

气相色谱内标法测定蜜饯中的甜蜜素含量

程春梅¹, 苏建国²

(1. 浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100; 2. 淮安市食品药品检验所, 江苏 淮安 223300)

摘要: 建立气相色谱内标法测定蜜饯中甜蜜素含量的方法。蜜饯中的甜蜜素经水超声提取后, 以乙酸丁酯为内标物, 采用 HP-5 毛细管柱, 程序升温: 初温 60 ℃ 保持 6 min, 以 40 ℃/min 升温至 200 ℃ 保持 3 min, 进样口温度 230 ℃, 氢火焰离子化检测器 (flame ionization detector, FID) 260 ℃ 进行检测。当样品的称样量为 5 g 时, 蜜饯类食品中的甜蜜素的检出限为 0.008 g/kg, 方法的标准曲线线性良好, 相关系数为 0.999 0, 平均回收率在 88.46 %~104.26 % 之间, 相对标准偏差为 3.97 %。

关键词: 气相色谱法; 内标法; 蜜饯; 甜蜜素

Determination of Sodium Cyclamate in Candied Fruit by Gas Chromatography with Internal Standard Method

CHENG Chun-mei¹, SU Jian-guo²

(1. Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, Zhejiang, China; 2. Huai'an Institute for Food and Drug Control, Huai'an 223300, Jiangsu, China)

Abstract: To establish a determination method for sodium cyclamate in candied fruit by gas chromatography (GC) with internal standard. Sodium cyclamate was extracted with water. A HP-5 capillary column was used. Temperature programming: 60 ℃ (6 min) → 40 ℃/min → 200 ℃ (3 min). The injection temperature was 230 ℃, FID detector temperature was 260 ℃. When testing sample was 5 g, the detection limit was 0.008 g/kg. The correlation coefficients of the calibration curves was 0.999 0. The average recovery rates were in the range of 88.46 %~104.26 %. The relative standard deviations was 3.97 %.

Key words: gas chromatography; internal standard; candied fruit; sodium cyclamate

引文格式:

程春梅, 苏建国. 气相色谱内标法测定蜜饯中的甜蜜素含量[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(5): 182-185

CHENG Chunmei, SU Jianguo. Determination of Sodium Cyclamate in Candied Fruit by Gas Chromatography with Internal Standard Method[J]. Food Research and Development, 2019, 40(5): 182-185

甜蜜素, 化学名称为环己基氨基磺酸钠, 甜度为蔗糖的 30 倍~80 倍。由于其风味较自然, 后苦不明显, 热稳定性高, 成为目前我国食品行业中应用最多的一种甜味剂。目前世界上对甜蜜素的安全性仍存在争议, 因此在实际使用时需严格控制其添加量。GB2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中规定甜蜜素可以在一些常用食品如配制酒、饮料、果冻、

冷冻饮品、腐乳、饼干、面包、糕点、熟制豆制品等中按限量使用; 在蜜饯凉果中的凉果类、话化类、果糕类中的最大使用量为 8.0 g/kg^[1]。一些企业为了节约成本, 减少食糖的使用量, 超限量使用甜蜜素, 近年来的监督检查结果表明, 果脯蜜饯类产品甜蜜素超限量使用问题比较严重。

目前, 甜蜜素的检测方法有气相色谱法^[2-5]、液相色谱法^[6-7]、液相色谱-质谱法^[8-9]、离子色谱法^[10-11]等, 国家标准 GB 5009.97-2016《食品安全国家标准 食品中环己基氨基磺酸钠的测定》规定了气相色谱法外标

作者简介: 程春梅 (1979—), 女 (汉), 副教授, 硕士, 主要从事食品质量安全与检测工作。

法、液相色谱法、液相色谱-质谱法 3 种检测方法^[12]。气相色谱法外标法是在甜蜜素的检测工作中最常用的方法。相较于外标法,内标法由于内标物质和被测组分处在同一基体中,可以消除基体带来的干扰,而且当仪器参数和温度条件发生非人为的变化时,内标物质和样品组分都会受到同样影响,这样消除了系统误差,可以提高分析的准确度和精密度。本文建立气相色谱内标法测定果脯蜜饯中甜蜜素的方法,重点研究了样品前处理条件,内标物的选择等。

1 材料与方法

1.1 仪器

VARIAN450 气相色谱仪[附 HP-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm)、氢火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID)];美国瓦里安;SB-800D 超声波振荡器:宁波新芝生物科技股份有限公司;Eppendorf 5804R 冷冻离心机:德国艾本德;NP-30S 涡旋混合器:常州恩培仪器制造有限公司;AR2140 天平(感量 1 mg、0.1 mg):美国奥豪斯。

1.2 试剂

甜蜜素标准溶液[GBW(E)100173,浓度为 10.00 mg/mL];北京海岸鸿蒙标准物质技术有限责任公司;乙酸乙酯、甲苯、间二甲苯、邻二甲苯(色谱纯):天津市化学试剂研究所有限公司;硫酸、亚硝酸钠、氯化钠:国药集团化学试剂有限公司;正庚烷:黄骅市江峰化学品有限公司;以上试剂皆为分析纯;水为蒸馏水。

1.3 标准溶液系列的制备及衍生化

准确移取 1.00 mg/mL 甜蜜素标准溶液 1.00、2.50、5.00、10.0、25.0 mL 于 50 mL 容量瓶中,加水定容。配成标准溶液系列浓度为:0.02、0.05、0.10、0.20、0.50 mg/mL,另外加一个 1.00 mg/mL 甜蜜素标准溶液。

准确移取标准系列溶液 20.0 mL 于 50 mL 带盖离心管中,加入 2 μL 内标物。离心管置试管架上冰浴 5 min 后,准确加入 5.00 mL 正庚烷,加入 2.5 mL 亚硝酸钠溶液,2.5 mL 硫酸溶液,盖紧离心管盖,摇匀,在冰浴中放置 30 min,其间振摇 3 次~5 次;加入 2.5 g 氯化钠,盖上盖后置旋涡混合器上振动 1 min,4 ℃离心(3 000 r/min)10 min 分层,取上清液放置 1 ℃~4 ℃冰箱冷藏保存以备进样用。

2 结果与分析

2.1 内标物的选择

气相色谱内标法定量检测,内标物的选择是关键,通常气相色谱法内标物应该是样品中不含有且出

峰时间与被测组分相接近的纯物质。本文参考相关文献^[2,13-16],考察甲苯、间二甲苯、邻二甲苯、乙酸丁酯 4 种物质,在 4 支 50 mL 带盖离心管中各加入 20 mL 水,分别加入 2 μL 的乙酸丁酯、甲苯、邻二甲苯、间二甲苯,按照 1.3 的条件进行处理,参照 GB 5009.97-2016《食品安全国家标准 食品中环己基氨基磺酸钠的测定》标准的条件,采用 HP-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm),柱温升温程序条件,60 ℃恒温 6 min,进样口温度 230 ℃,氢火焰离子化检测器(FID),温度 260 ℃,取正庚烷层 1 μL 进行检测。甲苯、间二甲苯、邻二甲苯、乙酸丁酯 4 种物质的色谱图见图 1~图 4。

通过研究比较所选定 4 种内标物的出峰时间,甲苯和乙酸丁酯出峰时间比较合适,间二甲苯的峰与甜蜜素时间较为接近,邻二甲苯出峰时间比较晚,因此本文选择乙酸丁酯作为内标物质,色谱图见图 5。

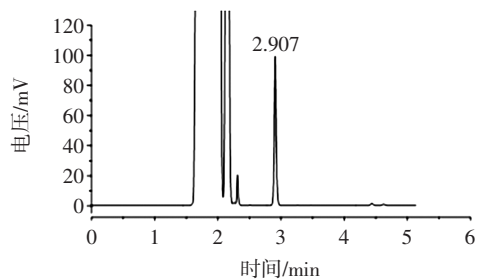


图 1 甲苯色谱图

Fig.1 Chromatograms of methylbenzene

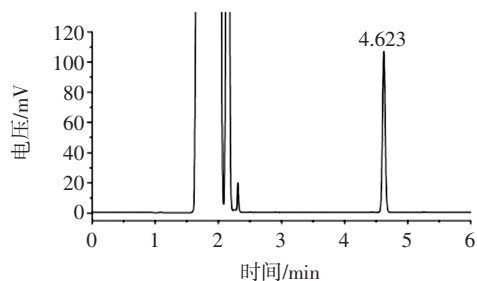


图 2 间二甲苯色谱图

Fig.2 Chromatograms of m-xylene

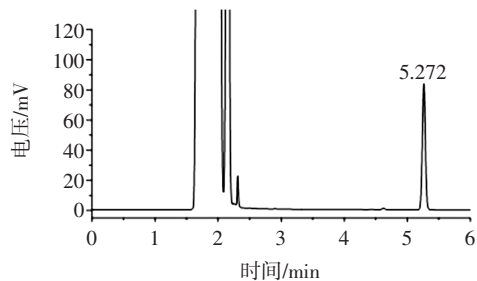


图 3 邻二甲苯色谱图

Fig.3 Chromatograms of o-xylene

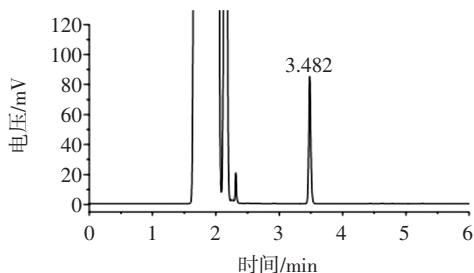


图4 乙酸丁酯色谱图

Fig.4 Chromatograms of butyl acetate

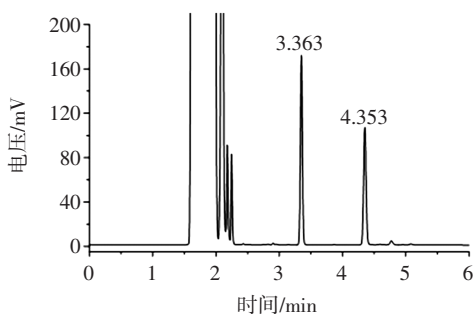


图5 甜蜜素标样和乙酸丁酯色谱图

Fig.5 Chromatograms of sodium cyclamate and butyl acetate

2.2 提取方法的改进

采用 GB 5009.97-2016 的处理方法, 操作起来相对复杂, 而且蜜饯样品一般在实验室操作时, 采用剪刀剪碎的方式处理样品, 可能存在提取转移不完全的问题, 采用蜜饯样品剪刀剪碎后, 精确称取打碎、混匀的样品 3 g~5 g 于 50 mL 离心管中, 加水, 振摇, 超声提取 20 min, 混匀, 加水至 50 mL, 混匀, 准确移取 20 mL 于 50 mL 离心管中, 加入 2 μ L 乙酸丁酯, 按 1.3 的条件进行衍生, 然后离心, 取正庚烷层用 0.22 μ m 有机滤膜过滤后 1 μ L 上机检测, 色谱图见图 6。

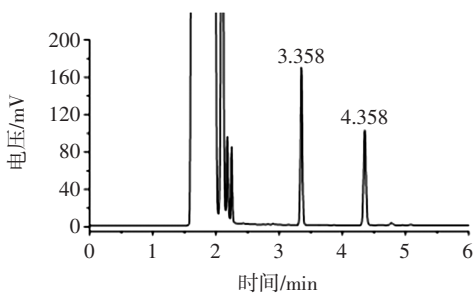


图6 蜜饯样品色谱图

Fig.6 Chromatograms of candied fruit sample

2.3 色谱条件的优化

图 5、图 6 表明, 采用 HP-5 毛细管柱 (30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μ m), 柱温升温程序条件, 60 $^{\circ}$ C 恒温 6 min, 进样口温度 230 $^{\circ}$ C, 氢火焰离子化检测器

(FID), 温度 260 $^{\circ}$ C 进行检测, 可以达到很好的分离检测效果, 但是蜜饯样品基质复杂, 在 60 $^{\circ}$ C 条件下分离基质中的一些杂质可能残留在色谱柱中对柱子造成污染, 也会有部分杂质在分析下一个甚至多个样品时被冲出来, 对分析造成干扰, 因此采取 60 $^{\circ}$ C 保持 6 min 分析后, 以 40 $^{\circ}$ C/min 升温至 200 $^{\circ}$ C 保持 3 min 的方式去除杂质, 60 $^{\circ}$ C 平衡 2 min 后分析下一个样品。

2.4 曲线方程、检出限

在色谱条件下, 将浓度为: 0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 mg/mL 标准样品移取 20 mL 于 50 mL 离心管中, 加入 2 μ L 乙酸丁酯, 在 1.3 条件下衍生后依次从低浓度到高浓度进样分析, 每个标准点分别进样 10 次, 进样量 1 μ L, 以甜蜜素的浓度为横坐标, 甜蜜素与内标物的峰面积比 (取十次进样平均值) 为纵坐标绘制标准曲线, 得线性方程为 $y=15.825x+0.0985$, 其线性相关系数为 0.999 0。

选取未检出甜蜜素的蜜饯样品, 剪碎, 准确称取 5 g 样品于 50 mL 离心管中, 加水, 加入 2 μ L 乙酸丁酯, 加入 1.00 mg/mL 甜蜜素标准溶液 5.00 mL, 按 2.2 的方法提取定容至 50 mL。按 1.3 的方法进行衍生, 在选定的气相色谱条件进行分析, 在记录的色谱图中, 根据 3 倍噪声所对应的浓度值计算出方法的检出限, 取样量为 5 g 时, 本方法的检出限为 0.008 g/kg。

2.5 方法的精密度及加标回收率

准确称取 5 g 蜜饯样品, 按 2.2 的方法处理衍生后进样分析, 计算样品中甜蜜素的含量和相对标准偏差 ($n=10$), 甜蜜素含量为 3.200 0 mg/kg, RSD 为 3.97 %。按照国标方法外标法检测, 甜蜜素含量为 3.194 0 mg/kg, RSD 为 6.69 %。

准确称取 5 g 蜜饯样品于 50 mL 离心管中, 加水 15 mL, 加入 1.00 mg/mL 甜蜜素标准溶液 5.00 mL, 按 2.2 的方法提取定容至 50 mL。移取提取液 20 mL 于 50 mL 离心管中, 加入 2 μ L 乙酸丁酯, 按 1.3 的方法进行衍生, 在选定的气相色谱条件进行分析, 平行测定 5 次, 结果如表 1 所示。按照国标方法外标法检测, 被测样品加标回收率在 80.64 %~107.68 % 之间, 本方法 (内标法) 被测样品加标回收率在 88.46 %~104.26 % 之间。

数据表明, 内标法检测结果准确可靠, 相对外标法精密度更高。

3 结语

1) 该试验建立了气相色谱法内标法测定蜜饯中甜蜜素的方法, 内标法是将一定量的纯物质作内标物, 加入到准确称量的试样中, 根据被测组分和内标

表 1 样品加标回收率
Table 1 The recovery of the test

样品	本底值/(g/kg)		样品 质量/g	添加值/ (g/kg)	测定值/(g/kg)		平均回收率/%	
	本方法(内标法)	国标法(内标法)			本方法(内标法)	国方法(外标法)	本方法(内标法)	国标法(外标法)
话梅	5.691 9	5.608 8	5.016 0	1.003 2	6.579 3	6.417 8	88.46	80.64
山楂糕	1.071 2	1.027 7	4.999 2	0.999 8	1.100 9	1.097 0	102.99	106.95
冬瓜条	2.851 1	2.860 1	5.007 9	1.001 6	3.832 5	3.741 4	97.99	88.79
桃脯	ND	ND	5.012 1	1.002 4	0.963 2	0.891 5	96.09	88.93
陈皮梅	1.435 0	1.450 1	4.991 8	0.998 4	2.475 9	2.438 8	104.26	99.03
糖渍橄榄	6.190 0	6.080 9	5.001 2	1.000 2	7.103 3	7.158 0	91.31	107.68

注:ND 为未检出。

物的质量以及其在色谱图上相应的峰面积(或峰高)比,来计算被测组分的含量,由于内标物和试样被测组分在同一分析体系内,可减小基质效应的影响;由于内标物与被测组分的峰面积的比值不受进样量波动影响,因而在一定程度上消除了操作条件等的变化所引起的误差。检测结果准确性和重复性较国标方法好。

2)蜜饯基质复杂,糖类含量高,衍生后用正庚烷提取时,分层不清晰,因此采用衍生后,用正庚烷振摇提取,然后离心,取上层清液过滤后进样。

3)采用 HP-5 毛细管柱,程序升温:初温 60 ℃保持 6 min,以 40 ℃/min 升温至 200 ℃保持 3 min,既可以达到很好的分离效果,也能够消除基质在柱子中的残留,避免污染仪器和对下面的试样分析造成干扰。

4)通过试验得到甜蜜素的标准曲线方程为: $y=15.82x+0.098$, $R^2=0.999\ 0$, 加标回收率为 88.46 %~104.26 %之间,方法相对标准偏差为 3.97 %,根据 3 倍噪声所对应的浓度值计算出方法的检出限,取样量为 5 g 时,检出限为 0.008 g/kg。综上,该方法具有较高的准确度、精密度和回收率,线性关系好,适合在检测过程中推广应用。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准:GB 2760-2014[S]. 北京:中国标准出版社,2014

[2] 陈玉波,苏建国,薛银飞,等. 气相色谱毛细管柱内标法测定白酒中甜蜜素含量[J]. 淮阴工学院学报,2009,18(1): 65-68

[3] 王琳,苏建国,刘洋,等. 顶空气相色谱法测定冷饮中的甜蜜素[J]. 食品科技,2009,34(11): 326-328

[4] 管克.自动顶空气相色谱法测定饮料中的甜蜜素[J]. 中国卫生检验杂志, 2016,26(10): 1417-1419

[5] 程水连,王泽科,祝正辉. 气相色谱外标法测定食品中甜蜜素含量方法的改进[J]. 食品与机械 2013,29(2): 85-87

[6] 臧光楼,董明盛. 白酒中甜蜜素检测方法的研究[J]. 食品科学, 2009,30(10): 261-264

[7] 陈玉波,陈长毅,杨芳,等. HPLC-ELSD 法测定食品中甜蜜素[J]. 安徽农业科学,2011,39(28): 17562,17576

[8] 肖晶,方从容,杨大进,等. 高效液相色谱-质谱法测定酒中甜蜜素含量的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2013,25(3): 254-256

[9] 徐春祥,秦金平. 液相色谱-质谱联用直接测定白酒中的甜蜜素[J]. 食品与发酵工业,2006,32(2): 106-107

[10] 朱怀远,庄亚东,熊晓敏,等. 离子色谱法直接测定食品添加剂中的甜蜜素[J]. 食品科学,2012,33(2): 173-176

[11] 李红艳.白酒中甜蜜素的无衍生离子色谱法检测[J]. 分析测试学报, 2010,29(8): 859-863

[12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中环己基氨基磺酸钠的测定:GB 5009.97-2016 [S]. 北京:中国标准出版社,2016

[13] 苏建国,陈枚,李歆,等. 气相色谱内标法测定食品中甜蜜素含量[J]. 监督与选择,2006(8): 58-59

[14] 江乙逵,李俊毅. 气相色谱内标法测定食品中环己基氨基磺酸钠含量[J]. 科技信息,2007(24): 343

[15] 周路明,李忠,苟健,等. 毛细管柱气相色谱法测定蜜饯中甜蜜素[J]. 理化检验-化学分册,2009,45(4): 476-477,481

[16] 赵天珍,罗北照. 气相色谱法对不同食品中甜蜜素测定的改进[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(10): 118-121

收稿日期:2018-11-12