

白酒中甜蜜素的无衍生离子色谱法检测

李红艳

(河南省开封市质量技术监督检验测试中心, 河南 开封 475000)

摘要: 建立了免化学试剂离子色谱-抑制电导检测白酒中甜蜜素的方法。选用 Dionex Ionpac AS17(250 mm × 4 mm)分离柱, 优化了电解水在线产生 KOH 淋洗液的梯度淋洗程序, 样品无需衍生化, 稀释后过 0.22 μm 滤膜及 OnGuard II RP 离子色谱前处理小柱后直接进样检测, 外标法定量。在 0.05~20.0 mg/L 范围内, 甜蜜素的质量浓度与色谱峰面积呈良好的线性关系 ($r^2 = 0.9992$), 检出限为 0.072 mg/L; 峰面积和峰高的相对标准偏差 ($n = 10$) 分别为 1.0%、2.0%; 加标回收率为 85%~103%。该方法简便易行、误差因素少, 无干扰、选择性好、灵敏度高、分析结果准确, 适用于白酒中甜蜜素的检测。

关键词: 离子色谱法; 梯度淋洗; 白酒; 甜蜜素

中图分类号: O657.75 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2010)08-0859-05

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2010.08.021

Determination of Sodium Cyclamate in Distillate Spirits by Non-derivatized Ion Chromatography

LI Hong-yan

(Municipal Quality and Technology Supervision, Inspection and Testing Center, Kaifeng 475000, China)

Abstract A method based on the electrochemical behavior of cyclamate anion in alkaline solution was developed for the determination of sodium cyclamate in distilled spirits by non-derivatized ion chromatography with suppressed conductivity detection. The diluted sample was pretreated by passing through 0.22 μm filter membrane and OnGuard II RP chromatographic column, respectively, prior to sample detection for the removal of interferences. A low-capacity and strong hydrophilic anion exchange column, Dionex Ionpac AS17(250 mm × 4 mm) was used with gradient elution. The KOH eluent was produced on-line using electrolyzed water. Peak area was used for quantitative measurement with external standard calibration. Results showed that the mass concentration of sodium cyclamate had a linear relationship with the chromatographic peak area in the range of 0.05–20.0 mg/L. The detection limit was 0.072 mg/L and the relative standard deviations ($n = 10$) for peak area and peak height measurements were 1.0% and 2.0%, respectively. The spiked recoveries ranged from 85% to 103%. Analytical results showed that the proposed method was simple, selective, sensitive and easy to operate, and was suitable for the determination of sodium cyclamate in distilled spirits.

Key words ion chromatography; gradient elution; white liquor; sodium cyclamate

甜蜜素化学名为甜蜜素, 是一种人工合成的非营养型水溶性、高甜度且价格低廉的甜味剂, 在我国广泛用于食品加工行业, 但其超量超范围添加现象严重^[1]。由于其安全性尚有争议^[2-4], 因此是质检部门实施食品质量安全风险监测的重点项目之一。按 GB2760-2006^[5]的规定, 甜蜜素在加工食品中的允许使用范围不包括白酒, 各种香型白酒的国家标准^[6-7]也规定不得添加非自身发酵物质。但有些企业为调节口感而违规添加甜蜜素, 或添加含有甜蜜素的复合调酒剂。由于白酒生产原料、工艺的复杂性和多样性, 按照国标方法^[8]中的气相色谱法检测其中的甜蜜素时, 白酒中固有的环己醇及环己基的类似物质会导致假阳性结果, 因此国家卫生部已停止将该方法用于对白酒的测定^[9]。所以, 亟须开发一种适用于白酒中甜蜜素的检测方法。已有液相色谱法^[10-13]检测酒类甜蜜素的报道, 但仍需衍生化, 操作繁冗且使用有毒试剂, 改变了目标组分的原有化学结构, 样品前处理过程成为误差的最大来源, 结果的重现性难以保证。

收稿日期: 2010-05-03 修回日期: 2010-05-28

作者简介: 李红艳(1963-), 女, 河南开封人, 工程师, Tel: 0378-3390689 E-mail: 826175730@QQ.com

离子色谱法 (IC) 是一项绿色分析技术, 以分析速度快、灵敏度高、流动相只用一般的酸、碱或水, 样品前处理简单等优点而广泛应用于各领域, 是分析阴离子的首选方法^[14]。已有文献 [15-16] 利用离子色谱法检测食品中的甜蜜素, 但文献 [15] 选用的 Dionex Ionpac AS11-HC 分析柱需要加有机改进剂, 增加了操作的难度且重现性差; 文献 [16] 选用的 Dionex Ionpac AS18 柱容量高, 需要高的淋洗液浓度和大的抑制电流, 因而背景噪声、检出限较高。本文采用离子色谱法分析甜蜜素, 基于甜蜜素在碱性水溶液中呈现的阴离子电化学特性和离子色谱法分析阴离子无可比拟的优势, 选用柱容量较低、亲水性强的 Dionex Ionpac AS17 为分离柱, 对甜蜜素有适当保留, 样品无需衍生化, 仅需过滤和过 OnGuardII RP 离子色谱前处理小柱, 直接进样分析, 电解水在线产生淋洗液, 抑制电导检测。将该方法用于实际样品的检测, 结果满意。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Dionex CS-2000 离子色谱仪 (美国戴安公司), 配 EG40 淋洗液自动发生装置, KOH 罐, ASRS ULTRA II 4 mm 阴离子抑制器, 外接水模式, ED50 抑制型电导检测器, LE30 柱温箱, Chromeleon 6.8 中文版色谱工作站; 0.22 μm 微孔滤膜; OnGuardII RP 离子色谱样品前处理小柱; 超纯水器 (郑州霖泉科技发展有限公司)。

甜蜜素对照品 (纯度不低于 99.0%, 中国医药集团上海化学试剂公司); 实验用水为 18.25 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 的高纯水; 样品来源: 开封白酒生产企业 (蒸馏酒)。

1.2 离子色谱条件

色谱柱: Dionex Ionpac AS17 分离柱 (250 mm \times 4 mm) + AG17 保护柱 (50 mm \times 4 mm), 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 淋洗液: 采用淋洗液自动发生器产生的高纯 KOH 溶液, 梯度淋洗程序: 0~12 min 0.5~7 mmol/L; 12~12.1 min 7~40 mmol/L; 12.1~18 min 40 mmol/L; 18~18.1 min 40~0.5 mmol/L; 18.1~21 min 0.5 mmol/L; 流速: 1.0 mL/min 进样体积: 25 μL 。

1.3 标准溶液的制备

甜蜜素储备液: 准确称取 1 000 mg (精确到 0.1 mg) 甜蜜素对照品于 100 mL 容量瓶中, 溶解定容, 配成 10 g/L 的标准储备液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存, 有效期 3 个月。

甜蜜素工作液: 实验当天取甜蜜素标准储备液逐级稀释, 配成 0.05、0.20、1.0、2.5、5.0、10.0、20.0 mg/L 的系列标准溶液。

1.4 定性、定量方法

酒类样品稀释 10 倍后, 依次过 0.22 μm 滤膜及 OnGuardII RP 离子色谱前处理小柱后进样检测。

系列标准溶液经过和样品相同的处理步骤, 在“1.2”色谱条件下, 按浓度由低到高的顺序进样 (每个浓度各进样 3 次, 取平均值), 通过保留时间、加标增加峰高、对照基体空白定性, 以峰面积定量。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

离子色谱法检测甜蜜素的原理, 是基于甜蜜素溶于水, 在碱性条件下带负电荷, 具有阴离子交换特性。根据文献 [14] 选择 Dionex Ionpac AS17 阴离子交换柱作分析柱。该柱的填料是功能基为烷醇季胺的新型乳胶附聚的阴离子交换剂, 基质微粒较小, 有较低的柱容量和较强的亲水性, 对 OH^- 有高选择性, 对甜蜜素有适当保留, 因此可以得到更快的分离、更尖锐的峰形和更高的灵敏度。淋洗液在线发生器的使用确保了 KOH 的高纯度和精确的浓度, 消除了人工配制淋洗液以及试剂杂质、 CO_2 引入的误差, 可实现梯度淋洗并最大限度地降低基线漂移, 有利于得到稳定的基线和小的噪音, 保证高的重现性和信噪比。非阴离子型组分不被保留, 因而可以简化样品前处理步骤。由于使用低浓度的淋洗液, 抑制电流小, 基线噪音低, 从而可获得更低的检出限和定量下限。AS17 柱还可减少淋洗液中氢氧化物的消耗量, 降低成本。

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 流速的影响 考察了流速分别为 0.8、1.0、1.2、1.5 mL/min 时的影响。结果表明, 1.5、1.2 mL/min 流速太快, 泵压力超过 1.38×10^7 Pa; 0.8 mL/min 流速太慢, 分析总时长超过 30 min; 当流速 1.0 mL/min 时, 分离度和分析总时长最合适。

2.2.2 初始浓度的影响 考察了淋洗液在 0~12 min 时的初始浓度分别为 5~12、0.5~7、0~3 mmol/L 时的影响。结果表明, 淋洗液初始浓度为 5~12 mmol/L 时出峰过快, 与干扰峰分不开; 0~3 mmol/L 时, 浓度过低, 洗脱力太小, 分析总时长超过了 32 min。用 0.5~7 mmol/L 的初始浓度, 目标峰和干扰峰可实现基线分离。

2.2.3 柱温的影响 考察了柱温分别为 20、30、40 °C 时的影响。结果表明, 柱温 20 °C, 淋洗液黏度偏高, 柱压高于 1.4×10^7 Pa; 柱温 40 °C, 柱压明显降低, 各峰的保留时间明显提前, 鉴于柱填料的特性, 不建议柱温高于 30 °C。选择 30 °C 柱温, 柱压低于 1.4×10^7 Pa, 目标峰的保留时间约为 11 min。

2.2.4 干扰离子的影响 配制水中常见阴离子及白酒中可能存在成分的混标, 以“1.2”的色谱条件做干扰离子影响实验, 图谱见图 1。结果表明, 水中常见的阴离子及白酒中可能存在的成分不干扰甜蜜素的定性定量。

2.3 样品前处理条件的选择

由于白酒中含有高浓度的乙醇, 以及其他具有芳香气味的小分子醇类酯类物质, 若不能有效去除这些物质, 其在碱性条件下可能带电荷, 从而使基线杂乱, 干扰甜蜜素的测定。用 OnGuardII RP 离子色谱前处理小柱净化样液, 能有效除去上述干扰物质, 且对甜蜜素无保留, 加标回收率良好。与很多文献^[17-20]报道的固相萃取柱 (SPE) 净化样品的原理不同, OnGuardII RP 小柱基质为二乙烯基苯高聚物, 可选择性吸附样品基体中的疏水性化合物, 亲水性的甜蜜素随水相流出直接进样分析, 从而实现样品的有效净化, 提高检测灵敏度、重复性和回收率。RP 柱还起到过滤作用, 稍浑浊或有少量杂质的样品, 过 RP 柱后样液更清澈, 有利于样品分析和色谱柱保护。RP 柱能重复利用, 使用成本低。若采用大体积定量环或降低稀释倍数还可能进一步降低样品的检出限和定量下限。

2.4 线性范围与检出限

甜蜜素标准工作液按照“1.2”色谱条件检测, 以标准品的质量浓度 (x , mg/L) 为横坐标, 峰面积 (y) 为纵坐标作图, 进行线性回归。结果表明, 在 0.05~20.0 mg/L 范围内甜蜜素的质量浓度与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程为 $y = 0.3689x - 0.0606$, 相关系数 $r^2 = 0.9992$ 。甜蜜素的标准色谱图见图 2A。

将标准品溶液稀释进样, 按公式 $\rho_{MDL} = \rho_s (H_0/H_s)$ (式中 ρ_s 为样品中离子的质量浓度; H_0 为噪音峰高; H_s

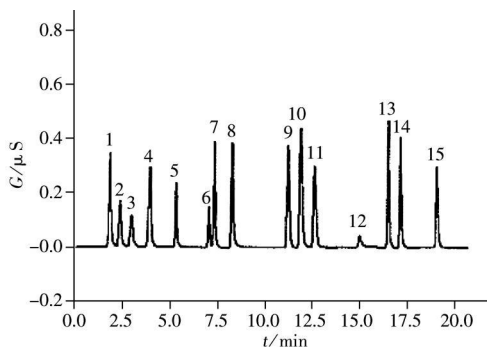


图 1 在常见阴离子存在下甜蜜素的离子色谱图

Fig. 1 Ion chromatogram of sodium cyclamate in the presence of some common anions

- 1 F^- , 2 CH_3COO^- , 3 $C_2H_5COO^-$, 4 COO^- ,
5 ClO_2^- , 6 Br^- , 7 Cl^- , 8 NO_2^- , 9 sodium
cyclamate, 10 NO_3^- , 11 CD_3^- , 12 CO_3^{2-} ,
13 SO_4^{2-} , 14 $C_2O_4^{2-}$, 15 PO_4^{3-}

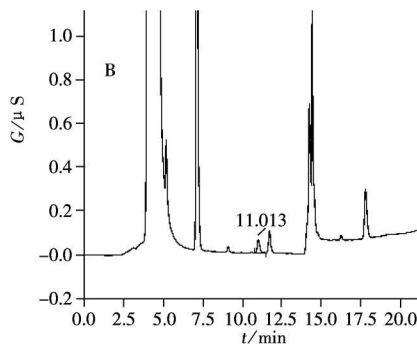
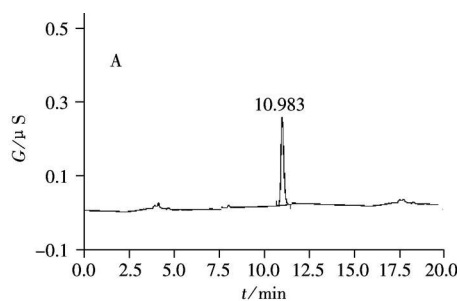


图 2 甜蜜素 (A) 及白酒加标 (B) 的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of sodium cyclamate standard (A) and spiked distilled spirits (B)

为样品中离子的峰高)计算其相应的检出限为 $7.2 \mu\text{g/L}$, 方法的定量下限 ($SN = 10$)为 $24.0 \mu\text{g/L}$ 。由于实际样品稀释 10 倍进样, 因此检出限和定量下限分别为 0.072 、 0.240 mg/L 。

2.5 方法的精密度与准确度

在“1.2”色谱条件下, 对 1.00 mg/L 的标准溶液连续进样 6 次分析, 峰面积和峰高的相对标准偏差 ($n = 10$)分别为 1.0% 和 2.0% 。同时以未检出甜蜜素的白酒样品为基体进行加标回收率的测定, 加入 3 个水平的甜蜜素标液, 各水平重复测定 6 次, 结果见表 1。图 2B 为样品加标色谱图。

2.6 实际样品检测

利用本文建立的方法对本地企业生产的 4 种共 36 批次的香型白酒样品进行检测 (见表 2)。在所检样品中检出甜蜜素 9 批次。表明该方法对这些样品具有良好的适用性。

3 结论

本文建立了白酒中甜蜜素的离子色谱分析方法。样品无需衍生化, 用 OnGuard II RP 离子色谱前处理小柱净化样液, 可有效地除去干扰物质。样品处理简便易行、快速, 无需复杂的设备和试剂, 对环境友好, 易于推广。该方法分析甜蜜素线性范围宽, 线性关系好, 抗干扰能力强, 对甜蜜素选择性高, 定性定量准确, 结果重复性好, 可以拓展实验室已有仪器设备的应用范围, 为白酒中甜蜜素快速检测新方法的研究提供了依据。

感谢: 戴安中国有限公司应用研究中心李静老师的指导和帮助。

参考文献:

- [1] 王竹天, 蒋定国, 杨大进, 王茂起, 常迪. 2003 年~2004 年中国食品添加剂监测结果与分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(2): 99-103
- [2] 赵耀. 人工合成甜味剂的特点及其发展趋势 [J]. 食品工业, 2004, 15(8): 136-138
- [3] 李晓瑜. 非营养型甜味剂的安全性研究进展及管理现状 [J]. 中国食品卫生杂志, 2002, 14(4): 43-45
- [4] 高鹤娟. 食品卫生检验方法 (理化部分) 注解 [M]. 北京: 卫生部食品卫生监督检验所, 1987: 248
- [5] GB2760-2006 食品添加剂使用卫生标准 [S].
- [6] GB/T 10781.1-2006 浓香型白酒 [S].
- [7] GB/T 10781.2-2006 清香型白酒 [S].
- [8] GB/T 5009.97-2003 食品中甜蜜素的测定 [S].
- [9] 卫监督食便函 [2004] 36 号. 关于白酒中甜蜜素检验方法给中国食品工业协会白酒专业委员会的复函 [EB/OL].
- [10] 邵铁锋, 李雪岷, 陈勤伟, 谢广发, 沈国军. 高效液相色谱法测定酒中甜蜜素 [J]. 中国酿造, 2004, 141(12): 31-32
- [11] 王骏. HPLC/MS 测定白酒中的微量甜味剂 [J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(10): 152-153
- [12] 刘丽敏, 彭敬东. 5 种甜味剂的反相高效液相色谱法同时测定 [J]. 分析测试学报, 2008, 27(5): 549-552
- [13] 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
- [14] 牟世芬, 刘克纳, 丁晓静. 离子色谱方法及应用 [M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2008: 4-6, 19
- [15] 傅晖蓉, 谢维平, 黄盈煜, 胡桂莲. 自动淋洗电导抑制离子色谱法测定食品中甜蜜素 [J]. 中国食品卫生杂志, 2007, 19(2): 126-128
- [16] 钟志雄, 梁春穗, 姚敬, 范山湖, 许秀敏. 离子色谱法测定食品中的甜蜜素和苯甲酸 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(9): 1062-1064

表 1 样品的加标回收结果

Table 1 Results of spiked recoveries

$w_A / (\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	Added		Found		Recovery		RSD	
	$w_A / (\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	$w_F / (\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	$w_F / (\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	$w_F / (\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	R/%	$s_r / \%$	$s_r / \%$	
1.00	0.98	1.07	0.93	0.93	0.90	1.08	85~97	1.9
2.00	2.12	1.77	2.48	1.96	1.78	2.14	95~102	1.9
5.00	5.01	5.08	4.98	4.85	5.06	4.95	93~103	1.1

表 2 实际样品的检测结果

Table 2 Analytical results of real samples

No	Sample name	Content
		$w / (\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
1	Strong aromatic chinese spirits(浓香型白酒)	0.20
2	Strong aromatic chinese spirits(浓香型白酒)	0.28
3	Mild aromatic chinese spirits(清香型白酒)	0.19
4	Strong aromatic chinese spirits(浓香型白酒)	0.30
5	Strong aromatic chinese spirits(浓香型白酒)	0.25
6	Rice aromatic chinese spirits(米香型白酒)	0.15
7	Soy sauce flavor type chinese spirits(酱香型白酒)	0.16
8	Strong aromatic chinese spirits(浓香型白酒)	0.22
9	Zhima flavour chinese spirits(芝麻香型白酒)	0.34

- [17] 王浩, 刘艳琴, 曹红, 杨红梅, 刘小力, 闫龙宝. 固相萃取与高效液相色谱联用测定宠物食品中三聚氰胺 [J]. 分析化学, 2008, 36(2): 273
- [18] 杨海峰, 严宏凤, 李勇军, 朱善元, 蒋春茂. 固相萃取 - 高效液相色谱法测定猪组织中的头孢喹诺 [J]. 分析测试学报, 2010, 26(3): 364- 366
- [19] 吴红军, 成强, 陈红艳. 固相萃取 - 液相色谱法测定水产品中三聚氰胺 [J]. 现代农业科技, 2010, (11): 341- 342
- [20] 倪蓉, 杨龙彪, 刘兰侠. 固相萃取-高效液相色谱法测定饮料中 8 种色素 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20 (5): 991- 992

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎刊登广告

《分析试验室》技术期刊

国内统一刊号: CN11-2017/TF

国际标准刊号: ISSN 1000-0720

国际 CODEN 码: FENSE4

邮发代号: 82-431

国外代号: M848

广告经营许可证: 京西工商广字第 0441 号

《分析试验室》是中文核心期刊, 月刊, 大 16 开, 128 页, 国内外公开发行。

《分析试验室》于 1982 年创刊, 目前已成为我国著名的分析化学专业刊物。影响遍及冶金、地质、石油化工、环保、药物、食品、农业、商品检验和海关等社会各行业及各学科领域。《分析试验室》以突出创新性和实用性为办刊宗旨, 作者来自全国各行业的生产、科研第一线; 已被列为全国中文核心期刊、中国科技论文统计用期刊、美国“CA 千种表”中我国化学化工类核心期刊、中国学术期刊(光盘版)和中国期刊网全文数据库等国内外多家检索数据库、文摘收录, 影响因子连续多年列化学类前列。本刊常设“研究报告”、“研究简报”、“仪器装置与设备”等栏目。“定期评述”栏目系统发布特邀知名专家学者撰写的国内外分析化学各领域的综合评述, 连续跟踪学术发展前沿。“国际会议”栏目每期介绍影响广泛的分析化学领域国际学术交流会议。

2011 年《分析试验室》每期定价 18 元, 全年 12 期, 共 216 元。

全国各地邮局征订, 邮发代号 82-431。漏订的读者可直接与编辑部联系。

编辑部地址: 北京新街口外大街 2 号; 邮编: 100088

电话: 010-82013328 E-mail analysislab@263.net ana-info@263.net