

高效液相色谱法测定食品中的环己基氨基磺酸钠

赵倩

(浙江福立分析仪器股份有限公司, 浙江 温岭 317500)

摘要: 食品中的环己基氨基磺酸钠用水提取后, 在强酸性溶液中与次氯酸钠反应, 生成 N,N-二氯环己胺, 用正庚烷萃取后, 利用高效液相色谱法检测, 保留时间定性, 外标法定量。

关键词: 高效液相色谱法;环己基氨基磺酸钠

1 参考标准

依据国家标准《GB 5009.97-2016 食品中环己基氨基磺酸钠的测定 高效液相色谱法》

2 试剂和材料

2.1 试剂

2.1.1 水: 哇哈哈饮用纯净水。

2.1.2 乙腈: 色谱纯。

2.1.3 正庚烷: 色谱纯。

2.1.4 硫酸

2.1.5 次氯酸钠

2.1.6 碳酸氢钠

2.1.7 硫酸锌

2.1.8 亚铁氰化钾

2.1.9 环己基氨基磺酸钠标准品, 纯度 $\geq 99\%$ 。

2.2 试剂配制

2.2.1 硫酸溶液: 50 mL 硫酸小心缓缓加入 50 mL 水中, 混匀。

2.2.2 次氯酸钠溶液: 用次氯酸钠 (3.1.4) 稀释, 保存于棕色瓶中, 保持有效氯含量 50 g/L 以上, 混匀, 市售产品需及时标定, 临用时配制。

2.2.3 碳酸氢钠溶液 (50 g/L): 称取 5 g 碳酸氢钠, 用水溶解并稀释至 100 mL, 混匀。

2.2.4 硫酸锌溶液 (300 g/L): 称取 30 g 硫酸锌, 溶于水并稀释至 100 mL, 混匀。

2.2.5 亚铁氰化钾溶液 (150 g/L): 称取 15 g 亚铁氰化钾, 溶于水并稀释至 100 mL, 混匀。

2.3 仪器设备

2.3.1 高效液相色谱仪：福立 LC5090 高效液相色谱仪，配备 LC5090 在线脱气机、LC5090 二元高压输液泵、LC5090 自动进样器、LC5090 柱温箱、LC5090 紫外检测器。

2.3.2 色谱柱：Sunniest C18 柱，4.60 mm * 150 mm，粒径为 5.0 μm。

2.3.3 分析天平：精度 0.0001 g。

2.3.4 恒温水浴锅。

2.3.5 微孔滤膜：0.45 μm，有机相。

3 溶液配制

3.1 标准溶液配制

3.1.1 环己基氨基磺酸标准储备液 (5 mg/mL)：精确称取 0.5612 g 环己基氨基磺酸钠标准品，用水溶解并定容至 100 mL，混匀，此溶液 1.00 mL 相当于环己基氨基磺酸 5.00 mg (环己基氨基磺酸钠与环己基氨基磺酸的换算系数为 0.8909)。置于 1 °C~4 °C 冰箱保存，可保存 12 个月。

3.1.2 环己基氨基磺酸标准中间液 (1 mg/mL)：准确移取 20.0 mL 环己基氨基磺酸标准储备液用水稀释并定容至 100 mL，混匀。置于 1 °C~4 °C 冰箱保存，可保存 6 个月。

3.1.3 环己基氨基磺酸标准曲线系列工作液：分别吸取标准中间液 (4.1.2) 0.50 mL、1.0 mL、2.5 mL、5.0 mL、10.0 mL 至 50 mL 容量瓶中，用水定容。该标准系列浓度分别为 10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、50.0 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL。临用现配。

3.2 样品溶液配制

3.2.1 液体类样品处理

3.2.1.1 普通液体试样摇匀后可直接称取样品 25.0 g，用水定容至 50 mL 备用 (如需要可过滤)。

3.2.1.2 含酒精的试样：称取 25.0 g 试样于烧杯中，用氢氧化钠溶液调至弱碱性 pH 7~8，60 °C 水浴加热 30 min 以除酒精，放冷，用水定容至 50 mL 备用。

3.2.1.3 含二氧化碳的试样：称取 25.0 g 试样于烧杯中，60 °C 水浴加热 30 min 以除二氧化碳，放冷，用水定容至 50 mL 备用。

3.2.1.4 含乳类饮料称取试样 25.0 g 于 50 mL 离心管中，加入 3.0 mL 硫酸锌溶液和 3.0 mL 的亚铁氰化钾溶液，混匀，离心分层后，将上清液转出，用水洗涤残渣并定容至 50 mL 备用。

3.2.2 固体类和半固体类样品处理

称取均质后试样 5.00 g 于 50 mL 离心管中，加入 30 mL 水，混匀，超声提取 20 min，离心（3000 r/min）20 min，将上清液转出，用水洗涤残渣并定容至 50 mL 备用。含高蛋白类样品可在超声提取时加入 2.0 mL 硫酸锌溶液和 2.0 mL 的亚铁氰化钾溶液。

3.3 衍生化

准确移取 10 mL 已制备好的试样溶液，加入 2.0 mL 硫酸溶液（3.2.1），5.0 mL 正庚烷（3.1.3），和 1.0 mL 次氯酸钠溶液（3.2.2），剧烈振荡 1 min，静置分层，除去水层后在正庚烷层中加入 25 mL 碳酸氢钠溶液（3.2.3），振荡 1 min。静置取上层有机相经 0.45 μm 微孔有机相滤膜过滤，滤液备进样用。

4 色谱条件

- a) 色谱柱：Sunniest C18，柱长 150 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm 。
- b) 流速：0.8 mL/min。
- c) 检测波长：314 nm。
- d) 柱温：40°C。
- e) 进样量：10 μL 。
- f) 流动相：乙腈：水=70：30

5 分析结果

5.1 试剂空白

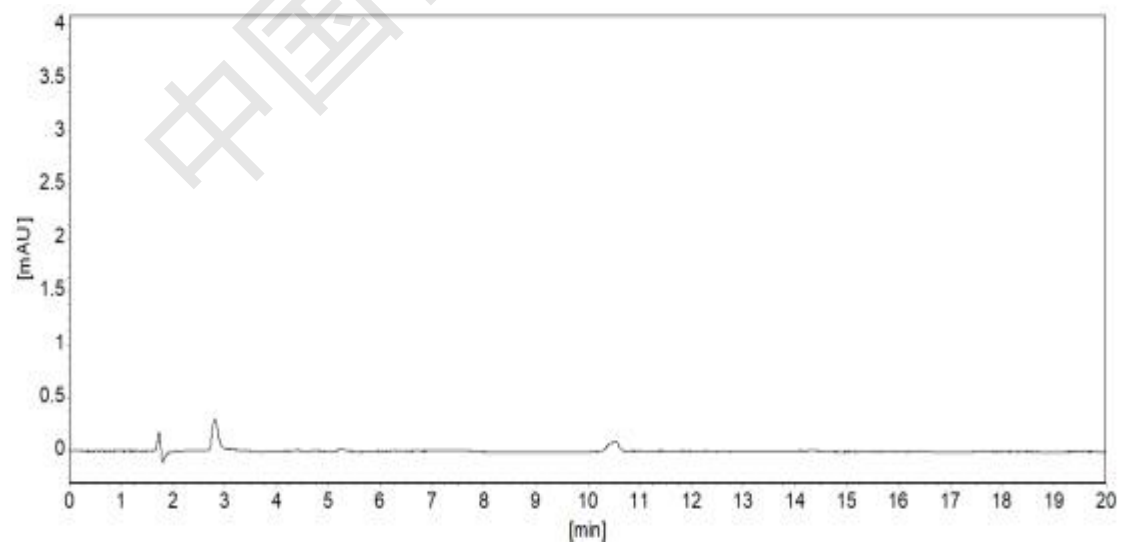


图1 环己氨基磺酸钠试剂空白谱图

5.2 环己基氨基磺酸标准溶液典型谱图及结果

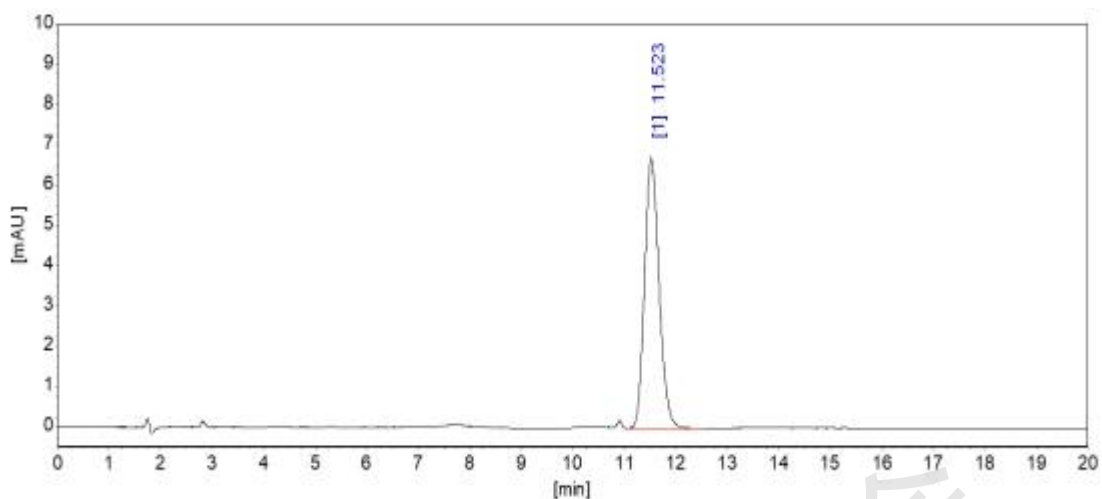


图2 环己基氨基磺酸标准溶液谱图 (50 µg/mL)

1、环己基氨基磺酸

分析结果表

峰序	组分名	保留时间[min]	峰高[uAU]	峰面积[uAU*s]
1	环己基氨基磺酸	11.523	6674.6	131010.6

系统评价表

峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰高宽 [uAU]	理论塔板	理论塔板/ 米	拖尾 因子
1	环己基氨基磺酸	11.523	0.030162	8086	53908	1.177

5.3 重复性实验

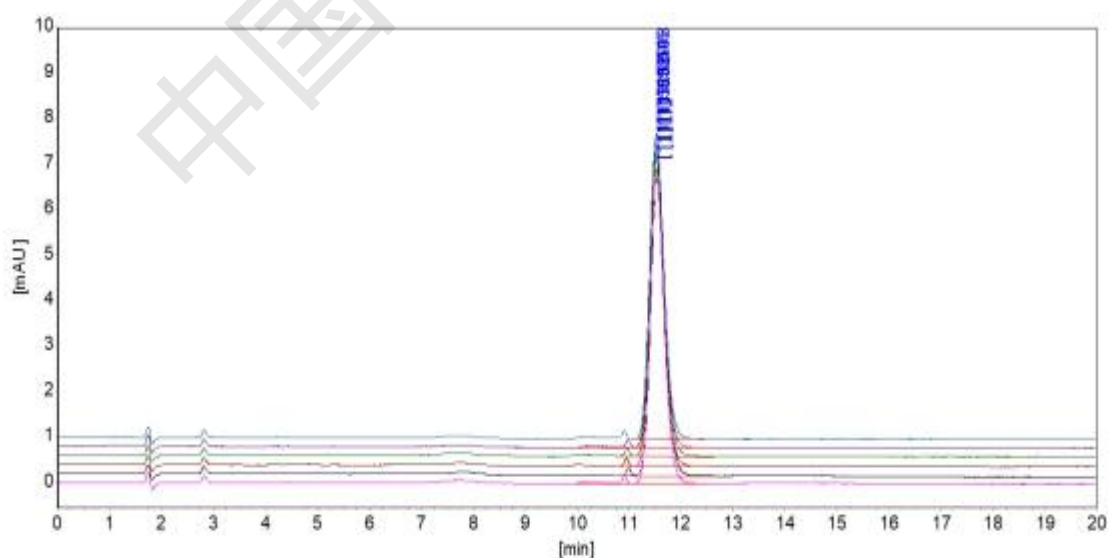


图3 环己基氨基磺酸钠标准溶液重复性谱图 (50 µg/mL)

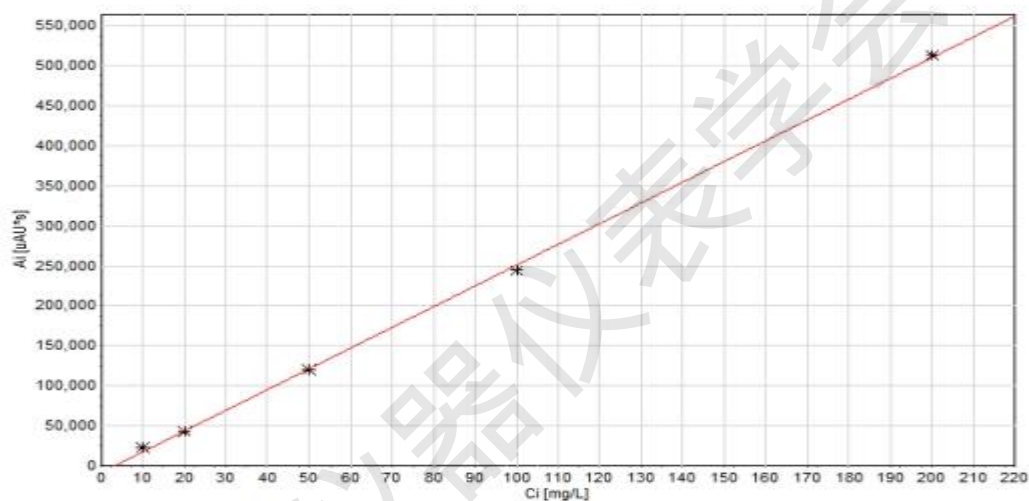
峰序	组分名	保留时间 平均值 [min]	保留时 间 RSD[%]	面积平 均值 [uAU*s]	面积 RSD[%]	峰高平 均值 [uAU]	峰高 RSD[%]	谱图 数
1	环己氨基 基磺酸	11.522	0.070	131050.0	0.604	6690.1	0.565	6

5.4 标准曲线

分别将一系列不同浓度的环己氨基磺酸标准工作溶液（4.1.3）各 10 μL ，进行 HPLC 分析。然后以峰面积为纵坐标，以含量为横坐标，绘制标准曲线。

5.4.1 环己氨基磺酸标准曲线方程及相关系数

组分[环己氨基磺酸]: 曲线方程: $C_i = 3.15724 + 0.00038583 \cdot A_i$
校正因子: $f_0=3.15724, f_1=0.00038583$ 相关系数: $r^2 = 0.99948$



5.5 检出限

5.5.1 环己氨基磺酸标准溶液（5 $\mu\text{g/mL}$ ）七针重复性谱图

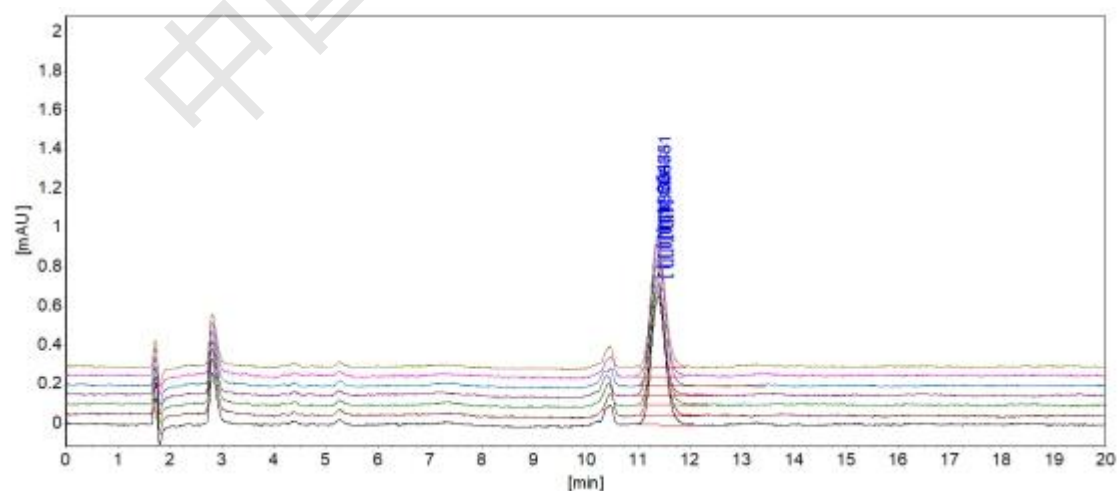


图 4 环己氨基磺酸标准溶液重复性谱图（5 $\mu\text{g/mL}$ ）

组分名	平均 时间 [min]	时间 RSD [%]	平均 面积 [uAU*s]	面积 RSD [%]	平均 峰高 [uAU]	峰高 RSD [%]	平均 含量 [mg/kg]	含量 RSD [%]	谱 图 数
环己基氨基磺酸	11.379	0.106	12674.7	0.936	661.9	0.554	10.0027	0.936	7

5.5.2 环己基氨基磺酸检出限结果

以取样 5.0 g 计，本方法的检出限、定量限如下表所示：

组分名	含量 [mg/kg]	含量 [mg/kg]	含量 [mg/kg]	含量 [mg/kg]	含量 [mg/kg]	含量 [mg/kg]	含量 [mg/kg]	检出限 [mg/kg]	定量限 [mg/kg]
环己基氨基磺酸	9.8519	10.0106	10.0106	10.1037	10.0881	9.9019	10.0406	0.2924	0.8772

5.6 液体类样品中环己基氨基磺酸谱图及加标回收率结果

5.6.1 含酒精样品

5.6.1.1 白酒样品谱图

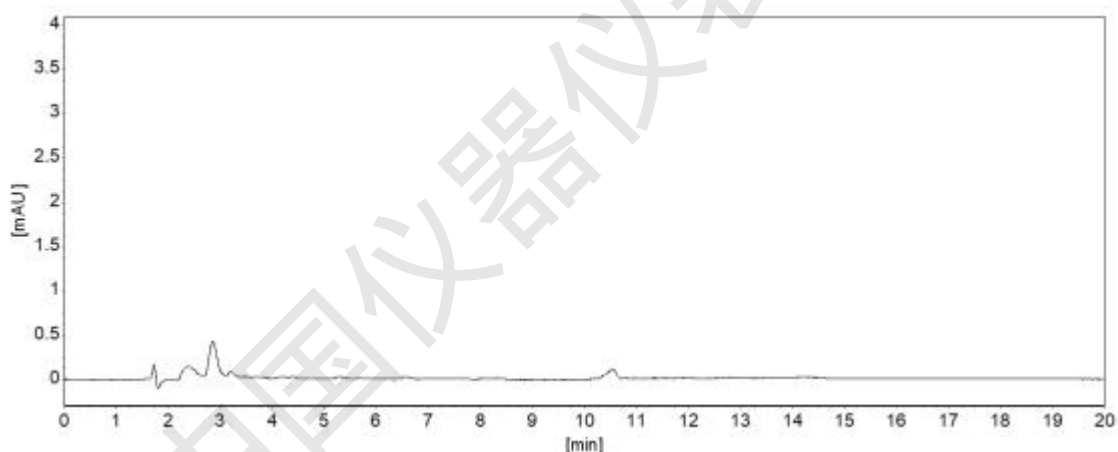


图 5 白酒样品谱图

5.6.1.2 白酒加标环己基氨基磺酸 (20 mg/kg) 谱图及回收率结果

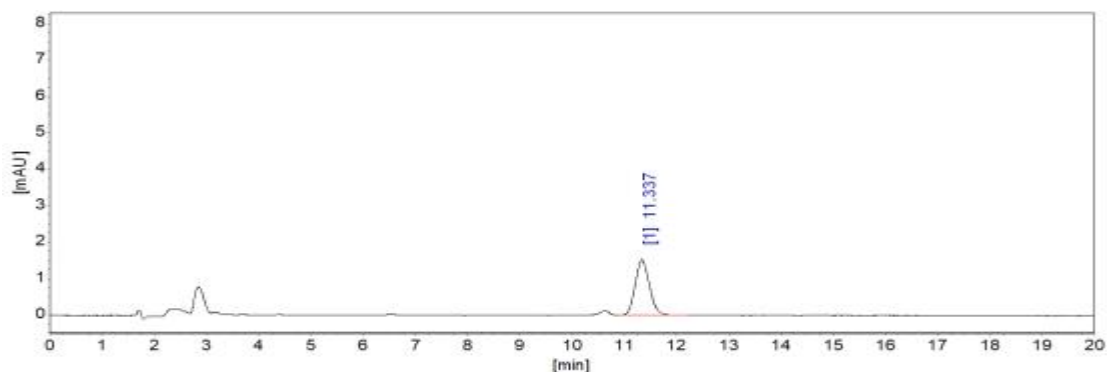


图 6 白酒样品中加标环己基氨基磺酸 (20 mg/kg) 谱图

分析结果表 1

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.320	1527.1	28733.3	22.6759

分析结果表 2

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.337	1500.6	28474.5	22.4716

分析结果表 3

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.328	1382.0	26051.0	20.5591

5.6.1.3 白酒加标环己基氨基磺酸 (100 mg/kg) 谱图及回收率结果

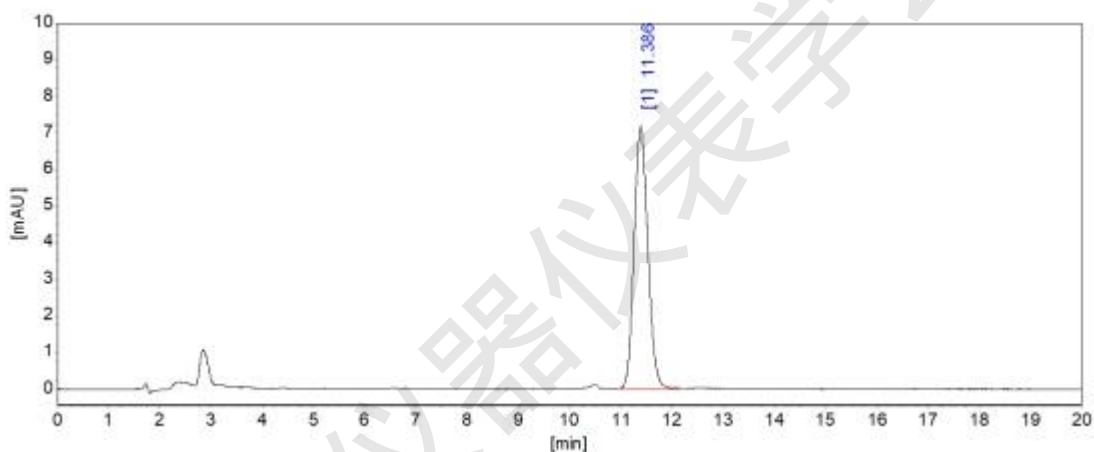


图 7 白酒样品中加标环己基氨基磺酸 (100 mg/kg) 谱图

分析结果表 1

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.386	7142.2	133171.8	105.0970

分析结果表 2

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.387	7188.7	135945.1	107.2857

分析结果表 3

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.440	7172.3	137877.4	108.8106

5.6.1.4 白酒加标环己氨基磺酸 (400 mg/kg) 谱图及回收率结果

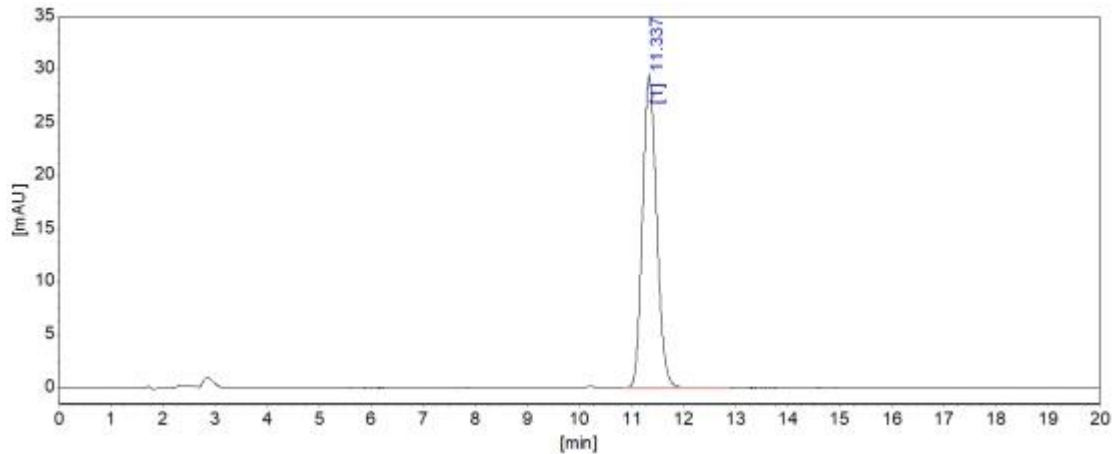


图 8 白酒样品中加标环己氨基磺酸 (400 mg/kg) 谱图

分析结果表 1

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己氨基磺酸	11.337	29337.2	555449.5	438.3519

分析结果表 2

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己氨基磺酸	11.330	26944.5	506736.3	416.5710

分析结果表 3

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己氨基磺酸	11.329	29659.0	558659.3	440.8850

白酒样品 中的环己 氨基磺 酸 (mg/kg)	试样空白 (mg/kg)	加标量 (mg/kg)	测定值 (mg/kg)	加标回收 (%)	相对标准 偏差 (%)	加标回收率范 围 (%)		
0	0	20	22.68	113.40	5.33	102.80-113.40		
			20.56	102.80				
		100	105.10	105.10	1.74	105.10-108.81		
			107.29	107.29				
		400	108.81	108.81	3.09	104.14-110.22		
			438.35	109.59				
				400	416.57	104.14		
					440.88	110.22		

5.6.2 普通试样

5.6.2.1 橙汁样品谱图

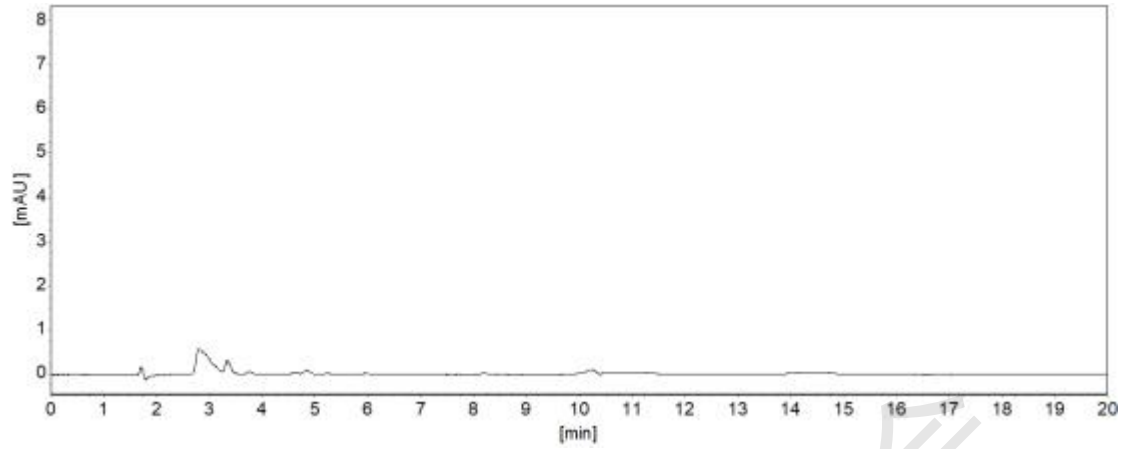


图9 橙汁样品谱图

5.6.2.2 橙汁加标环己基氨基磺酸 (100 mg/kg) 谱图及回收率结果

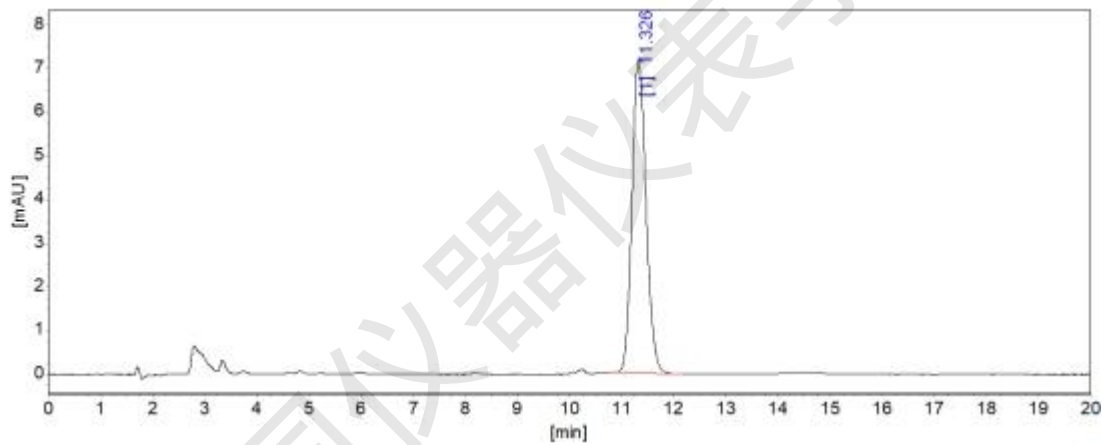


图10 橙汁样品中加标环己基氨基磺酸 (100 mg/kg) 谱图

分析结果表 1

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.326	7171.3	134703.6	105.2749

分析结果表 2

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.324	7064.6	133730.6	106.2506

分析结果表 3

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.322	7070.8	133639.2	104.8036

橙汁样品 中的环己 基氨基磺 酸(mg/kg)	试样空白 (mg/kg)	加标量 (mg/kg)	测定值 (mg/kg)	加标回收 (%)	相对标 准偏差 (%)	加标回收率范围 (%)
0	0	100	105.27 106.25 104.80	105.27 106.25 104.80	0.70	104.80-106.25

5.6.3 含二氧化碳的试样

5.6.3.1 可乐样品谱图

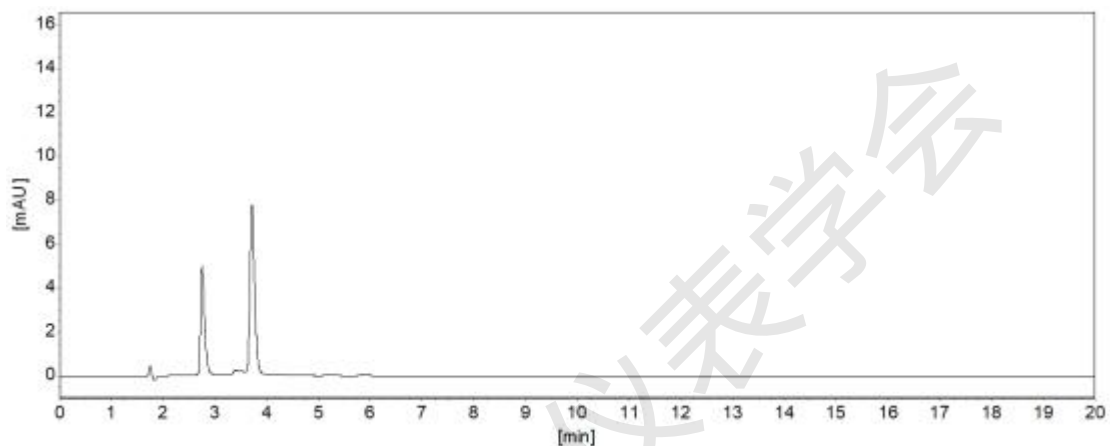


图 11 可乐样品谱图

5.6.3.2 可乐加标环己基氨基磺酸 (100 mg/kg) 谱图及回收率结果

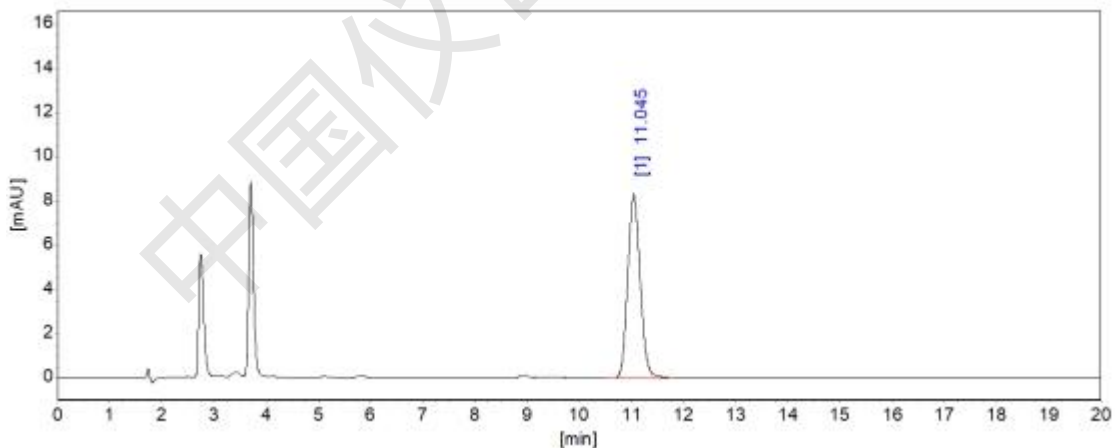


图 12 可乐样品中加标环己基氨基磺酸 (100 mg/kg) 谱图

分析结果表 1

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.045	8228.5	136185.9	111.3970

分析结果表 2

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.060	8056.0	133575.3	107.6263

分析结果表 3

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.062	8140.2	136452.6	111.4468

可乐样品 中的环己 基氨基磺 酸(mg/kg)	试样空白 (mg/kg)	加标量 (mg/kg)	测定值 (mg/kg)	加标回收 (%)	相对标 准偏差 (%)	加标回收率范围 (%)
0	0	100	111.40 107.63 111.45	111.40 107.63 111.45	1.99	107.63-111.45

5.6.4 含乳类饮料的试样

5.6.4.1 旺仔样品谱图

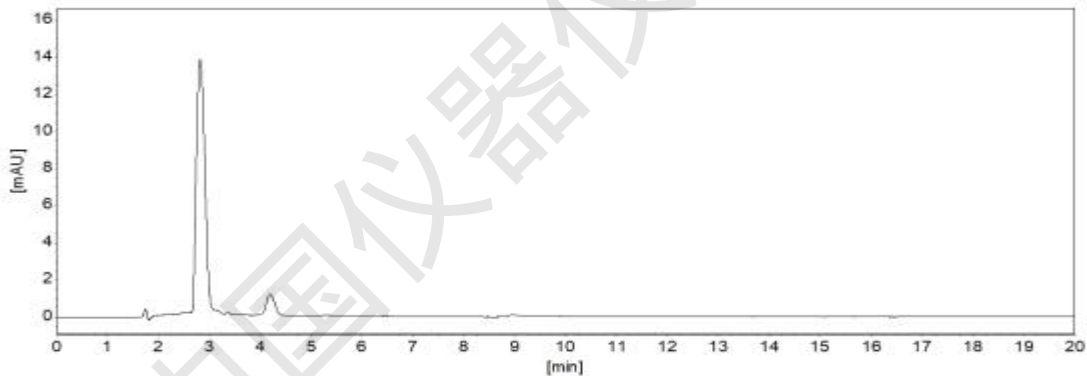


图 13 旺仔样品谱图

5.6.4.2 旺仔加标环己基氨基磺酸 (100 mg/kg) 谱图及回收率结果

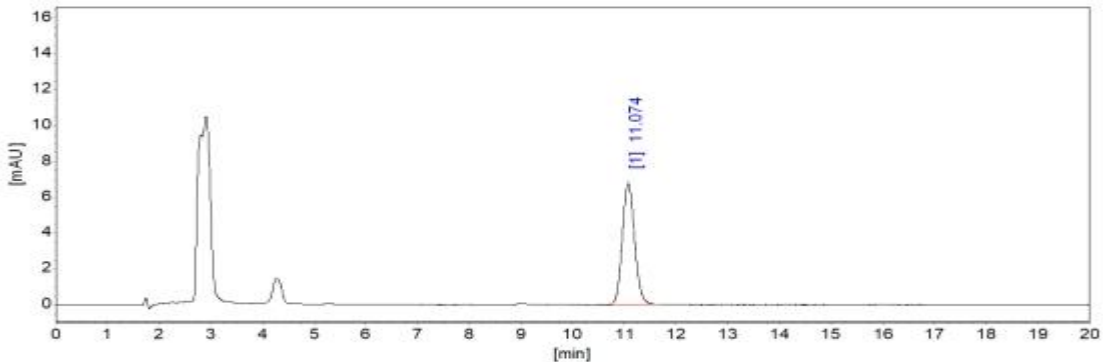


图 14 旺仔样品中加标环己基氨基磺酸 (100 mg/kg) 谱图

分析结果表 1

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.074	6728.5	111533.9	92.2763

分析结果表 2

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.078	7227.0	119909.7	98.7398

分析结果表 3

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.082	7236.2	120322.8	99.1453

旺仔样品 中的环己 基氨基磺 酸 (mg/kg)	试样空白 (mg/kg)	加标量 (mg/kg)	测定值 (mg/kg)	加标回收 (%)	相对标 准偏差 (%)	加标回收率范围 (%)
0	0	100	92.28 98.74 99.15	92.28 98.74 99.15	3.98	92.28-99.15

5.7 固体类和半固体类样品中环己基氨基磺酸谱图及加标回收率结果

5.7.1 含高蛋白类样品

5.7.1.1 冰淇淋样品谱图

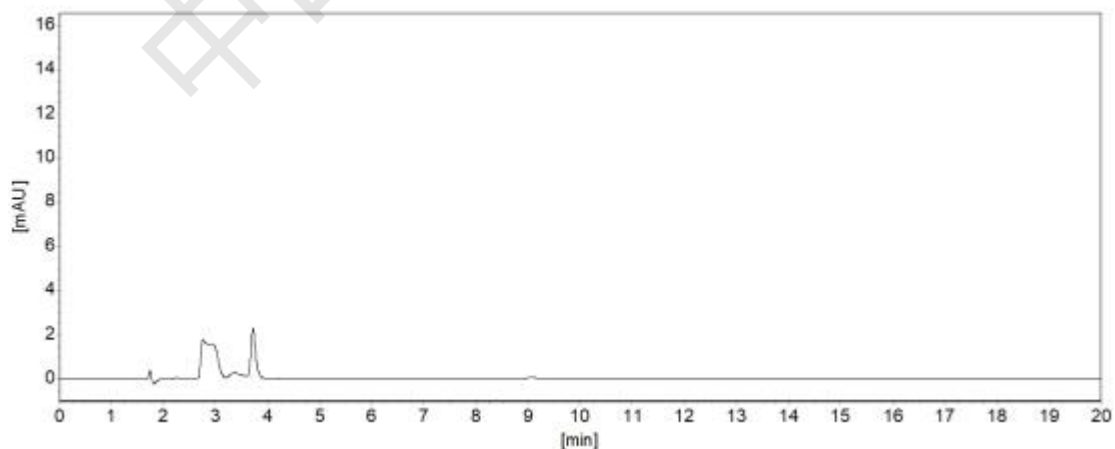


图 15 冰淇淋样品谱图

5.7.2.1 冰淇淋加标环己基氨基磺酸（100 mg/kg）谱图及回收率结果

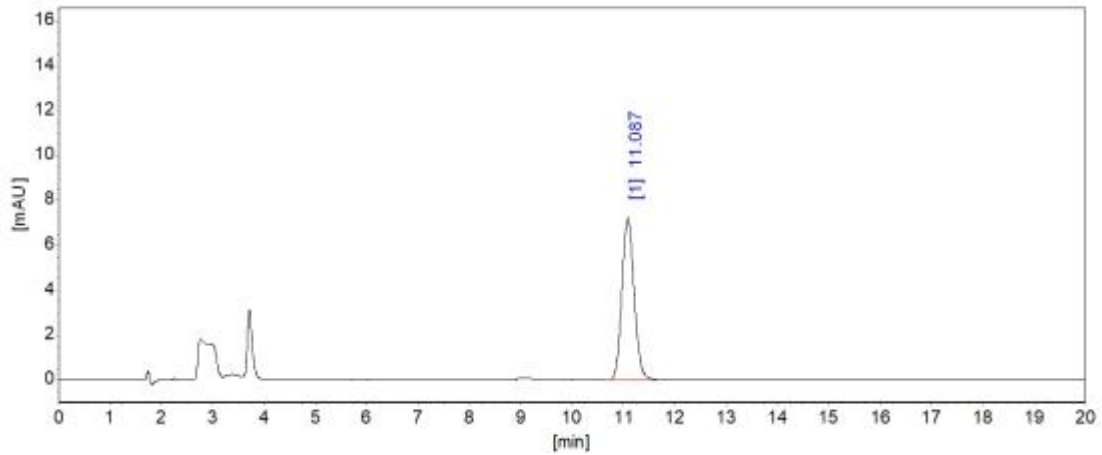


图 16 冰淇淋样品中加标环己基氨基磺酸（100 mg/kg）谱图

分析结果表 1

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.087	7153.3	118950.6	97.7403

分析结果表 2

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.016	7361.7	121739.3	99.9325

分析结果表 3

峰序	组分名	保留时间 [min]	峰高 [uAU]	峰面积 [uAU*s]	含量 [mg/kg]
1	环己基氨基磺酸	11.022	7280.6	119852.0	98.6810

冰淇淋样品中的环己基氨基磺酸 (mg/kg)	试样空白 (mg/kg)	加标量 (mg/kg)	测定值	加标回收	相对标准偏差 (%)	加标回收率范围 (%)
			(mg/kg)	(%)		
			97.74	97.74		
0	0	100	99.93	99.93	1.11	97.74-99.93
			98.68	98.68		

6 实验结果

组分名	保留时间 /min	方法评价				
		检出限 (mg/kg)	定量限 (mg/kg)	峰面积 RSD%	线性相关 系数	加标回收率 (%)
环己基氨基磺酸	11.522	0.2924	0.8772	0.604	0.999	92.28-113.40

由以上实验结果可知，本方法符合 GB 5009.97-2016《食品中环己基氨基磺酸钠的测定 高效液相色谱法》的要求。

中国仪器仪表学会