

ICS 67.040
C 53



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.97—2003
代替 GB/T 13112—1991

食品中环己基氨基磺酸钠的测定

Determination of sodium cyclamate in foods

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

687

前 言

本标准代替 GB/T 13112—1991《食品中环己基氨基磺酸钠的测定方法》。

本标准与 GB/T 13112—1991 相比主要修改如下：

——修改了标准中文名称，标准中文名称改为《食品中环己基氨基磺酸钠的测定》；

——按 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第4部分：化学分析方法》对原标准的结构进行了修改。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由广州市卫生防疫站、广东省卫生防疫站、卫生部食品卫生监督检验所负责起草。

本标准第一、二法主要起草人：张暖民、江月碧、吕澳生、梁立文、刘燕霞。

本标准第三法主要起草人：杨祖英、崔宏、蒋罗章、焦淑婷、易再明。

原标准于 1991 年首次发布，本次为第一次修订。

食品中环己基氨基磺酸钠的测定

1 范围

本标准规定了食品中环己基氨基磺酸钠的三种测定方法——气相色谱法、比色法、薄层层析法。

本标准气相色谱法及比色法适用于饮料、凉果等食品中环己基氨基磺酸钠的测定；薄层层析法适用于饮料、果汁、果酱、糕点中环己基氨基磺酸钠的含量测定。

本标准检出限为 4 μg 。

第一法 气相色谱法

2 原理

在硫酸介质中环己基氨基磺酸钠与亚硝酸反应，生成环己醇亚硝酸酯，利用气相色谱法进行定性和定量。

3 试剂

3.1 正己烷。

3.2 氯化钠。

3.3 层析硅胶(或海砂)。

3.4 50 g/L 亚硝酸钠溶液。

3.5 100 g/L 硫酸溶液。

3.6 环己基氨基磺酸钠标准溶液(含环己基氨基磺酸钠,98%):精确称取 1.000 0 g 环己基氨基磺酸钠,加入水溶解并定容至 100 mL,此溶液每毫升含环己基氨基磺酸钠 10 mg。

4 仪器

4.1 气相色谱仪:附氢火焰离子化检测器。

4.2 旋涡混合器。

4.3 离心机。

4.4 10 μL 微量注射器。

4.5 色谱条件

4.5.1 色谱柱:长 2 m,内径 3 mm,U 形不锈钢柱。

4.5.2 固定相:Chromosorb W AW DMCS 80 目~100 目,涂以 10%SE-30。

4.5.3 测定条件

柱温:80 $^{\circ}\text{C}$;汽化温度:150 $^{\circ}\text{C}$;检测温度:150 $^{\circ}\text{C}$ 。

流速:氮气 40 mL/min;氢气 30 mL/min;空气 300 mL/min。

5 试样处理

5.1 液体试样:摇匀后直接称取。含二氧化碳的试样先加热除去,含酒精的试样加 40 g/L 氢氧化钠溶液调至碱性,于沸水浴中加热除去,制成试样。

5.2 固体试样:凉果、蜜饯类试样将其剪碎制成试样。

6 分析步骤

6.1 试样制备

6.1.1 液体试样:称取 20.0 g 试样于 100 mL 带塞比色管,置冰浴中。

6.1.2 固体试样:称取 2.0 g 已剪碎的试样于研钵中,加少许层析硅胶(或海砂)研磨至呈干粉状,经漏斗倒入 100 mL 容量瓶中,加水冲洗研钵,并将洗液一并转移至容量瓶中。加水至刻度,不时摇动,1 h 后过滤,即得试样,准确吸取 20 mL 于 100 mL 带塞比色管,置冰浴中。

6.2 测定

6.2.1 标准曲线的制备:准确吸取 1.00 mL 环己基氨基磺酸钠标准溶液于 100 mL 带塞比色管中,加水 20mL。置冰浴中,加入 5 mL 50 g/L 亚硝酸钠溶液,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,摇匀后置旋涡混合器上振动 1 min(或振摇 80 次),待静止分层后吸出己烷层于 10 mL 带塞离心管中进行离心分离,每毫升己烷提取液相当 1 mg 环己基氨基磺酸钠,将标准提取液进样 1 μL~5 μL 于气相色谱仪中,根据响应值绘制标准曲线。

6.2.2 试样管按 6.2.1 自“加入 5 mL 50 g/L 亚硝酸钠溶液……”起依法操作,然后将试料同样进样 1 μL~5 μL,测得响应值,从标准曲线图中查出相应含量。

7 结果计算

见式(1)。

$$X = \frac{m_1 \times 10 \times 1\,000}{m \times V \times 1\,000} = \frac{10m_1}{m \times V} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——试样中环己基氨基磺酸钠的含量,单位为克每千克(g/kg);

m——试样质量,单位为克(g);

V——进样体积,单位为微升(μL);

10——正己烷加入量,单位为毫升(mL);

m₁——测定用试样中环己基氨基磺酸钠的质量,单位为微克(μg)。

计算结果保留两位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

第二法 比色法

9 原理

在硫酸介质中环己基氨基磺酸钠与亚硝酸钠反应,生成环己醇亚硝酸酯,与磺胺重氮化后再与盐酸萘乙二胺偶合生成红色染料,在 550 nm 波长测其吸光度,与标准比较定量。

10 试剂

10.1 三氯甲烷。

10.2 甲醇。

10.3 透析剂:称取 0.5 g 氯化汞和 12.5 g 氯化钠于烧杯中,以 0.01 mol/L 盐酸溶液定容至 100 mL。

10.4 10 g/L 亚硝酸钠溶液。

- 10.5 100 g/L 硫酸溶液。
 10.6 100 g/L 尿素溶液(临用时新配或冰箱保存)。
 10.7 100 g/L 盐酸溶液。
 10.8 10 g/L 磺胺溶液:称取 1 g 磺胺溶于 10% 盐酸溶液中,最后定容至 100 mL。
 10.9 1 g/L 盐酸萘乙二胺溶液。
 10.10 环己基氨基磺酸钠标准溶液:精确称取 0.100 0 g 环己基氨基磺酸钠,加水溶解,最后定容至 100 mL,此溶液每毫升含环己基氨基磺酸钠 1 mg,临用时将环己基氨基磺酸钠标准溶液稀释 10 倍。此液每毫升含环己基氨基磺酸钠 0.1 mg。

11 仪器

- 11.1 分光光度计。
 11.2 旋涡混合器。
 11.3 离心机。
 11.4 透析纸。

12 试样处理

同第 5 章。

13 分析步骤

13.1 提取

13.1.1 液体试样:称取 10.0 g 试样于透析纸中,加 10 mL 透析剂,将透析纸口扎紧。放入盛有 100 mL 水的 200 mL 广口瓶内,加盖,透析 20 h~24 h 得透析液。

13.1.2 固体试样:准确吸取 10.0 mL 经“6.1.2”处理后的试样提取液于透析纸中,以下操作按“13.1.1”项下进行。

13.2 测定

13.2.1 取 2 支 50 mL 带塞比色管,分别加入 10 mL 透析液和 10 mL 标准液,于 0~3℃ 冰浴中,加入 1 mL 10 g/L 亚硝酸钠溶液,1 mL 100 g/L 硫酸溶液,摇匀后放入冰水中不时摇动,放置 1 h,取出后加 15 mL 三氯甲烷,置旋涡混合器上振动 1 min。静置后吸去上层液。再加 15 mL 水,振动 1 min,静止后吸去上层液,加 10 mL 100 g/L 尿素溶液,2 mL 100 g/L 盐酸溶液,再振动 5 min,静置后吸去上层液,加 15 mL 水,振动 1 min,静置后吸去上层液,分别准确吸出 5 mL 三氯甲烷于 2 支 25 mL 比色管中。另取一支 25 mL 比色管加入 5 mL 三氯甲烷作参比管。于各管中加入 15 mL 甲醇,1 mL 10 g/L 磺胺,置冰水中 15 min,取出,恢复常温后加入 1 mL 1 g/L 盐酸萘乙二胺溶液,加甲醇至刻度,在 15℃~30℃ 下放置 20 min~30 min,用 1 cm 比色杯于波长 550 nm 处测定吸光度,测得吸光度 A 及 A_s 。

13.2.2 另取 2 支 50 mL 带塞比色管,分别加入 10 mL 水和 10 mL 透析液,除不加 10 g/L 亚硝酸钠外,其他按“13.2.1”项下进行,测得吸光度 A_{s_0} 及 A_0 。

14 结果计算

见式(2)。

$$X = \frac{c}{m} \times \frac{A - A_0}{A_s - A_{s_0}} \times \frac{100 + 10}{V} \times \frac{1}{1000} \times \frac{1000}{1000} \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X ——试样中环己基氨基磺酸钠的含量,单位为克每千克(g/kg);

m ——试样质量,单位为克(g);

- V——透析液用量,单位为毫升(mL);
 - c——标准管浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);
 - A_s ——标准液吸光度;
 - A_{s0} ——水的吸光度;
 - A——试样透析液吸光度;
 - A_0 ——不加亚硝酸钠的试样透析液吸光度。
- 计算结果保留两位有效数字。

15 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

第三法 薄层层析法

16 原理

试样经酸化后,用乙醚提取,将试样提取液浓缩,点于聚酰胺薄层板上,展开,经显色后,根据薄层板上环己基氨基磺酸钠的比移值及显色斑深浅,与标准比较进行定性、概略定量。

17 试剂

- 17.1 异丙醇。
- 17.2 正丁醇。
- 17.3 石油醚:沸程 $30^{\circ}\text{C}\sim 60^{\circ}\text{C}$ 。
- 17.4 乙醚(不含过氧化物)。
- 17.5 氢氧化胺。
- 17.6 无水乙醇。
- 17.7 氯化钠。
- 17.8 硫酸钠。
- 17.9 6 mol/L 盐酸:取 50 mL 盐酸加到少量水中,再用水稀释至 100 mL。
- 17.10 聚酰胺粉(尼龙-6):200 目。
- 17.11 环己基氨基磺酸标准溶液:精密称取 0.020 0 g 环己基氨基磺酸,用少量无水乙醇溶解后移入 10 mL 容量瓶中,并稀释到刻度,此溶液每毫升相当于 2 mg 环己基氨基磺酸,二周后重新配制(环己基氨基磺酸的熔点: $169^{\circ}\text{C}\sim 170^{\circ}\text{C}$)。
- 17.12 展开剂
 - 17.12.1 正丁醇-浓氨水-无水乙醇(20+1+1)。
 - 17.12.2 异丙醇-浓氨水-无水乙醇(20+1+1)。
- 17.13 显色剂:称取 0.040 g 溴甲酚紫溶于 100 mL 50%乙醇溶液,用 1.2 mL 0.4%氢氧化钠溶液调至 pH 8。

18 仪器

- 18.1 吹风机。
- 18.2 层析缸。
- 18.3 玻璃板:5 cm \times 20 cm。
- 18.4 微量注射器:10 μL 。
- 18.5 玻璃喷雾器。

19 分析步骤

19.1 试样提取

19.1.1 饮料、果酱:称取 2.5 g(mL)已经混合均匀的试样(汽水需加热去除二氧化碳),置于 25 mL 带塞量筒中,加氯化钠至饱和(约 1 g),加 0.5 mL 6 mol/L 盐酸酸化,用 15、10 mL 乙醚提取两次,每次振摇 1 min,静止分层,用滴管将上层乙醚提取液通过无水硫酸钠滤入 25 mL 容量瓶中,用少量乙醚洗无水硫酸钠,加乙醚至刻度,混匀。吸取 10.0 mL 乙醚提取液分两次置于 10 mL 带塞离心管中,在约 40℃ 水浴上挥发至干,加入 0.1 mL 无水乙醇溶解残渣,备用。

19.1.2 糕点:称取 2.5 g 糕点试样,研碎,置于 25 mL 带塞量筒中,用石油醚提取 3 次,每次 20 mL,每次振摇 3 min,弃去石油醚,让试样挥干后(在通风橱中不断搅拌试样,以除去石油醚),加入 0.5 mL 6 mol/L 盐酸酸化,再加约 1 g 氯化钠,以下按 19.1.1 自“用 15、10 mL 乙醚提取两次……”起依法操作。

19.2 测定

19.2.1 聚酰胺粉板的制备:称取 4 g 聚酰胺粉,加 1.0 g 可溶性淀粉,加约 14 mL 水研磨均匀合适为止,立即倒入涂布器内制成面积为 5 cm×20 cm,厚度为 0.3 mm 的薄层板 6 块,室温干燥后,于 80℃ 干燥 1 h,取出,置于干燥器中保存、备用。

19.2.2 点样:薄层板下端 2 cm 的基线上,用微量注射器于板中间点 4 μL 试样液,两侧各点 2 μL、3 μL 环己基氨基磺酸标准液。

19.2.3 展开与显色:将点样后的薄层板放入预先盛有展开剂(17.12.1 或 17.12.2)的展开槽内,展开槽周围贴有滤纸,待溶剂前沿上展至 10 cm 以上时,取出在空气中挥干,喷显色剂其斑点呈黄色,背景为蓝色。试样中环己基氨基磺酸的量与标准斑点深浅比较定量(用 17.12.2 展开剂时,环己基氨基磺酸的比移值约为 0.47,山梨酸 0.73,苯甲酸 0.61,糖精 0.31)。

20 结果计算

见式(3)。

$$X = \frac{m_1 \times 1\,000 \times 1.12}{m \times \frac{10}{25} \times \frac{V_2}{V_1} \times 1\,000} = \frac{2.8m_1 \times V_1}{m \times V_2} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

- X——试样中环己基氨基磺酸钠的含量,单位为克每千克(或克每升)[g/kg(或 g/L)];
- m_1 ——试样点相当于环己基氨基磺酸的质量,单位为毫克(mg);
- m ——试样质量,单位为克(g);
- V_1 ——加入无水乙醇的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 ——测定时点样的体积,单位为毫升(mL);
- 10——测定时吸取乙醚提取液的体积,单位为毫升(mL);
- 25——试样乙醚提取液总体积,单位为毫升(mL);
- 1.12——1.00 g 环己基氨基磺酸相当环己基氨基磺酸钠的质量,单位为克(g)。

计算结果保留两位有效数字。

21 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 28%。

本标准可以同时测定山梨酸、苯甲酸、糖精等成分。