

高效液相色谱法测定白酒中甲醛

汪昕¹ 金蓉¹ 何志豪¹ 张夏翊¹ 周晨卉² 通讯作者

1 丽水市质量检验检测研究院, 浙江丽水, 323000;

2 缙云县食品药品安全检验检测中心, 浙江丽水, 321400;

摘要: 建立高效液相色谱法检测白酒中甲醛的实验方法, 并通过液相图谱、线性拟合度、精密度、加标回收率和检出限等方面检验方法的可行性。方法: 以 2,4-二硝基苯肼为衍生化试剂, 与待测物甲醛反应生成 2,4-二硝基苯腙, 反应温度为 $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$, 水浴中静置反应 30 min, 样液经有机膜过滤后用液相色谱仪上机检测, 检测器为紫外检测器或二极管阵列检测器, 测定波长为 355 nm, 定量方式为外标法定量, 从而计算样品中甲醛含量。结果表明: 甲醛标准曲线在 0~10 ng 范围佳线性良好, 相关系数为 0.9999; 低中高三组加标实验的加标回收率分别为 97.4%, 98.7%和 95.7%, 平行实验 6 次, 所得结果的相对标准偏差为 0.11; 方法的检出限为 0.10mg/L。结论: 本方法具有检测灵敏度高, 抗干扰能力强, 线性表现好等优点, 适用于白酒中甲醛的检测。

关键词: 高效液相色谱法; 白酒; 甲醛

DOI: 10.69979/3041-0673.25.07.086

食品中甲醛含量的检测在食品安全问题日益严峻的今天被广大检验检测从业者重视, 受限于相关检测方法的缺失, 众多类别食品中存在甲醛含量偏高的问题无法被有效发现, 特别是酒类产品中目前只有啤酒有甲醛含量限量和国标检测方法。笔者从多年食品质量检测中发现甲醛普遍存在于酒类产品中, 尤其在白酒中含量较高。为有效探索白酒中甲醛含量情况, 填补食品中甲醛含量检测方法的空缺, 笔者曾研究过分光光度法测定白酒中甲醛含量的检测方法^[1], 在后续应用中发现该方法易受其他醛类等干扰物质影响, 导致出现检测结果偏高的情况, 因此开发一种特异性更高的检测方法迫在眉睫。在反复试验后确定了高效液相色谱法测定白酒中甲醛的可行性, 从而建立本方法。

1 材料与方法

1.1 实验原理

选用 2,4-二硝基苯肼为衍生化试剂, 与待测物甲醛反应生成 2,4-二硝基苯腙, 用高效液相色谱-紫外检测器 (HPLC/UV) 或二极管阵列检测器 (HPLC/DAD) 测定^[2], 外标法定量, 计算样品中甲醛含量。

1.2 试剂和材料

实验所用固体试剂纯度均为分析纯以上。试验用水应符合 GB/T 6682 中规定的二级水要求。

(1) 乙腈: 色谱纯。

(2) 甲醛标准溶液 (1000 mg/L): 购买含证书的甲醛标准溶液。

(3) 衍生化溶液的配制: 用千分之一以上精度的电子天平称量约 0.025g (精确到 0.001g) 2,4-二硝基苯肼于 50 mL 烧杯中, 用乙腈溶解后转移至 50 mL 棕色容量瓶, 如果 2,4-二硝基苯肼难以完全溶解可加入 1% (体积分数) 冰乙酸的乙腈溶液溶解, 后用 80%乙腈水溶液定容至刻度, 摇匀备用。衍生化试剂不稳定, 应现配现用。

(4) 甲醛标准储备溶液的配制 (10 mg/L): 将带证书的甲醛标液稀释 100 倍作为标准储备溶液, 即吸取 0.5 mL 甲醛标准溶液 (1.2.2) 于 50 mL 棕色容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀备用。甲醛标准溶液不稳定, 应现配现用。

1.3 设备和仪器

(1) 电子天平, 称量精度为 0.001 g。

(2) 恒温水浴锅, $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。

(3) 高效液相色谱仪, 配置紫外检测器或二极管阵列检测器。

(4) 0.45 μm 滤膜。

1.4 分析步骤

1.4.1 衍生化

直接准确移取待测样品溶液 1.0mL 于 15mL 具塞离心管中, 准确吸取现配制的衍生化试剂 (1.2.3) 2.0 mL, 涡旋混匀 1 min 后于 $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$ 水浴中静置反应, 反应时间为 30 min。反应结束后将样液取出于室温下冷却, 后用 0.225 μm 的有机滤膜过滤, 待测。

1.4.2 检测条件及分析步骤

(1) 液相色谱条件

- a) 色谱柱: Eclipse-plus C18 柱, 5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm;
b) 流动相: 乙腈: 10% 甲醇水溶液=65:35;
c) 流速: 1.0 mL/min;
d) 柱温: 30 $^{\circ}$ C;
e) 检测波长: 355 nm;
f) 进样量: 20 μ L。

(2) 标准工作曲线

分别准确移取 0.03 mL、0.15 mL、0.3 mL、0.6 mL 和 1.5mL 甲醛标准储备液(1.2.4)于 10 mL 容量瓶中, 用水稀释定容至刻度, 以衍生化后检测进样量 20 μ L

计配制出分别含有甲醛 0.2 ng、1.0 ng、2.0 ng、4.0 ng、10.0 ng 的标准工作溶液。

将配制的甲醛标准工作溶液衍生化后上机检测, 按 1.4.2.1 条件进样测定。以甲醛质量 (ng) 为横坐标, 衍生物 2,4-二硝基苯腙的峰面积为纵坐标, 制作拟合工作曲线。

(3) 定性、定量分析

样品溶液与甲醛标准溶液同一时间、同一条件进行衍生化反应后, 按 1.4.2.1 色谱条件进样测定。用保留时间定性, 色谱峰面积定量。

2 结果与分析

2.1 标准品图谱及线性

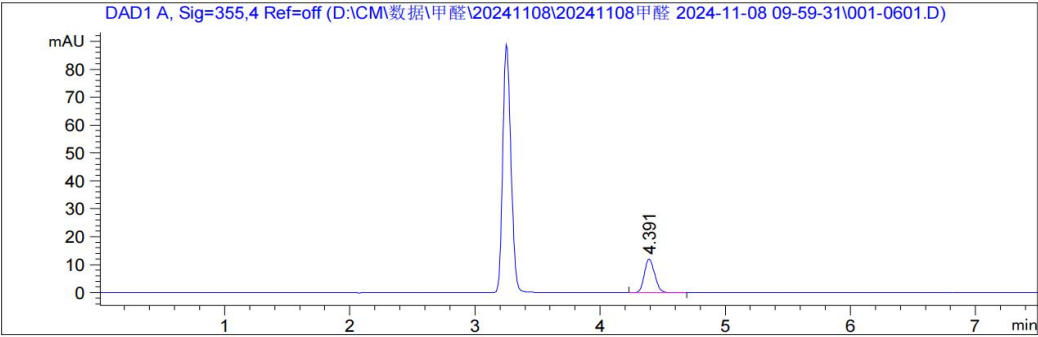


图 1 甲醛标准物质液相色谱图

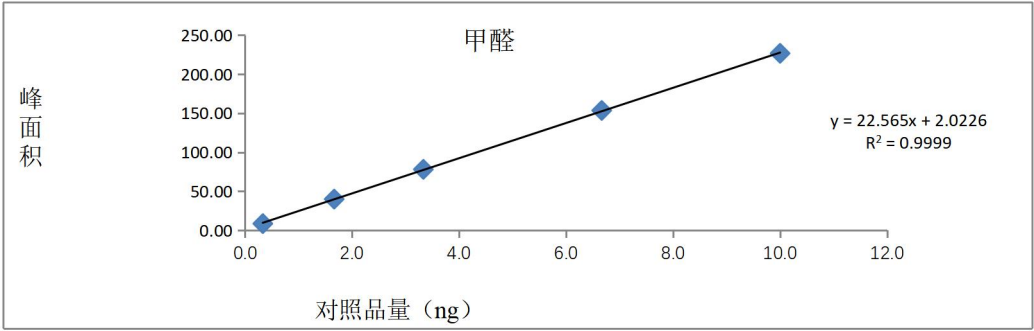


图 2 甲醛标准物质工作曲线及线性情况

由上图可知甲醛在液相色谱上的保留时间为4.4分钟左右, 目标峰位置无其他干扰峰, 出峰时间较短, 检测效率较高; 工作曲线为: $y=22.565x+2.0226$, 线性相关系数 $R^2=0.9999$, 甲醛含量 0 ng~10 ng 之间有良好的线性关系。

2.2 精密度和加标回收率

(1) 平行进样 6 次, 得到甲醛峰面积如下表:

表 1 精密度实验结果

	1	2	3	4	5	6
峰面积	68.44	68.47	68.42	68.58	68.25	68.49
相对标准偏差 S=0.11						

(2) 分别在低浓度 (0.08mg/L)、中浓度 (0.45mg/L)、高浓度 (1.4mg/L) 进行加标回收, 所得加标回收率分别为 97.4%, 98.7%和 95.7%。

由上述数据分析可知, 该高效液相色谱检测方法在低中高浓度上均有较好的加标回收率, 且实验精密度高。

2.3 检出限

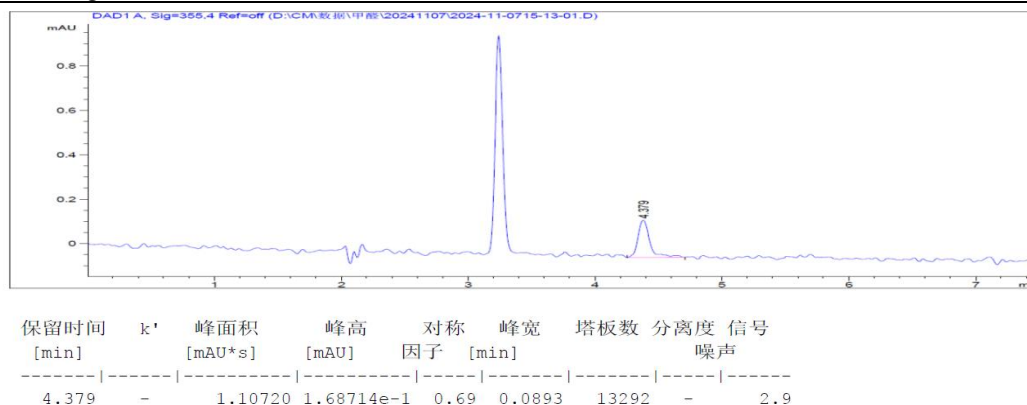


图 3 甲醛标准物质检出限图谱

实验以甲醛标准物质峰面积信噪比为3左右的浓度确定该方法的检出限，得到该方法的检出限为 0.10 mg/L。

3 结论

本研究建立了高效液相色谱法测定白酒中甲醛的检测方法，并对该方法的可行性进行了论证，结果表明该方法能够实现白酒中甲醛的检测目标，适用于白酒的检测与研究。

参考文献

[1] 汪昕, 金蓉. 分光光度法测定白酒中甲醛[J]. 食品

安全导刊, 2022, (19): 106-108. DOI: 10.16043/j.cnki.cfs.2022.19.029.

[2] GB/T 2912.3-2009 纺织品 甲醛的测定 第三部分: 高效液相色谱法[S].

基金项目: 浙江省市场监督管理局雄鹰计划培育项目, 项目编号: CY2022354

基金项目: 丽水市科技计划项目, 项目编号: 2022SJZC064

作者简介: 汪昕, (1992), 男, 本科学历, 籍贯浙江松阳, 浙江省丽水市质量检验检测研究院工程师, 从事食品(酒类等)检测工作。