text{mol}/\text{cm}^3$); l 表示光径 (cm), 本文选用光径为 1 cm 的石英比色皿, 495 nm 比色。

1.2.6.5 重现性 在第 1 天、第 3 天和第 7 天对葱属样品一式 3 份进行重现性检测, 重现性表示为相对标准偏差的平均值。

1.2.6.6 准确度 通过对被测组分进行 GSH (5, 10, 15 mg) 回收试验来评估其准确度。

1.2.6.7 精密度 精密度, 即变异系数 (CV%), 计算方法为添加 GSH 的同一样品的 3 个平行样的标准偏差与平均值的比值。

1.2.6.8 溶剂干扰检测 溶剂干扰因子 (k) 可以表示溶剂的干扰, $k=\epsilon_1/\epsilon_2$, 式中: ϵ_1 表示 GSH (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 在待测溶剂中的摩尔消光系数, ϵ_2 表示 GSH (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 在水中的摩尔消光系数。

2 结果与讨论

2.1 碘铂酸盐比色原理

碘铂酸盐中因含有深褐色的碘单质而具有弱氧化性, 与还原态的硫发生氧化还原反应生成无色的络合物导致深褐色变浅。因此选用含巯基 (-SH, 还原态硫) 的 GSH 作为标准品来确定这个比色过程, 如图 1。碘铂酸盐在 495 nm 处有最大吸收, 被还原后此处吸光值下降。

2.2 比色法的评价指标 (标准曲线、LOD、LOQ、可重复性、重现性、准确度和精密度)

以 GSH (0~30 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 作标准品, 如图 2, 比色法的标准曲线为 $y=0.54153-0.00798x$, 线性相关系数 0.9997, 说明此比色法线性关系良好, LOD 值 (0.26 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和 LOQ 值 (0.78 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 较低, 检出限 0.39 g/kg, 说明此比色法灵敏度较高及检出限较低; 可重复性数据 90.4%, 说明此比色法稳定性较好。

第 1 天、第 3 天和第 7 天以 GSH 为标准品利用此比色法测定 6 种葱属样品 (白皮蒜、紫皮蒜、大葱、韭菜、黄洋葱、紫洋葱) 的硫化物总含量, 得出相对标准偏差的平均值分别为 4.0%, 4.6%, 3.9%, 4.5%, 2.5%, 2.8%, 均小于 5%, 说明该方法具有良好的重现性。通过加入已知量的 GSH 计算回收率和变异系数 (表 1), 利用这两个指标反映

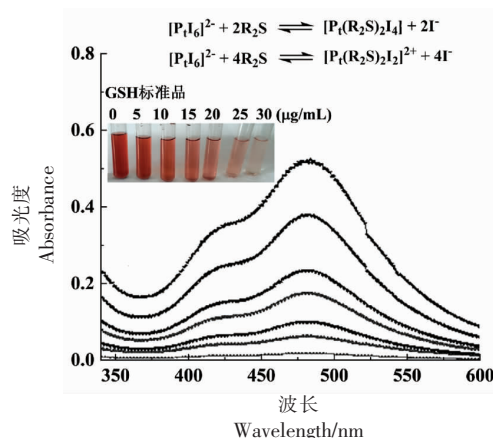


图 1 以 GSH 为标准对碘铂酸盐进行紫外可见吸收光谱校准

Fig.1 UV/Vis spectra for iodoperinate calibration using GSH as the standard

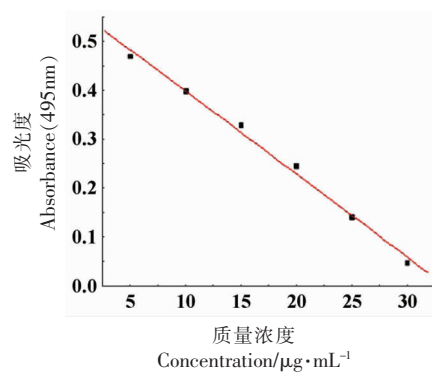


图 2 GSH 标准曲线

Fig.2 Standard curves of GSH

比色法的准确度和精密度, 发现标准品 GSH 的回收率均满足 80%~120%, 变异系数均满足 0~5%, 说明以 GSH 为标准品的此方法具有优良的准确度和精密度。

2.3 碘铂酸盐比色法测定 6 种葱属样品中总硫化物含量

以 GSH 作为标准品, 分别利用碘铂酸盐比色法测得 6 种葱属样品中硫化物总量, 得到白皮蒜、紫皮蒜、大葱、韭菜、黄洋葱、紫洋葱分别为 (6.57±1.09)g, (13.87±1.23)g, (13.96±0.98)g, (2.34±1.09)g, (1.59±0.74)g, (1.77±0.35)g。为进一步验证此方法实际应用中的准确性, 引入 HPLC-ESI-MS 法进行校对。

2.4 HPLC-ESI-MS 法测定 6 种葱属样品中总硫化物含量

以 12 种硫化物标准品为外标, 经 HPLC-ES-

表1 碘铂酸盐比色法的回收率和变异系数

Table 1 Recovery rate and variable coefficient of iodoplatinate colorimetry

样品	白皮蒜	紫皮蒜	大葱	韭菜	黄洋葱	紫洋葱
GSH 添加/ μg	-	-	-	-	-	-
	5	5	5	5	5	5
	10	10	10	10	10	10
	15	15	15	15	15	15
GSH 测量/ μg	11.53	15.28	2.22	1.94	2.08	11.53
	17.08	19.58	8.07	6.24	7.68	17.08
	20.00	23.47	13.19	10.69	12.78	20.00
	24.58	27.50	18.47	15.97	19.58	24.58
回收率/%	-	-	-	-	-	-
	111	86	117	86	112	111
	84.7	81.9	110	87.5	107	84.7
	87	81.5	108	93.5	117	87
变异系数/%	1.24	3.30	0.58	1.76	1.50	0.39
	1.84	1.16	1.06	1.21	1.51	1.57
	1.61	2.45	1.68	2.61	1.42	1.73
	2.55	1.69	2.76	1.49	1.79	2.0

I-MS 结合丹磺酰氯衍生测得 6 种葱属作物(白皮蒜、紫皮蒜、大葱、韭菜、黄皮洋葱、紫皮洋葱)中相应的硫化物含量。以白皮蒜样品为例(图 3),总离子流图中显示出 6 种有机硫化物,分别是 GSPC (2c)、PCSO (3b)、SAC (2a)、SPC (3a)、GSMC (1c)、GSBC (4c),对应质谱图(图 3, i ~ vi)。ESI-MS 正离子扫描模式下,GSPC (2c)对应质谱信息如下: GSPC (2c, $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$, 保留时间 5.3 min, $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 290.9), 并以外标法计算白皮蒜中含 GSPC (0.50 ± 0.17)mg/g; 同理,PCSO (3b, $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_3\text{NS}$), (0.86 ± 0.06)mg/g; SAC (2a, $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_2\text{NS}$), (3.86 ± 0.29)mg/g; SPC (3a, $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_2\text{NS}$), (1.25 ± 0.12)mg/g; GSMC (1c, $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$), (0.91 ± 0.23)mg/g; GSBC (4c, $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$), (0.78 ± 0.22)mg/g, 相加得到硫化物总量为(8.08 ± 0.88)mg/g。其它 5 种葱属样品依次按照此方法得出相应硫化物含量及总量,结果如表 2 所示。

2.5 HPLC-ESI-MS 法与碘铂酸盐比色法的对比分析

以 HPLC-ESI-MS 法测得 6 种葱属样品的结果为依据,评价以 GSH 为标准品时碘铂酸盐比色

法瞬时检出总有机硫化物结果的准确性。以 GSH 作标准品,比色法所得结果与 HPLC-ESI-MS 法无显著性差异。因此,碘铂酸盐比色法(GSH 为标准品)所得结果接近实际值(HPLC-ESI-MS 法),进一步证明检测葱属总硫化物时此比色法可替代 HPLC-ESI-MS 法。

本文推荐的碘铂酸盐比色法,具备操作简便、稳定性好、成本低廉、不需要衍生的预处理过程、可一次性检出有机硫化物总量的优点,适用于快检分析。本比色法显色快,且室温下放置 1 周不褪色,稳定性好,适用于葱属硫化物检测(>1 g/kg),同时也适用于硫化物含量低的豆类、菌类及十字花科类。本法可检测多种硫化物,如半胱氨酸衍生物, γ -谷氨酰半胱氨酸衍生物和亚砷衍生物,抗干扰能力强,不受样品中蛋白及氨基酸影响。

本比色法需注意的是碘铂酸盐在中性或酸性环境下稳定,另外某些溶剂具有漂白性,也会影响比色结果。本文利用吸光值(495 nm)下降比以及溶剂干扰因子 k 比较了几种常见溶剂对比色法的影响,见表 3。干扰作用越强,吸光下降越多; k 越接近 1,说明溶剂的干扰效果越小。

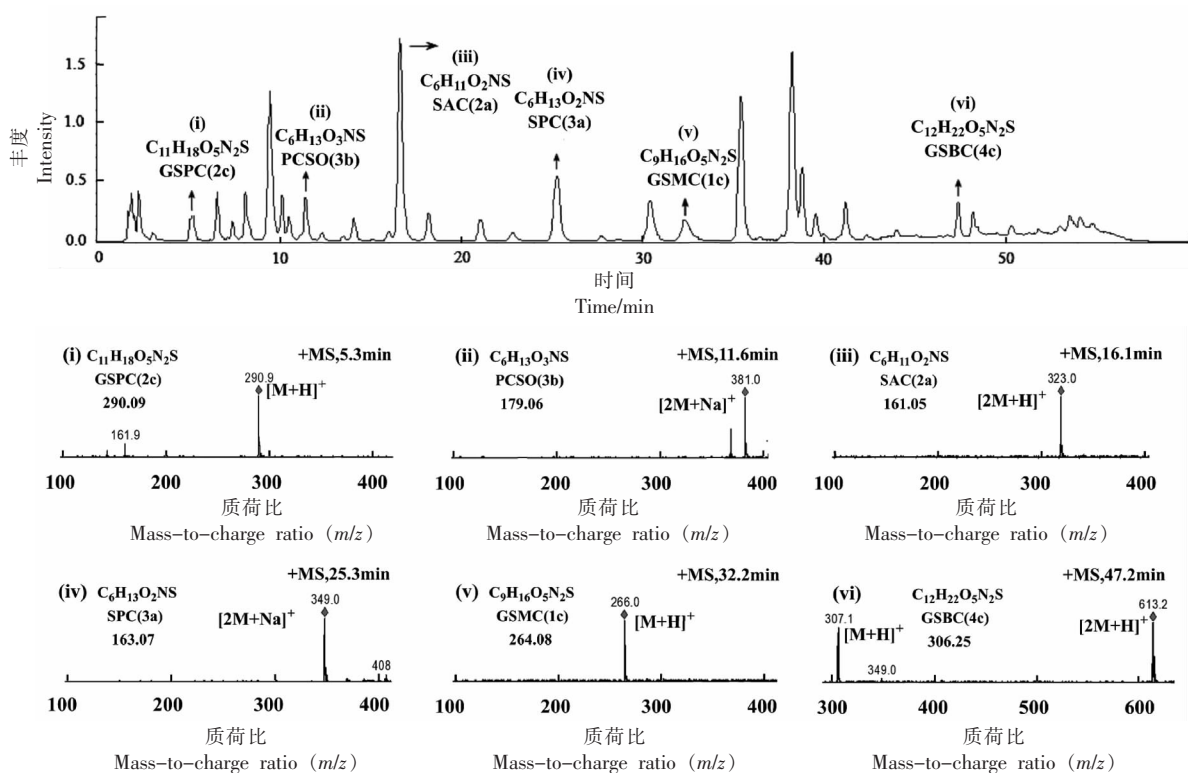


图 3 采用 HPLC – ESI – MS (用丹磺酰氯衍生) 测定白蒜的总离子色谱 (TIC) 和相应的硫化物质谱 (MS)
 Fig.3 Determination of total ion chromatogram (TIC) and corresponding sulfides mass spectrum (MS) of white garlic by HPLC-ESI-MS (derivation with dansyl chloride)

表 2 HPLC-ESI-MS (用丹磺酰氯衍生) 测定 6 种葱样品中的有机硫化物

Table 2 Determination of organic sulfides in 6 allium samples by HPLC-ESI-MS (derivation with dansyl chloride)

样品	SAC(2a)	SPC(3a)	PCSO(3b)	BCSO(4b)	GSMC(1c)	GSPC(2c)	GSBC(4c)	总硫化物 含量/mg·g ⁻¹
白皮蒜	3.86 ± 0.29	1.25 ± 0.12	0.86 ± 0.06	-	0.91 ± 0.23	0.50 ± 0.17	0.70 ± 0.22	8.08 ± 1.10
紫皮蒜	4.68 ± 0.60	1.80 ± 0.11	0.72 ± 0.11	4.15 ± 0.83	-	1.73 ± 0.15	1.61 ± 0.12	14.69 ± 0.63
大葱	0.36 ± 0.08	0.16 ± 0.07	0.35 ± 0.05	-	0.19 ± 0.05	-	0.24 ± 0.06	1.30 ± 0.19
韭菜	0.50 ± 0.13	0.33 ± 0.13	0.49 ± 0.15	-	0.08 ± 0.04	-	0.20 ± 0.05	1.60 ± 0.33
黄洋葱	0.23 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.45 ± 0.09	-	0.36 ± 0.14	-	0.34 ± 0.008	1.61 ± 0.18
紫洋葱	0.14 ± 0.03	0.13 ± 0.02	1.07 ± 0.04	-	-	-	0.36 ± 0.16	1.70 ± 0.04

表 3 溶剂干扰因子 k 值

Table 3 Solvent interference factor k value

试剂	1 mol/L 醋酸	15% 甲酸	1 mol/L 盐酸	水	5% 甲醇	5% 乙醇	5% 丙酮	80% 吡啶
吸光值下降比值 (495nm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.68	0.68	0.79
溶剂干扰因子 k	1.00	1.00	0.98	1.02	1.03	0.233	0.30	0.09

3 结论

综上所述, 本比色法具有操作简便、灵敏度高、适用范围广、利用 GSH 作标准品时可一次性

检测有机硫化物总量等特点, 可适用于现场样品快速检测分析, 是大型仪器检测分析的有益补充和替代方法。

参 考 文 献

- [1] KUBEC R, DADÁKOVÁ E. Chromatographic methods for determination of S-substituted cysteine derivatives—A comparative study[J]. Journal of chromatography A, 2009, 1216(41): 6957–6963.
- [2] WEI Z C, DING W, LI M L, et al. The caspase homologues in scallop *Chlamys farreri* and their expression responses to toxic dinoflagellates exposure[J]. Toxins, 2022, 14(2): 108.
- [3] YANG S, WANG T N, ZHOU Y N, et al. Discovery of cysteine and its derivatives as novel antiviral and antifungal agents[J]. Molecules, 2021, 26(2): 383.
- [4] LÁSZLÓ G, ANNIE Y, FLORENTINE M. Cysteine-rich antifungal proteins from filamentous fungi are promising bioactive natural compounds in anti-candida therapy[J]. Israel Journal of Chemistry, 2019, 59(5): 360–370.
- [5] MARZENNA K, SANDRA G, MACIEJ D, et al. Selective cytotoxic activity of se-methyl-seleno-L-cysteine- and se-polysaccharide-containing extracts from shiitake medicinal mushroom, *Lentinus edodes* (Agaricomycetes)[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2017, 19(8): 709–716.
- [6] YAMAGUCHI Y, HONMA R, YAZAKI T, et al. Sulfuric odor precursor S-allyl-L-cysteine sulfoxide in garlic induces detoxifying enzymes and prevents hepatic injury[J]. Antioxidants (Basel, Switzerland), 2019, 8(9): 385.
- [7] FUJII T, MATSUTOMO T, KODERA Y. Changes of S-allylmercaptocysteine and γ -glutamyl-S-allylmercaptocysteine contents and their putative production mechanisms in garlic extract during the aging process[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(40): 10506–10512.
- [8] 朱艳雯, 刘玲, 孙玮洁, 等. 硫化氢信号分子与L-乳酸脱氢酶蛋白相互作用机制的研究[J]. 分析化学, 2018, 46(7): 1145–1151.
- ZHU Y W, LIU L, SUN W J, et al. Investigation of interaction mechanism between signaling molecule hydrogen sulfide and L-lactic dehydrogenase[J]. Chinese J Anal Chem, 2018, 46(7): 1145–1151.
- [9] NOHARA T, FUJIWARA Y, EL-AASR M, et al. Thiolane-type sulfides from garlic, onion, and Welsh onion[J]. Journal of Natural Medicines, 2021, 75(4): 1–11.
- [10] RADULOVIĆ N S, MILTOJEVIĆ A B, STOJKOVIĆ MILAN B, et al. New volatile sulfur-containing compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L., Liliaceae) [J]. Food Research International, 2015, 78: 1–10.
- [11] YURI Y, SHINICHI M, MASANORI M, et al. Inhibitory activities of sulfur compounds in garlic essential oil against alzheimer's disease-related enzymes and their distribution in the mouse brain[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(35): 10163–10173.
- [12] SUBRAMANIAN M S, NANDAGOPAL M S G, AMIN N S, et al. Prevailing knowledge on the bioavailability and biological activities of sulphur compounds from alliums: A potential drug candidate [J]. Molecules, 2020, 25(18): 4111–4111.
- [13] NIRALA B K, GOHIL N K. Effect of garlic component s-allyl cysteine sulfoxide on glycated human serum albumin induced activation of endothelial cells: an in vitro study [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2015, 19(11): 2125–2131.
- [14] PADIYA R, BANERJEE S K. Garlic as an anti-diabetic agent: recent progress and patent reviews[J]. Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture, 2013, 5(2): 105–127.
- [15] SÁNCHEZ-SÁNCHEZ M, ZEPEDA-MORALES A, CARRERA-QUINTANAR L, et al. Alliin, an allium sativum nutraceutical, reduces metaflammation markers in DIO mice[J]. Nutrients, 2020, 12(3): 624–640.
- [16] FRIDMAN S, SINAI T, ZILBERG D. Efficacy of garlic based treatments against monogenean parasites infecting the guppy (*Poecilia reticulata* (Peters))[J]. Veterinary Parasitology, 2014, 203(1/2): 51–58.
- [17] CAO H, ZHU K, FAN J, et al. Garlic-derived allyl sulfides in cancer therapy[J]. Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2014, 14(6): 793–799.
- [18] ALBRAKATI A. Aged garlic extract rescues ethephon-induced kidney damage by modulating oxidative stress, apoptosis, inflammation, and histopathological changes in rats[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2020, 28(6): 6818–6829.

- [19] CAO X, CAO L, ZHANG W C, et al. Therapeutic potential of sulfur-containing natural products in inflammatory diseases [J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2020, 216: 107687.
- [20] AGASSI S, YEH T, CHANG C, et al. Potentiation of differentiation and apoptosis in a human promyelocytic leukemia cell line by garlic essential oil and its organosulfur compounds [J]. *Anticancer Research: International Journal of Cancer Research and Treatment*, 2020, 40(11): 6345–6354.
- [21] BAI B, CHEN F, WANG Z, et al. Mechanism of the greening color formation of 'Laba' garlic, a traditional homemade chinese food product [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(18): 7103–7107.
- [22] KUBEC R, DADÁKOVÁ E. Quantitative determination of S-alk(en)ylcysteine-S-oxides by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1212(2): 154–157.
- [23] 安冬, 李玉, 姜泽东, 等. 毛细管电泳-电化学发光联用分离检测水产品中的组胺和亚精胺 [J]. *中国食品学报*, 2014, 14(12): 136–142.
- AN D, LI Y, JIANG Z D, et al. Separation and determination of histamine and spermidine in aquatic products by capillary electrophoresis and electrochemiluminescence [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14(12): 136–142.
- [24] QIN W, HUBER K, POPP M, et al. Quantification of allyl methyl sulfide, allyl methyl sulfoxide, and allyl methyl sulfone in human milk and urine after ingestion of cooked and roasted garlic [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2020, 7: 565496.
- [25] NAKAYAMA Y, MAKITA M, NOZAKI S, et al. Effects of onion extract containing concentrated cysteine sulfoxides on sleep quality: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2020, 29(12): 1755–1762.
- [26] MOHAMMADI B, MAJNOONI M, KHATABI P, et al. 9-Fluorenylmethyl chloroformate as a fluorescence-labeling reagent for derivatization of carboxylic acid moiety of sodium valproate using liquid chromatography/tandem mass spectrometry for binding characterization: A human pharmacokinetic study [J]. *Journal of Chromatography B. Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2012, 880(1): 12–18.
- [27] 白冰, 陈瑜璐, 李巧莲, 等. 鲜蒜嫩鳞被中半胱氨酸肽的制备及其对豆类铁锌生物利用率的影响 [J]. *分析化学*, 2014, 42(10): 1507–1512.
- BAI B, CHEN L L, LI Q L, et al. Preparation and functional exploration of cysteine peptides from fresh garlic scales for improving bioavailability of food legume iron and zinc [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2014, 42(10): 1507–1512.
- [28] 刘玲, 陈瑜璐, 张瑶, 等. 大蒜烯丙基硫化物的分离鉴定及抗氧化性 [J]. *农业工程学报*, 2015, 31(12): 268–274.
- LIU L, CHEN L L, ZHANG Y, et al. Isolation determination of garlic allyl sulfides and their antioxidant activity [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, 31(12): 268–274.
- [29] SÁNCHEZ-VIOQUE R, RODRÍGUEZ-CONDE M, VIOQUE J, et al. A colorimetric method for determination of γ -glutamyl-S-ethenyl-cysteine in narbon vetch (*Vicia narbonensis* L.) seeds [J]. *Anal. Biochem*, 2011, 418(2): 180–183.
- [30] 杨远帆, 倪辉, 吴黎明. 茚三酮法测定蜂蜜及果葡糖浆中的氨基酸含量 [J]. *中国食品学报*, 2013, 13(2): 171–176.
- YANG Y F, NI H, WU L M. Determination of amino acid content in honey and fructose syrup by ninhydrin method [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2013, 13(2): 171–176.
- [31] SULLIVAN M L, BONAWITZ N D. Spectrophotometric determination of reaction rates and kinetic parameters of a BAHD acyltransferase using DTNB (5,5'-dithio-bis-[2-nitrobenzoic acid]) [J]. *Plant Science*, 2018, 269: 148–152.
- [32] BELLINI E, BORSÒ M, BETTI C, et al. Characterization and quantification of thiol-peptides in *Arabidopsis thaliana* using combined dilution and high sensitivity HPLC-ESI-MS-MS [J]. *Phytochemistry*, 2019, 164: 215–222.

Iodoplatinate Colorimetry for the Determination of Total Flavor Sulfur in Allium

Zhu Yanwen, Chen Lulu, Liu Ling, Yan Tingcai, Tan Dehong, Bai Bing*

(College of Food, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866)

Abstract At present, the detection methods for allium sulfides have limitations, such as technical difficulty, and single detection target. In this paper, an instantaneous method for the detection of sulfides in Allium spp. was developed using glutathione (GSH) as a standard and based on the principle of reduced sulfur bleaching iodoplatinate. The content of sulfides in six species of Allium spp. was examined using this colorimetric method. The results showed that the method had good linearity ($R^2 > 0.9997$) in the linear range (0~30 $\mu\text{g/mL}$), and the lowest detection limit (LOD) was 0.26 $\mu\text{g/mL}$. The lowest quantification limit (LOQ) was 0.78 $\mu\text{g/mL}$, and the reproducibility data was 90.4%. The recoveries of GSH ranged from 80%~120%, and the coefficients of variation were 0~5%. This paper also determined that ideal testing environments were neutral or acidic. The content of sulfides in the six species of Allium spp. detected using this method was not significantly different from that measured by the high performance liquid chromatography / electro spraying ionization-mass spectrometry (HPLC-ESI-MS, derivation with dansyl chloride). This colorimetric method was developed to provide a technical reference for the rapid detection of allium sulfides in the field.

Keywords iodoplatinate colorimetry; allium; sulfides; HPLC-ESI-MS