

顶空进样 – 气相色谱法定量测定酒类样品中痕量氰化物

GC-052

摘要：本文采用顶空进样结合气相色谱 ECD 检测器定量测定酒类样品中痕量氰化物。利用低毒的 KSCN 代替 KCN 与氯胺 -T 反应，将氰化物衍生为氯化氰。优化平衡温度和平衡时间，建立测定酒样中氰化物含量的方法。在 0.05~1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内建立标准曲线，相关系数为 0.995，平行 5 次测定峰面积的相对标准偏差为 5.4%，样品加标回收率为 120%，对氰化物检出限为 0.0025 $\mu\text{g/L}$ 。此方法准确、安全、可操作性强，可用于酒样中氰化物含量的测定。

关键词：顶空进样 GC 酒样 氰化物

酒中氰化物的来源是由于某些原料中含有氰苷类配糖体，在发酵过程中，可水解产生氰化物（如 HCN 等）。因此，氰化物是酒类的一项重要监测指标，其限量是 $\leq 5 \text{ mg/kg}$ 。现行的测定食品中氰化物的方法是国标 GB/T5009.48 中推荐的异烟酸-吡啶啉酮（加 SLS 增熔）比色法定量。此方法在定性过程中存在硫化氢或者二氧化硫假阳性干扰的问题，定量需对样品作蒸馏处理，操作繁琐费时。另外，还有 KCN 溶液作为标准溶液，

用氯胺 -T 衍生为氯化氰，用顶空气相色谱法测定粮食中氰化物含量的相关报道。但上述方法都使用剧毒物质氰化钾，使得实验风险大大增加。

基于以上方法中存在的问题，本文采用低毒的 KSCN 代替 KCN，与氯胺 -T 反应，将氰化物衍生为氯化氰。使用顶空进样结合带 ECD 检测器的 GC 定量，以此测定酒样中痕量的氰化物含量。此方法安全、准确、可靠，可用于酒样中氰化物含量的测定。

实验部分

1.1 仪器

气相色谱仪：GC-2010 Plus (ECD 检测器)

顶空进样器：HS-20 (岛津公司)

1.2 分析条件

顶空参数：

平衡时间：20 min

炉温：55 $^{\circ}\text{C}$

管线温度：80 $^{\circ}\text{C}$

GC 参数：

色谱柱：Rtx-Wax, 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm

进样口温度：200 $^{\circ}\text{C}$

载气：氮气

吹扫流量：3 mL/min

柱流量：1.02 mL/min

柱温程序：40 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _100 $^{\circ}\text{C}$ (0 min)_

30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _200 $^{\circ}\text{C}$ (0.1 min)

检测器 (ECD) 温度：300 $^{\circ}\text{C}$

1.3 样品制备

溶液配制：精密称取 0.1673 g 硫氰酸钾 (GR)，加水至 100 mL，此溶液含 SCN $^{-}$ 1 mg/mL，再配制成浓度为 0.01, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80, 1.00 $\mu\text{g/mL}$ 的硫氰酸钾系列溶液。另外分别配制 10 g/L 氯胺 -T 溶液；2 mol/L NaH_2PO_4 溶液；50%乙醇溶液。

分析步骤：各吸取 1.0 mL 标准溶液置于 20 mL 顶空瓶中，再加 50%乙醇溶液 5 mL，加入 0.4 mL 2 mol/L NaH_2PO_4 溶液、0.1 mL 10 g/L 氯胺 -T 溶液，加塞振摇 1 min，进样 1 mL 气体分析测定。

样品分析：分别吸取 5 mL 酒样、0.4 mL NaH_2PO_4 溶液、0.1 mL 氯胺 -T 溶液，加塞振摇 1 min，进样 1 mL 气体分析测定。

结果与讨论

2.1 平衡温度的优化

配制 5 份相同浓度的酒样，其它条件相同，平衡温度不同时，探讨响应值与温度的关系。设置一系列温度梯度：35℃、45℃、55℃、65℃、75℃。通过实验发现，随温度升高响应值亦明显增高，但同时挥发出杂质也增加。故综合平衡响应值与杂质两个方面，见图 1，确定平衡温度为 55℃。

2.2 平衡时间的优化

平衡时间也是顶空分析需要考察的因素。设置一系列时间梯度：10 min、20 min、30 min、40 min、50 min，考察响应值与平衡时间的关系。实验结果表明，20 min 中后响应呈现下降趋势，见图 1，确定平衡时间为 20 min。

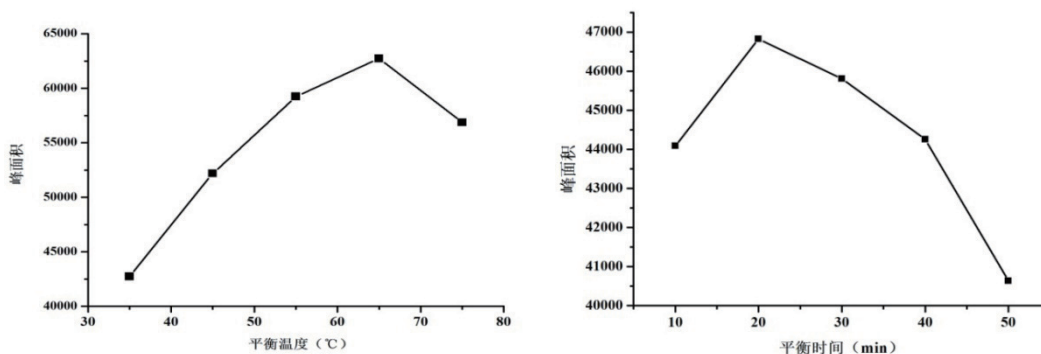


图 1 顶空平衡温度与平衡时间与响应值关系图

2.3 谱图与标准曲线

测定已配制的标准溶液系列，标样色谱图与标准曲线如下图所示。

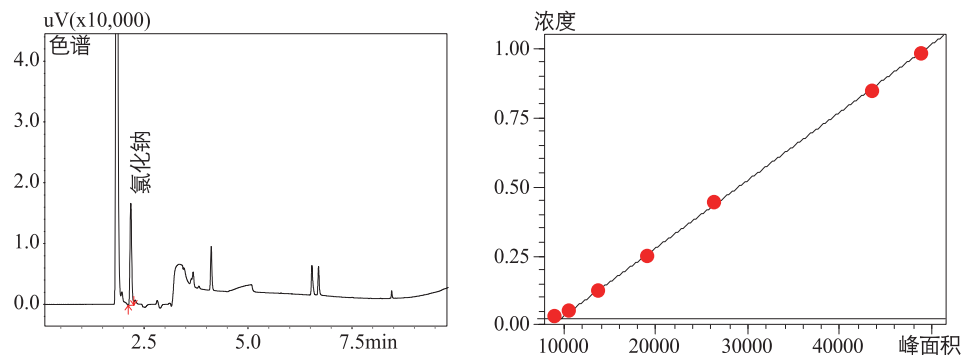


图 2 氰化氯色谱图与标准曲线图

表 1 衍生产物氰化氯保留时间

序号	中文名称	英文名称	CAS	保留时间(min)
1	氰化氯	cyanogen chloride	506-77-4	2.1

2.5 检出限

根据 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液数据, 计算此方法检出限 (3 倍噪声计算), 氰化物检出限见表 2。

2.6 重复性测试

利用 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 浓度 KSCN 标准溶液制备样品, 重复进样 5 针, 结果见表 2, 结果表明重现性良好。

2.7 回收率测试

将氰化氰标准溶液添加到酒样品中, 按照样品前处理方法制备, 加标样品最终浓度为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 。不同样品回收率结果见表 2。

表 2 衍生产物氰化氰相关定量参数

序号	名称	检出限($\mu\text{g/mL}$)	重复性	回收率
1	氰化氰	0.0025	5.4%	120%

2.8 实际样品检测结果

按照样品前处理方法处理白酒、红酒、黄酒及蜂蜜酒等样品, 检测结果如下表 3 所示:

表 3 不同酒样检测结果

序号	酒样	检测结果($\mu\text{g/mL}$)
1	白酒	0.023
2	红酒	N.D
3	黄酒	N.D
4	蜂蜜酒	0.42

结论

采用顶空进样结合岛津 GC-2010 Plus 气相色谱仪对酒中氰化物进行分析, 并利用 KSCN 代替剧毒物质 KCN, 优化平衡时间与温度, 得到实验结果。此方法操作简单、安全、可靠, 在 0.05~1 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内建立标准曲线, 相关系数为 0.995, 平行 5 次测定峰面积的相对标准偏差为 5.4%, 加标回收率为 120%, 可以用于酒中的氰化物的检测。