

- [7] 耿昱,郭寅龙. 固相微萃取/气相色谱/质谱联用技术在农药残留分析中的应用[J]. 分析测试技术与仪器, 2007, 7(4): 230-235.
- [8] HU Yanyun, ZHENG Ping, HE Youzhao, et al. Response surface optimization for determination of pesticide multiresidues by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography[J]. J Chromatogr A, 2005, 1098: 188-193.
- [9] 化学污染物及有害因素监测手册编写工作组. 食品中化学污染物及有害因素监测工作手册[M]. 北京: 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 2010: 49-55.

实验技术与方法

毛细管气相色谱法测定冷饮中甜蜜素分析误差预测

郭华, 张卫国, 黄培林, 汪思顺

(贵州省疾病预防控制中心, 贵州 贵阳 550004)

摘要:目的 探讨毛细管气相色谱法测定冷饮中甜蜜素含量的适宜条件并对方法的误差进行预测。方法 样品经国标方法提取, 毛细管柱 OV-1 程序升温条件下分离, 火焰离子化检测器(FID)检测; 采用精密度-偏性分析质量控制程序进行误差预测。结果 方法的线性范围为 10~1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 线性相关系数(r)为 0.999 5, 方法检出限为 3.0 μg ; 除冷饮样品外, 其余试样批内、批间变异分析 $F < F_{0.05}$, 3 种试样的总标准差(S_t)均小于其浓度的 5% (W), 准确度的置信限(R/d)为 1.04。结论 证实了该方法测定冷饮中甜蜜素是可靠的, 且准确、灵敏。

关键词: 甜蜜素; 毛细管气相色谱法; 冷饮; 分析误差预测

中图分类号: TQ453.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2011)04-0335-03

Determination of sodium cyclamate in ice-cream with capillary gas chromatography and the prediction of analytic variance

Guo Hua, Zhang Weiguo, Huang Peilin, Wang Sishun

(Guizhou Center for Diseases Control and Prevention, Guiyang 550004, China)

Abstract: Objective To investigate proper conditions of capillary gas chromatography method for the determination of sodium cyclamate in ice-cream and to predict the variance of the method. **Methods** Samples were extracted by the national standard method; sodium cyclamate was separated by OV-1 capillary column under temperature-programmed run and flame ionization detector (FID). The variance of detection was predicted by precision-bias analysis quality control procedure. **Results** The linearity of the calibration curve was in the range of 10-1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, with a correlation coefficient of 0.999 5, and the minimal detection limit was 3.0 μg . Both intra-experimental and inter-experimental variation was $F < F_{0.05}$, excepting ice-cream samples. Total standard deviation of samples was less than 5% of their concentration (W), and the confidence limit (R/d) of accuracy was 1.04. **Conclusion** This method was reliable, accurate and sensitive in the determination of sodium cyclamate in ice-cream.

Key words: Sodium cyclamate; capillary gas chromatography; ice-cream; analysis variance prediction

甜蜜素,学名环己基氨基磺酸钠,是一种人工合成非营养型甜味剂,其甜度是蔗糖的 30~50 倍,被广泛地应用于冷饮、糕点等食品中作为蔗糖的替代品来增加食品的甜度。有研究发现经常食用甜

蜜素超标的食品有致癌的可能,美国、英国、日本等 40 多个国家已禁止其作为添加剂使用^[1-2]。

目前我国食品卫生标准中对甜蜜素在食品中的添加量有严格的强制性限量,国家标准方法^[2]使用填充柱作为分离柱,但使用受其灵敏度低、商品填充柱供应不充分等条件制约,本文用毛细管气相色谱柱代替填充柱测定冷饮中甜蜜素含量。同时,由于目前食品检测的分析质量控制在国内尚未很好地开展,为了解毛细管气相色谱法测定甜蜜素的分析误差来源及其性质,故将水质分析中的精密度-

收稿日期:2010-10-11

作者简介:郭华 女 博士 副主任技师 研究方向为理化检验和科研 E-mail: guohua_cqy@163.com

通信作者:张卫国 男 主任技师 研究方向为理化检验和科研 E-mail: zhwg924@tom.com

偏性质量控制程序应用于食品分析质量控制,对该方法进行预测。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

GC-2010 气相色谱仪(配氢火焰离子化检测器和色谱工作站,日本,Shimadzu);LD4-2 离心机;GL-88B 旋涡混合器。

甜蜜素标准物质(国家标准物质研究中心);氯化钠、亚硝酸钠、硫酸、正己烷,分析纯;配置溶液:100 g/L 硫酸溶液、50 g/L 亚硝酸钠溶液。

1.2 甜蜜素标准溶液的配制

精确称取甜蜜素标准物质 0.100 0 g,加水溶解并定容至 10 ml,此溶液每毫升含甜蜜素 10 mg。

1.3 样品前处理

按照 GB/T 5009.97—2003《食品中环己基氨基磺酸钠的测定》进行^[3]。

1.4 色谱操作条件

色谱柱为 OV-1(50 m × 0.32 mm × 0.25 μm);进样口温度 140 °C;检测器温度 160 °C;柱温为程序升温:初始温度 90 °C 保持 1 min,然后以 15 °C/min 升温至 140 °C 保持 5 min;载气:高纯氮气;进样量 1 μl;定量方法:外标法。

1.5 误差预测方法

按文献[4]方法进行预测,精密度和偏性质量控制规程准备以下 3 种试样:①0.9 C 甜蜜素标准溶液(C 为分析方法测定范围的上限,本实验 C 为 1.0 mg/ml);②冷饮样品为市售棒棒冰;③加标冷饮样品(取 9.5 g 样品加入 0.5 ml 1.0 mg/ml 的甜蜜素标准溶液)。

2 结果

2.1 标准曲线线性范围及回归方程

分别准确吸取配置好的甜蜜素标准溶液 10、50、100、500、1 000 μl 于 100 ml 具塞比色管中,加水 20 ml 置冰浴中,加入 5 ml 50 g/L 亚硝酸钠、5 ml 100 g/L 硫酸溶液,摇匀,在冰浴中放置 30 min,并经常摇动,然后准确加入 10 ml 正己烷、5 g 氯化钠,振摇 100 次,分层后取正己烷层,用上述色谱条件进行气相色谱分析,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,线性范围为 10 ~ 1 000 μg/ml,回归方程为 $y = 652.08x - 416.34$,相关系数(r)为 0.999 5。甜蜜素标样的色谱图见图 1。

2.2 随机分析结果

对 1.5 中的 3 种试样按随机顺序 5 d 内平行测定 5 批,以便消除无法控制的因素所带来的系统误

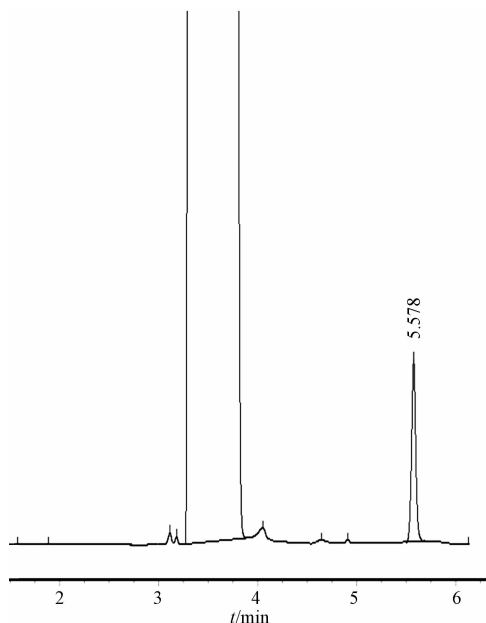


图 1 甜蜜素标样的气相色谱图

Figure 1 Chromatography of standard sodium cyclamate

差。结果见表 1。

表 1 随机样品分析结果

Table 1 The results of randomized sample analysis(mg/ml)

试样	1 批	2 批	3 批	4 批	5 批	总均值
0.9C 甜蜜素标准品	0.893	0.963	0.852	0.937	0.960	0.913
冷饮样品	0.896	0.908	0.923	0.853	0.941	0.776
	0.756	0.787	0.841	0.781	0.738	
加标冷饮样品	0.780	0.712	0.828	0.784	0.750	1.255
	1.220	1.312	1.333	1.262	1.197	
	1.223	1.203	1.277	1.314	1.211	

2.3 批内、批间变异分析,检验总标准差

批内、批间变异分析和检验总标准差结果见表 2,从表 2 中数据可知,除冷饮样品外,其余试样批内、批间变异分析差异无显著性($F < F_{0.05}$),由 3 种试样的批内及批间均方求得总标准差(S_t)均小于各自测定质量浓度的 5% (W)。

表 2 批内、批间变异分析和检验总标准差

Table 2 Intra-experimental and inter-experimental variance analysis and total standard deviation

项目	0.9C 甜蜜素标准品	冷饮样品	加标冷饮样品
批内均方(M_0)	0.0015	0.00080	0.0020
批间均方(M_1)	0.0016	0.0020	0.0035
$F = M_1/M_0$	1.067	2.500	1.750
$F_{0.05} = 2.21$	不显著	显著	不显著
批内标准差(S_w)	0.039	0.028	0.045
批间标准差(S_b)	0.040	0.045	0.059
总标准差(S_t)	0.040	0.030	0.047
S_t^2	0.0016	0.00090	0.0020
W (浓度之 5%)	0.047	0.039	0.063
W^2	0.0022	0.0015	0.0040
S_t^2/W^2	0.727	0.600	0.500

2.4 方法准确度的结果

通过对加标样品和样品的 5 批平行试样分析,计算平均回收(R)、预期回收(d)和总平均回收率置信限(R/d)。平均回收由各批加标样品和样品平均值减差 M 求得。预期回收通过公式 $d = V_1(C_2 - C_1)/(V_1 + V_2)$ 计算,式中: C_1 为样品中甜蜜素的浓度 0.776 mg/ml , C_2 为加标用甜蜜素标准溶液的浓度 1.0 mg/ml ; V_1 是加标用甜蜜素标准溶液的体积 0.5 ml , V_2 为样品取样质量 9.5 g 。准确度测定结果见表 3。

表 3 准确度测定结果

Table 3 The accuracy of results(mg/ml)

项目	1 批	2 批	3 批	4 批	5 批
加标冷饮样品	1.222	1.258	1.305	1.288	1.204
冷饮样品	0.768	0.750	0.834	0.782	0.744
减差(M)	0.454	0.508	0.471	0.506	0.460

3 讨论

冷饮中甜蜜素是食品卫生检验的重要指标,误差的预测是实验室内部质量控制的重要组成部分。即使在具有良好管理水平和条件的实验室,分析结果仍受到一些因素的影响而总是伴随着误差。分析数据的质量取决于分析方法,要使方法具有较小的随机误差和系统误差,并能达到一定的检出限,必须在方法应用前对方法进行分析误差预测,从中了解方法在实施过程中误差来源及大小并采取相应的措施将误差控制在规定的置信水平内。

3.1 批内、批间变异分析

由表 1 中数据可求得 3 种试样的批内及批间均方,评价 3 种试样每批结果均值之间的变异显著性,确定变异是由于操作中随机误差引起的还是由于环境条件或样品本身性质不稳定所引起的,由表 2 结果可知,本实验中 0.9 C 甜蜜素标准品和加标冷饮样品各批间的误差没有实际意义($F < F_{0.05}$);而冷饮样品批内、批间变异分析差异显著($F > F_{0.05}$),说明各批间的误差有变异来源,试验结果可能受到环境条件的影响。一般情况下批内均方值(M_0)总是小于批间均方值(M_1),因 M_0 是在同批内测定的,表明结果没有受到环境及样品不稳定因素的影响。实验中若 $M_1 < M_0$, $F = M_1/M_0$,若 $F < F_{0.05}$,说明批内和批间变异不显著,可将批间变异视为零;若 $F = M_1/M_0 > F_{0.05}$,则来自于污染、测试等方面的误差来源起支配作用,必须对该分析方法及操作技术中所存在的反常的误差来源进行检查并予以纠正。在本实验中冷饮样品的 $F = M_1/M_0 = 2.500 > F_{0.05} = 2.21$ (表 2),说明方法及操作中存在反常的误差。

实验发现,冷饮样品变异受环境温度的影响,环境温度的影响与样品甜蜜素的浓度相关,当样品中甜蜜素浓度 $> 1.0 \text{ mg/ml}$ 时环境温度($20 \text{ }^\circ\text{C}$ 以下)影响不显著;当样品中甜蜜素浓度 $< 1.0 \text{ mg/ml}$ 时环境温度($20 \text{ }^\circ\text{C}$ 以上)影响显著,故经处理过的样品应在低温($10 \text{ }^\circ\text{C}$ 以下)保存。

3.2 方法精密度评价

用总标准差衡量方法的精密度,按照 $S_t^2/w^2 \leq F_{0.05}$ 的关系,在 0.05 概率水准上,各种试样的总标准差若小于其各自浓度的 5% 或方法的检出限表示精密度符合要求^[4]。

根据 3 种试样的批内及批间均方求得总标准差(S_t)均小于各自测定浓度的 5% (W),即 $S_t < W$,表示方法精密度已达到要求,结果见表 2。当 $S_t > W$ 时,需进一步求出实验中 m 批实验中 n 个结果的自由度 f ,即总方差 S_t^2 的自由度估计值 $f = 20(M_1 + M_0)^2/5M_1^2 + 4M_0^2$,求出 f 值,由 f 值用插入法求得 $F_{0.05}$,若 $S_t^2/W^2 < F_{0.05}$,总标准差(S_t)仍可被接受。

3.3 方法准确度的评价

用总平均回收率置信限 R/d 衡量方法的准确度,当 $0.95 \leq R/d \leq 1.05$ 时,平均回收率 R 可被接受,即方法的回收率在 $95\% \sim 105\%$ 之间^[4]。当 $R/d < 0.95$ 或 > 1.05 时则需用测得的平均回收率的标准差(S)重新计算 R 值的置信限,若 $0.95d - S \cdot t_{(m-1)}/\sqrt{m} \leq R \leq 1.05d + S \cdot t_{(m-1)}/\sqrt{m}$,则方法的准确度仍符合要求^[5]。式中: m 为实验批数, t_{m-1} 为 0.1 概率的双侧 t 值。

本实验中,因 $1.05 > R/d = 1.04 > 0.95$,故总平均回收率 R 可被接受,即分析方法的准确度达到要求。

综上实验结果,用毛细管柱气相色谱法测定冷饮中甜蜜素含量,各种溶液的总标准差均小于其浓度的 5% ,方法的精密度可被接受。总平均回收率置信限介于 $0.95 \sim 1.05$ 之间,故准确度也可被接受。

参考文献

- [1] 王敏,郭德华,韩丽,等. HPLC 法快速分离和检测食品中微量甜蜜素含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(8): 1421-1422.
- [2] 陈炳卿,孙长颢. 食品污染与健康[M]. 北京:化学工业出版社,2002:360.
- [3] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.97—2003 食品中环己基氨基磺酸钠的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [4] 陈守健,鄂学礼,张宏陶,等. 水质分析质量控制[M]. 北京:人民卫生出版社,1987:133.
- [5] 张卫国,姚鸣. 用氟电极测定口腔用品中游离氟及其误差评价[J]. 中国地方病学杂志,1999,18(2):137-139.