

文章编号: 1004 - 7271(2005)04 - 0424 - 04

复杂基质的食品中甜蜜素的检测方法

湛嘉, 俞雪钧, 计红, 裘亚钧, 李佐卿, 谢东华

(宁波出入境检验检疫局, 浙江 宁波 315012)

摘要:介绍了一种复杂基质的食品中甜蜜素的快速气相色谱检测方法(GC-FID)。样品通过水提取后离心,用正己烷对提取液进行净化。取25 mL水相,先后加入5 mL 50 g/L的亚硝酸钠和5 mL 100 g/L的硫酸,密闭冰浴衍生0.5 h。经GC/MS定性,最终衍生产物为环己烷亚硝酸酯。对于10 g样品的检测限为1.5 mg/kg(信噪比>3.0),4个水平添加甜蜜素的回收率,范围为62.55%~106.71%,平均回收率为(80.89±9.63)%,平均变异系数为12.10%。本方法满足复杂样品中的低浓度的甜蜜素监测。

关键词:甜蜜素;气相色谱;复杂基质;食品安全

中图分类号:TS 201.6 文献标识码:A

The method for determination of sodium cyclamate in food with complex matrix

ZHAN Jia, YU Xue-jun, JI Hong, QIU Ya-jun, LI Zuo-qing, XIE Dong-hua

(Ningbo Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau of P. R. C., Ningbo 315012, China)

Abstract: A simple method was described for the determination of sodium cyclamate in complex food, by gas chromatography with FID detection (GC-FID). The sample was extracted by water, was centrifuged and treated with hexane, defatted with hexane, then the extracted was derivatized with 5 mL of 50 g/L sodium nitrite and 5 mL of 100 g/L sulfuric acid for half an hour. With the confirmation by GC/MS, we can know that sodium cyclamate was derivatized into nitrous acid, cyclohexyl ester at last. The method detection limits were calculated as 1.5 mg/kg for sodium cyclamate based on a 10 g sample, with the ratio of sign to noise (S/N) more than 3 times. The methods was validated with blank samples fortified at 2.5, 5, 25 and 50 mg/kg, the mean recovery is (80.89±9.63)%; the coefficient of variation was 12.10%. Therefore, the method is very useful for the quality surveillance of food with complex matrix.

Key words: sodium cyclamate; gas chromatography; complex matrix; food safety

甜蜜素又名环己基氨基磺酸钠,是一种在我国广泛使用的无营养、甜度高的食品甜味剂。但也有研究表明:甜蜜素具有致癌、致畸、损害肾功能等副作用^[1, 2],很多发达国家早已全面禁止其在食品中使用。自去年来,我国出口到欧美、日本的食物屡次被检出甜蜜素而被进口国扣留或遭退运,并使得相关食品出口受阻。由于,在我国规定甜蜜素最大残留限量(MRL)为≤650 mg/kg,相应国家检测标准(GB/T 5009.97-2003)检测限已明显滞后于当前国际贸易形式发展。虽有学者曾改进方法,但其检测限仍为50 mg/L^[3]。因此,对低浓度的样品往往容易出现假阴性而造成漏检。另外,以往的方法主要针对于饮

收稿日期:2004-11-04

作者简介:湛嘉(1977-),男,湖南平江人,硕士,主要从事食品检验研究。Tel:0574-87022691;E-mail: zhanjia2008@sina.com

料等植物性食品,对于脂肪等杂质含量较高的复杂样品,其预处理尚有不足之处。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

即食干鱿鱼制品。甜蜜素标准品(稀释至 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$),正己烷为色谱纯,100 g/L 的硫酸、50 g/L 的亚硝酸钠均为分析纯,重蒸馏水。

1.2 样品处理

称取已切细的即食干鱿鱼制品 10 g(精确至 0.01 g)置于 50 mL 具塞离心管中,加入 40.0 mL 纯水,浸泡 30 min,涡旋混合 2 min,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液并加入 5 mL 正己烷,涡旋混合 2 min,4 000 r/min 离心 5 min,弃去有机相后,移取 25.0 mL 水相,转移到 50 mL 离心管(稀释倍数即为 40/25)。向离心管中先后加入 50 g/L 的亚硝酸钠 5 mL、100 g/L 的硫酸 5 mL,冰浴中反应 30 min 后,加入 5 mL 正己烷提取,涡旋混合 1 min,4 000 r/min 离心 2 min,取上清液供分析用。

1.3 气相色谱和气质联用条件

配有氢火焰检测器(FID)的 HP6890 气相色谱仪,色谱柱:HP-5(30 m \times 0.53 mm \times 0.88 μm);柱温采用程序升温:初温 80 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 程序升温至 100 $^{\circ}\text{C}$,保持 4 min,后运行 180 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min;进样口温度:170 $^{\circ}\text{C}$;进样方式:分流进样,分流比为 6:1;进样量:2 μL ;载气:99.999% 高纯 He;流量:4 mL/min;FID 温度:260 $^{\circ}\text{C}$;N₂ 尾吹:30 mL/min。

采用 Agilent5973 气质联用,色谱柱:HP-5(30 m \times 0.25 mm \times 0.1 μm);柱温采用程序升温:初温 50 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 程序升温至 100 $^{\circ}\text{C}$,保持 4 min;进样口温度:170 $^{\circ}\text{C}$;不分流进样方式;进样量:1 μL ;载气:99.999% 高纯 He;流量:1 mL/min;质谱条件:接口温度:170 $^{\circ}\text{C}$;SCAN 模式,溶剂延迟 2 min。

1.4 检测限和回收率测定

取标准溶液 10, 15, 25, 50, 100, 250 和 500 μg 于带塞子的玻璃试管中,按 1.2 的方法进行衍生和定容,平行测量 3 次,以引起 3 倍基线噪音来确定最低检测限。并用 1 mg/mL 浓度的衍生产物进行气质联用定性。

取空白样品 10.00 g,分别加入甜蜜素标准 25, 50, 100, 250 和 500 μg ,旋涡混合 2 min 按 1.2 的方法处理,同时取与添加量相等的甜蜜素标准品于带盖子离心管中,加水至 25 mL 刻度线处,并同时衍生。计算出两者的相对应峰面积比值,乘以稀释倍数(40/25)来得出回收率,并求出平均回收率和变异系数,每个浓度重复 3~6 次。

2 结果

2.1 甜蜜素色谱行为和最低检测限

实验表明:基线平稳,甜蜜素衍生峰与杂质峰分离良好。以引起大于 3 倍基线噪音为最低检测限,对于 10 g 样品,当添加甜蜜素 15 μg 时,信噪比 > 3.0 (对于 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品,信噪比 > 13.0)。而此前在 10 g 样品中添加 10 μg 时,信噪比 ≤ 2 。因此,对于 10 g 样品的最低检测限确定为 1.5 mg/kg。如图 1 所示,经 GC/MS 鉴定,衍生物环己烷亚硝酸酯(特征离子 98, 82, 67 和 55)。

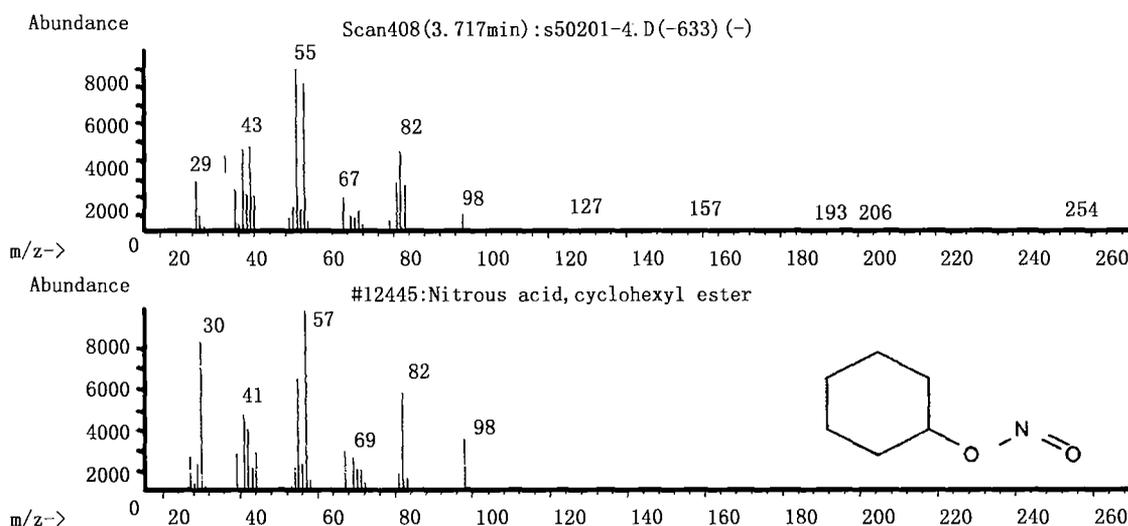


图1 甜蜜素衍生后的气相色谱-质谱谱图

Fig. 1 The gas chromatogram mass spectrometry of sodium cyclamate after derivatization

2.2 回收率

4个水平添加甜蜜素的回收率范围为62.55%~106.71%,平均回收率为 $(80.89 \pm 9.63)\%$,变异系数为12.10%(表1)。

表1 甜蜜素的回收率测定结果

Tab.1 The recoveries of sodium cyclamate in food with samples fortified at 2.5–50 mg/kg

理论含量 (mg/kg)	回收率	同一水平的平均回收率	变异系数	平均回收率	平均变异
2.5	72.22%, 65.56%, 94.29%, 76.52%, 78.69%, 92.31%	$(79.39 \pm 11.30)\%$	14.14%	$(80.89 \pm 9.63)\%$	$(12.10 \pm 1.41)\%$
5	71.51%, 73.46%, 80.26%, 78.60%, 95.64%, 74.49%	$(78.99 \pm 8.78)\%$	11.12%		
25	80.10%, 73.19%, 90.43%, 79.38%, 75.89%, 62.55%	$(76.92 \pm 9.17)\%$	11.92%		
50	106.71%, 87.53%, 89.31%	$(94.52 \pm 10.59)\%$	11.21%		

3 讨论

甜蜜素为水溶性高沸点物质,必须通过衍生,与亚硝酸反应,生成易挥发的环己烷亚硝酸酯而被GC/FID检测到。对于复杂样品(如含脂肪、杂质高的动物源制品),利用正己烷在衍生步骤之前去除脂肪和部分杂质非常具有意义,不仅可以减少脂肪等杂质污染色谱柱,并可以减少对目标峰的干扰。笔者曾碰到过不少调味品和酒等样品有些杂质若不在衍生步骤之前用正己烷去除,极易造成假阳性。即使降低程序升温速率情况下,杂质峰也不能与甜蜜素生物峰很好地分离开。对于脂肪含量更高的样品同样适合,但应加大正己烷的用量和次数。

为提高检测灵敏度,一般可以考虑加大分流比或选用不分流进样。本实验采用分流比为5:1或不分流时,都存在不同程度拖尾现象。通过优化得出:分流比为6:1为最佳,峰情良好。对于10g样品的最低检测限为1.5 mg/kg,信噪比>3,即当样品中含量不低于1.5 mg/kg时,很容易被检测到,可靠性强^[4]。相对于文献[3]采用离子对RP-HPLC方法,灵敏度提高了30多倍。由于该方法干扰较小,加大称样量,仍有进一步降低最低检测限的潜力。文献[5]指出:甜蜜素经荧光试剂衍生后,采用配有荧光检测器的HPLC检测,检测限为0.4~5 mg/kg,与本方法最低检测限接近,但其前处理方法不如本方法简单,检测成本也相对要高很多。由于通过对标准品衍生进行日间精密度测定结果表明,批间变异过大,

本试验中没有采用标准曲线来定量来计算回收率。若以此来推算回收率势必造成回收率不稳定, 变异系数过大, 故不宜作为定量的依据。于是, 回收率测定时, 每次均采用等量标准品对照同时试验, 计算出两者的相对应峰面积比值, 乘以稀释倍数来得出回收率。结果表明: 4 个水平添加的回收率范围为 62.55% ~ 106.71%, 平均回收率为 $(80.89 \pm 9.63)\%$, 平均变异系数为 12.10%, 且同水平的变异系数均小于 15%, 精密度良好。

本方法无论从灵敏度、特异性、准确度和精密度都能胜任复杂食品中低浓度的甜蜜素的检测要求。对于实际样品的定量, 建议每天作多点或单点校正。另外, 尽量控制反应条件一致来减少差异, 特别是反应应在冰水混合物环境中进行, 操作敏捷, 并添加标准品进行严格对照, 以便控制质量。

参考文献:

- [1] Jackson C D, Baetcke K P. Causative agents in the induction of bladder cancer[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 1976, 6(3):223 - 232.
- [2] Bopp B A, Sonders R C, Kesterson J W. Toxicological aspects of cyclamate and cyclohexylamine[J]. *Crit Rev Toxicol*, 1986, 16(3):213 - 306.
- [3] Li Z, Yin Y. A rapid separation and quantitation of sodium cyclamate in food by ion-pair reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. *Se Pu*, 1999, 17(3):278 - 279.
- [4] 李俊锁, 邱月明, 王 超. 兽药残留分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002.
- [5] Ruter J, Raczek D I. Sensitive and selective HPLC methods with prechromatographic derivatization for the determination of cyclamate in foods[J]. *Z Lebensm Unters Forsch*, 1992, 194(6):520 - 523.