

气相色谱法测定馒头中甜蜜素的干扰消除

王 胜*, 革丽亚, 谭 慧, 朱其明

(武汉市疾病预防控制中心, 武汉 430024)

摘 要: 目的 比较不同条件下气相色谱仪测定馒头中甜蜜素时的干扰情况, 选择合适的干扰消除条件。

方法 样品经涡旋离心提取上清液后, 比较不同色谱柱及亚硝酸钠用量的干扰情况, 最终选择加入 1 mL 亚硝酸钠, 用 DB-624(60 m×0.32 mm×1.8 μm)色谱柱进行测定。**结果** 在 0.01~0.50 mg/mL 范围内有良好的线性关系, 相关系数为 0.9999, 相对标准偏差为 3.4%和 6.2%(n=6), 回收率为 90%和 111%。**结论** 本研究中干扰得到消除, 达到了检测要求。

关键词: 气相色谱法; 馒头; 甜蜜素; 干扰

Eliminating interference of determining of sodium cyclamate in steamed bread by gas chromatography

WANG Sheng*, GE Li-Ya, TAN Hui, ZHU Qi-Ming

(Wuhan Center for Disease Control and Prevention, Wuhan 430024, China)

ABSTRACT: Objective To compare the interference of gas chromatograph in the determination of cyclamate in steamed bread under different conditions, select the appropriate interference cancellation conditions. **Methods** The sample was eddied, centrifugated and supematant extracted, the interference conditions under different columns and sodium nitrite dosages were compared, then the sample was determined with adding 1 mL of sodium nitrite dosage and using column of DB-624 (60 m×0.32 mm×1.8 μm). **Results** The content had a good linear relationship in the range 10~500 μg/mL, the correlation coefficient was 0.9999, the relative standard deviations were 3.4% and 6.2% (n=6), the rates of recovery were 90% and 111%. **Conclusion** The interference is eliminated, and the detection requirements are met.

KEY WORDS: gas chromatography; steamed bread; sodium cyclamate; interferences

1 引 言

甜蜜素又名环己基氨基磺酸钠, 也称浓缩糖或甜素^[1], 能赋予食品以甜味^[2], 属于食品添加剂中的非营养性合成甜味剂^[3-6]。由于其高甜味、低热量、低成本常替代糖类物质添加到食品中改善食品口感, 增加甜度^[7], 在 1987 年广泛应用于我国食品行业中^[8,9], 但过量摄入会损伤人体肝脏和神经系统, 增加癌症风险^[10], 尤其对老人、孕妇、小

孩造成危害^[9,11]。调查报告表明近几年仍有部分食品过量使用甜蜜素, 如成都市中小学的主要零食坚果蜜饯等^[12]、邯郸市儿童含乳饮料^[13]。国家标准《食品添加剂使用标准》^[14]中明确规定了甜蜜素使用食品范围和限量, 不包括馒头, 说明馒头中禁止添加^[15]。测定甜蜜素的国家标准方法不断完善改进, 而气相色谱法是国标采用的首选方法, 最初在 GB/T 13112-1991《食品中环己基氨基磺酸钠的测定方法》^[16]中采取正己烷提取, 用填充柱测定, 最新方法 GB

*通讯作者: 王胜, 主管技师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 66112025@qq.com

*Corresponding author: WANG Sheng, Technician, Wuhan Center for Disease Control and Prevention, Wuhan 430024, China. E-mail: 66112025@qq.com

5009.97-2016《食品中环己基氨基磺酸钠的测定方法》^[17]进行完善改进后,采取正庚烷提取,毛细管柱测定。

本研究参照国标方法 GB 5009.97-2016^[17],用 Varian 450-GC 气相色谱仪测定馒头中甜蜜素含量时,由于环己醇亚硝酸酯附近有干扰峰,导致样品定性和定量存在困难。本研究通过比较不同条件下干扰峰出峰情况,找到消除干扰的合适条件,从而更加准确测定馒头中的甜蜜素含量,以期对相关检测机构提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器

450-GC 附 FID 检测器气相色谱仪(美国 Varian 公司); DB-624(60 m×0.32 mm, 1.8 μm)色谱柱(美国 Agilent 公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Merck-Millipore 公司); AL204 电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

2.2 试剂

环己基氨基磺酸钠标准品(>99.90%, 美国 Ehrenstorfer 公司); 正庚烷(色谱纯, 美国 Tedia 公司); 硫酸(优级纯, 信阳化学试剂厂); 亚硝酸钠(分析纯, 天津恒兴化学试剂公司); 水为 GB/T 6682 规定的一级水。

2.3 实验方法

2.3.1 标准溶液的配制

准确称取一定量的甜蜜素标准品于容量瓶中,用水稀释定容至刻度后,根据换算系数 0.8909 配成环己基氨基磺酸标准储备液;再用水逐级稀释定容配制 0.01、0.02、0.05、0.10、0.20、0.50 mg/mL 标准溶液。

2.3.2 样品处理

(1) 试样液制备

称取粉碎后的样品 5.00 g, 分次加 30、10、10 mL 水重复涡旋混匀离心, 合并上清液并定容至 50 mL, 混匀离心后备用。

(2) 衍生化

标准系列和试样制备液均移取 10 mL, 于冰浴中依次加入正庚烷 5 mL, 50 g/L 亚硝酸钠 1.0 mL 及 200 g/L 硫酸溶液 2.5 mL 后衍生 30 min, 期间振摇 5 次; 加入 2.5 g 氯化钠, 涡旋混匀离心后, 取上层液待测, 同时做空白实验。

2.3.3 色谱条件

色谱柱: Agilent DB-624(60 m×0.32 mm, 1.8 μm)色谱柱; 柱温: 80 °C 保持 2 min, 以 20 °C/min 升至 140 °C, 保持 5 min, 再以 50 °C/min 升至 240 °C 至分析结束; 进样口温度: 250 °C; FID 检测器温度: 280 °C; 分流比: 5:1; 载气氮气流量: 2 mL/min; 尾吹氮气流量: 28 mL/min; 氢气流量: 30 mL/min; 空气流量: 300 mL/min; 进样量: 1 μL。

3 结果与分析

3.1 标准溶液出峰情况

在 0.01~0.50 mg/mL 浓度范围内, 甜蜜素衍生产物环己醇亚硝酸酯和环己醇分别在 9.22 min 和 10.30 min 出峰, 出峰情况良好, 见图 1。将 2 个峰响应值加和绘制标准曲线, 结果表明: 曲线线性良好, 线性回归方程为: $Y=3.92X+6.81$, 相关系数 r 为 0.9999, 检出限均为 0.01 g/kg。

3.2 精密度和加标回收实验

称取粉碎均匀的 2 件馒头样品 5.00 g 各 8 份, 其中 6 份平行样测定精密度, 另外 2 份加入一定量的环己基氨基磺酸标准进行加标回收实验, 准确度较好, 见表 1。

3.3 试样制备液

GB 5009.97-2016^[17]国标方法中采用过滤方法收集滤液, 样品损耗较大, 而且之后用水洗涤残渣后很难过滤, 费时费力, 本实验反复用水溶解提取, 涡旋离心, 收集上清液, 样品的损耗较小并且容易操作。

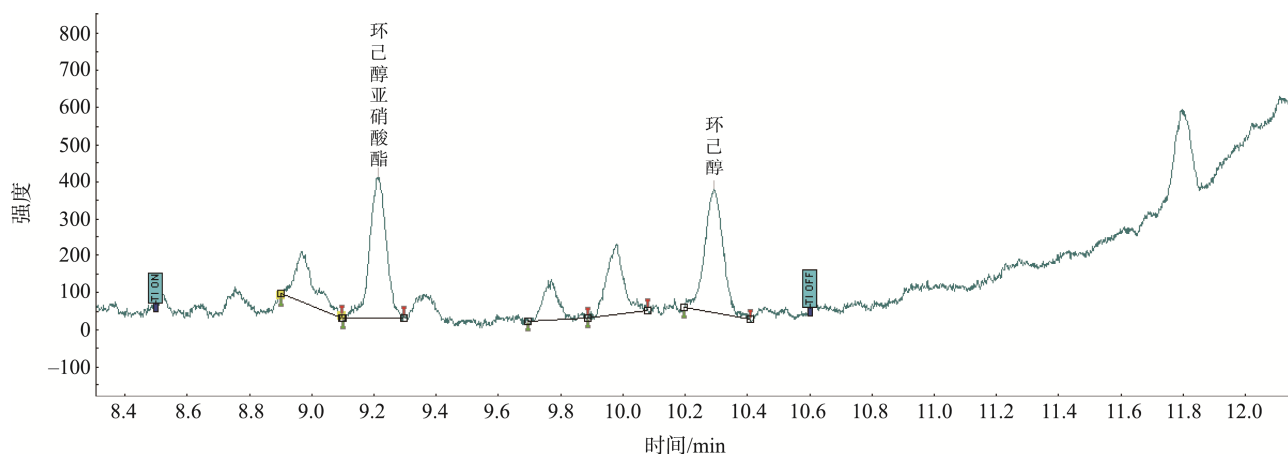


图 1 0.01 mg/mL 环己基氨基磺酸标准溶液出峰情况

Fig.1 Peaks of 0.01 mg/mL cyclohexyl sulfamic acid standard solution

3.4 不同条件干扰情况实验

本研究在按照国标方法 GB 5009.97-2016^[17]测定时发现标准和样品在紧邻环己醇亚硝酸酯有个干扰小峰。当检测的样品含量较低时, 给样品定性增加了困难, 导致存在判定假阳性样品可能性; 当环己醇亚硝酸酯出峰响应值高时, 有可能出峰未完全就和干扰峰部分重叠甚至完全覆盖, 导致定量计算样品中含量不准确。

3.4.1 不同亚硝酸钠用量干扰情况

本研究取 10 mL 水同时做空白实验测定后发现紧邻环己醇亚硝酸酯的干扰峰依然存在, 在逐一更换实验所需的试剂亚硝酸钠、硫酸及正庚烷后, 干扰峰仍然存在。本

研究比较了在空白实验时其他试剂用量不变, 改变亚硝酸钠用量, 分别加入 0.5、1、1.5、2、2.5 mL 亚硝酸钠溶液来测定, 结果表明干扰峰响应值随着亚硝酸钠用量增加而增大, 见图 2。同时为避免由于亚硝酸钠用量太少而导致高浓度甜蜜素标准溶液衍生不充分, 本研究比较了 0.50 mg/mL 环己基氨基磺酸标准溶液分别加入亚硝酸钠溶液 0.5、1、1.5、2、2.5 mL 测定甜蜜素衍生物响应值, 测试表明加入 1 mL 以上亚硝酸钠溶液后甜蜜素衍生物响应值无明显差别, 本研究选择加入 1 mL 亚硝酸钠, 既没影响甜蜜素衍生物的响应值, 同时又降低干扰峰对测定结果的影响。

表 1 相对标准偏差和加标回收率
Table 1 Relative standard deviation and spiked recovery

	6 份平行样测定值/(g/kg)			平均值/(g/kg)	RSD /%	加标量/g	2 份加标测定值/(g/kg)		回收率/%
样品 1	0.0439	0.0546	0.0394	0.0462	6.2	0000.25	0.107	0.0966	111
	0.0531	0.0436	0.0425						
样品 2	0.821	0.820	0.854	0.850	3.4	0.0025	1.31	1.29	90
	0.907	0.871	0.828						

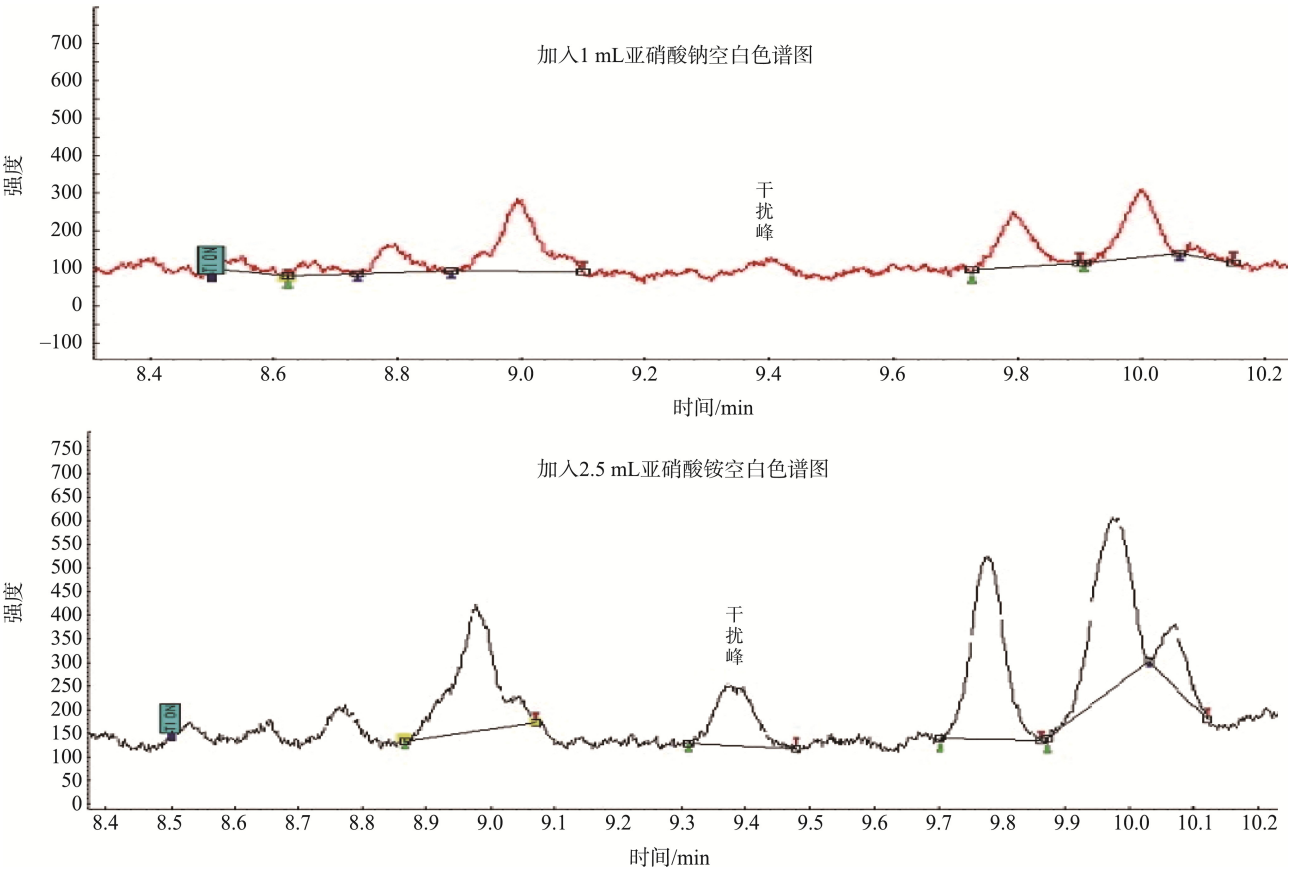


图 2 亚硝酸钠溶液分别加 1 mL 和 2.5 mL 空白色谱图比较
Fig.2 Comparison of chromatograms of sodium nitrite solution with 1 mL and 2.5 mL blanks, respectively

3.4.2 不同色谱柱的干扰情况

本研究比较了 DB-1、DB-5、DB-FFAP、DB-624 共 4 种色谱柱出峰情况,其中 DB-624 色谱柱规格(60 m×0.32 mm, 1.8 μm),其他 3 种色谱柱规格均为(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)。测试结果见表 2,结果表明 DB-FFAP 色谱柱只有一个甜蜜素衍生物出峰;而 DB-1 和 DB-5 色谱柱无论怎样改变色谱柱的升温程序,干扰峰始终在环己醇亚硝酸酯出峰时间 0.08 min 内,当标准系列浓度较高时,环己醇亚硝酸酯出峰和干扰峰有部分重叠没有分离而导致定量计算不准;采用 DB-624 色谱柱通过改变升温程序后,最终使得干扰峰在 9.37 min 出峰,而环己醇亚硝酸酯在 9.22 min 出峰,测试结果表明在 500 μg/mL 环己氨基磺酸标准溶液色谱图中,2 个峰已然能够较好地分离,能够准确地进行定量计算。

3.4.3 不同浓度标准的干扰情况

本研究比较了不同浓度标准干扰情况,在测定标准系列时干扰峰随着标准系列浓度的增加而响应值变大,在 0.01、0.02、0.05 mg/mL 浓度标准系列中,干扰峰响应值有所增加但变化不大,而 0.10 mg/mL 浓度和 0.05 mg/mL 浓

度比较时干扰峰响应值变化就很明显,如图 3。故在测定样品含量较低的情况时,可选择 0.01~0.05 mg/mL 浓度范围进行测定,本实验测定样品含量较高,故选择国标方法 0.01~0.50 mg/mL 浓度范围来测定。

4 结 论

在样品前处理时用水反复溶解提取后并涡旋离心合并上清液,使得样品液制备较 GB 5009.97-2016^[17]国标方法过滤收集滤液更加便捷。测定样品时通过比较上述实验中不同亚硝酸钠用量、不同色谱柱条件及不同浓度 3 种条件下色谱图中干扰峰出峰情况,表明消除干扰效果最佳条件依次是使用 DB-624(60 m×0.32 mm, 1.8 μm)色谱柱,其次在 0.01~0.05 mg/mL 浓度范围测定低含量样品,最后为衍生时减少亚硝酸钠用量至 1 mL。

在上述操作下,本研究较好地消除了环己醇亚硝酸酯被干扰峰干扰情况,测定结果的灵敏度和准确度较好,达到了本研究的检测要求。

表 2 不同色谱柱和干扰峰分离情况
Table 2 Separation of different columns and interference peaks

色谱柱名称	色谱柱规格	出峰情况
DB-1	30 m×0.25 mm, 0.25 μm	与干扰峰间隔 0.08 min
DB-5	30 m×0.25 mm, 0.25 μm	与干扰峰间隔 0.08 min
DB-FFAP	30 m×0.25 mm, 0.25 μm	只有一个衍生峰
DB-624	60 m×0.32 mm, 1.8 μm	干扰峰间隔 0.15 min

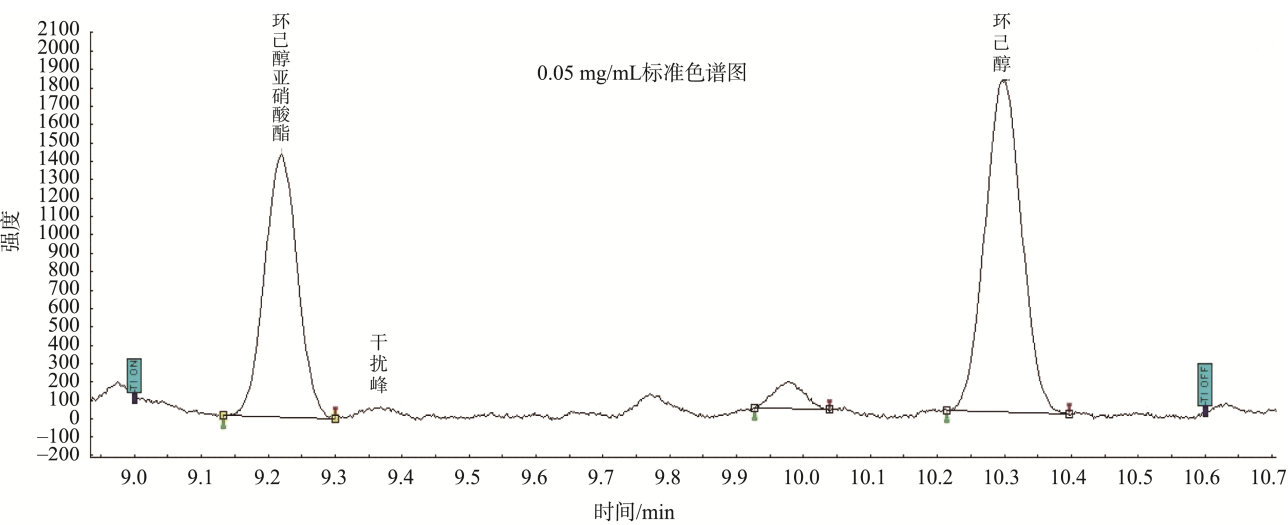
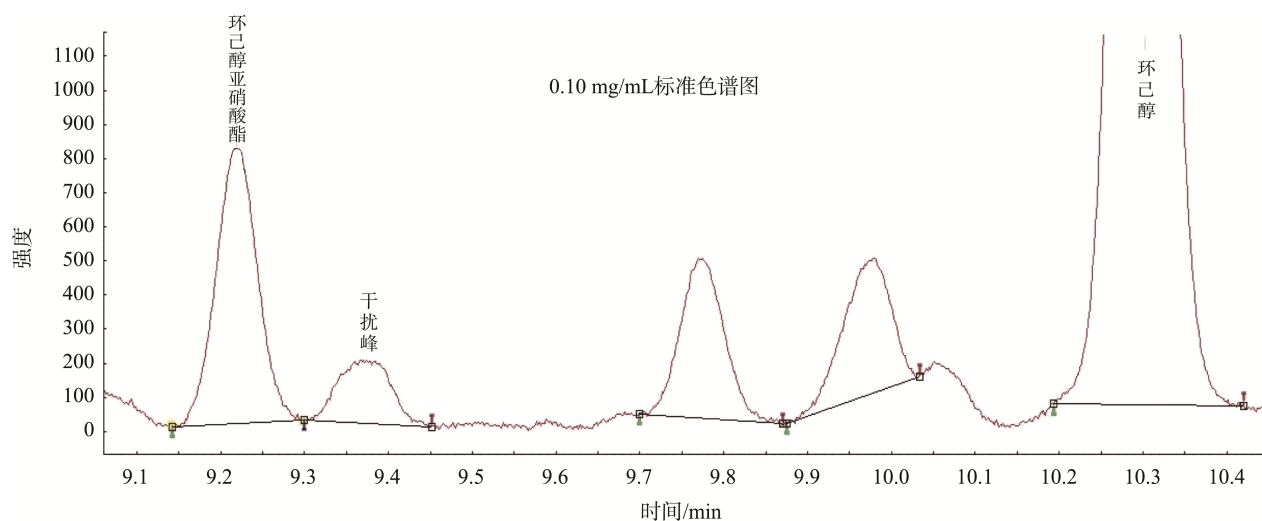


图 3 0.05 mg/mL 和 0.10 mg/mL 浓度标准出峰色谱图
Fig.3 Standard peak chromatograms of 0.05 and 0.10 mg/mL



续图3 0.05 mg/mL 和 0.10 mg/mL 浓度标准出峰色谱图

Fig.3 Standard peak chromatograms of 0.05 and 0.10 mg/mL

参考文献

- [1] 王凯, 邱宇, 王亮亮, 等. 液相色谱-串联质谱法测定白酒中甜蜜素的不确定度评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(6): 241-246.
Wang K, Qiu Y, Wang LL, et al. Uncertainty evaluation of the determination of sodium cyclamate in liquor by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(6): 241-246.
- [2] 方光伟, 何建仁, 陈忍, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法同时测定食品中 9 种甜味剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(12): 4741-4746.
Fang GW, He JR, Chen R, et al. Simultaneous determination of 9 kinds of sweeteners in food by high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(12): 4741-4746.
- [3] 张玉, 吴慧明, 王伟, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测器同时测定食品中 5 种甜味剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2010, 27(1): 18-23.
Zhang Y, Wu HM, Wang W, et al. Simultaneous determination of five sweeteners in food by high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detector [J]. J Food Saf Qual, 2010, 27(1): 18-23.
- [4] 张子臣, 朱爱国, 徐薇, 等. 食品中甜蜜素的应用及检测方法的比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1261-1267.
Zhang ZC, Zhu QG, Xu W, et al. Application of sodium cyclamate in food and comparison of its detection methods [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(5): 1261-1267.
- [5] 姜薇, 王歆睿, 康鹏, 等. 优化气相色谱法测定食品中的甜蜜素[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(5): 255-258.
Jiang W, Wang XR, Kang P, et al. Optimization of gas chromatography for determination of sodium cyclamate in food [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(5): 255-258.
- [6] 袁河, 陈慧鹏, 夏延斌, 等. 气相色谱法测定槟榔中甜蜜素含量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(1): 223-227.
Yuan H, Chen HP, Xia YB, et al. Uncertainty evaluation of sodium cyclamate content in Areca catechu L. by gas chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(1): 223-227.
- [7] 何欢, 曹进, 杨茜, 等. 纳克级激光计数检测器同时测定 7 种人工甜味剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(7): 99-104.
He H, Cao J, Yang X, et al. Simultaneous determination of 7 kinds of artificial sweeteners by nano quantity analyzer detector [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(7): 99-104.
- [8] 朱莉萍, 张晓琳. 高效液相色谱法测定甜菊糖甙中的甜蜜素[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(6): 1765-1770.
Zhu LP, Zhan XL. Determination of cyclamate in stevioside by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(6): 1765-1770.
- [9] 王豆, 王一欣, 李涛, 等. 气相色谱法测定不同种类食品中甜蜜素的分析方法优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(11): 2606-2610.
Wang D, Wang YX, Li T, et al. Optimization of the determination sodium cyclamate in varieties of food by gas chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(11): 2606-2610.
- [10] 张福, 张周莉, 李垚辛. 高效液相色谱串联质谱法测定白酒中甜蜜素的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(6): 219-223.
Zhang F, Zhang ZL, Li YX. Determination of sodium cyclamate content in liquor by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(6): 219-223.
- [11] 李宁. 国内外甜蜜素限量标准及使用现状分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2007, (5): 455-457.
Li N. Analysis on use of sodium cyclamate and its maximum levels in food in internal and external countries [J]. Chin J Food Hyg, 2007, (5): 455-457.
- [12] 吴思佳, 钟红霞, 徐跃成, 等. 成都市中小学生膳食甜蜜素暴露现状评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(16): 85-90.
Wu SJ, Zhong HX, Xu YC, et al. Assessment of dietary cyclamate exposure status of primary and middle school students in Chengdu [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(16): 85-90.
- [13] 郝宁, 高刚, 高海红, 等. 2015 年河北省邯郸市市售儿童含乳饮料中防腐剂、甜味剂调查结果分析[J]. 医学动物防制, 2018, (1): 52-54.

Hao N, Gao G, Gao HH, *et al.* Analysis of preservatives and sweeteners in children's milk drinks in Hebei Handan city in 2015 [J]. J Med Pest Control, 2018, (1): 52-54.

GB 5009. 97-2016 Determination of sodium cyclamate in food [S].

(责任编辑: 王 欣)

[14] GB 2760—2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].

GB 2760—2014 National food safety standard—Standard for uses of food additives [S].

[15] 包琴, 成晓琴, 张强. 气相色谱法测定馒头中甜蜜素[J]. 食品工程, 2017, (2): 50-53.

Bao Q, Cheng XQ, Zhang Q. Determination of sodium cyclamate in steamed bread by GC [J]. Food Eng, 2017, (2): 50-53.

[16] GB/T 13112-1991 食品中环己基氨基磺酸钠的测定方法[S].

GB/T 13112-1991 Determination of sodium cyclamate in food [S].

[17] GB 5009.97-2016 食品中环己基氨基磺酸钠的测定方法[S].

作者简介

王 胜, 主管技师, 主要研究方向为
食品安全检测。

E-mail: 66112025@qq.com

“食品保鲜与贮藏”专题征稿函

食品保鲜与贮藏对保障食品的品质具有重要意义, 越来越得到国内外学者的广泛关注。

鉴于此, 近期刊特别策划了“食品保鲜与贮藏”专题, 主要围绕(1)果蔬、粮食、水产品、禽肉制品等食品保鲜方法、技术; (2)食品在储藏中的生理、生化变化; (3)食品腐败以及控制方法等或您认为有意义的领域展开讨论, 计划在 2020 年 7~8 月出版。

我们去年也组织过此专题, 由上海海洋大学的谢晶教授担任专题主编, 于 5 月见刊, 专题共收录文章 17 篇, 各方面反响都很不错。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编国家食品安全风险评估中心吴永宁研究员及编辑部全体成员特别邀请有关食品领域研究人员为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述及研究论文均可, 请在 2020 年 5 月 10 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题**食品保鲜与贮藏**):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿选择“专题: **食品保鲜与贮藏**”)

邮箱投稿: E-mail: jfoods@126.com(备注: **食品保鲜与贮藏**专题投稿)

《食品安全质量检测学报》