

乙酰丙酮法测定啤酒中甲醛含量的研究

崔娜*, 张曼玲, 田艳玲

(北京市海淀区产品质量监督检验所, 北京 100094)

摘要: **目的** 改进乙酰丙酮法测定啤酒中甲醛含量。**方法** 采用乙酰丙酮比色法测定啤酒中甲醛含量。通过3组加标回收试验, 测定不同蒸馏体积、不同反应时间、不同磷酸浓度对乙酰丙酮显色法的干扰, 确定最合适的检测条件。**结果** 最佳条件为: 蒸馏液为200 mL, 加入硫酸浓度为20%, 反应时间5 min。甲醛含量在0~50 μg 范围内具有良好的线性关系, 线性方程为 $Y=0.022X-0.001$, $r^2=1$, 回收率大于80%。**结论** 该方法用于检测啤酒中甲醛含量简单、快速、准确, 易于推广。

关键词: 甲醛; 啤酒; 乙酰丙酮法

Determination of the formaldehyde content in beer by acetyl acetone method

CUI Na*, ZHANG Man-Ling, TIAN Yan-Ling

(Beijing Haidian District Institute of Products Quality Supervision and Inspection, Beijing 100094, China)

ABSTRACT: Objective To improve the acetyl acetone colorimetric method for the determination of formaldehyde in beer. **Method** The formaldehyde content in beer was detected by acetyl acetone colorimetric method. The optimal experimental conditions were determined by 3 groups of spiked recovery tests, through manipulating the different distillation volumes, different reaction times and different concentrations of phosphate to interfere acetylacetone colorimetric method. **Results** The optimal conditions for the experiment were as follow: the distillate was 200 mL, the sulfuric acid concentration was 20% and the reaction time was 5 min. The formaldehyde content had a good linear relationship in the range of 0~50 μg , and the linear equation was $Y=0.022X-0.001$ ($r^2=1$). The recovery was more than 80%. **Conclusion** The method for detecting formaldehyde content in beer is simple, rapid, accurate and easy to disseminate.

KEY WORDS: formaldehyde; beer; acetyl acetone method

1 引言

甲醛(化学分子式 HCHO , 分子量: 30.03)是一种无色、有强烈刺激性气味的气体。易溶于水、醇和醚。甲醛在常温下是气态, 通常以水溶液形式出现, 其40%的水溶液称为福尔马林, 此溶液沸点为 19°C , 在室温极易挥发, 随着温度的上升挥发速度加快^[1]。甲醛在工业中有广泛的用途, 是重要的工业原料。它

常用于树脂、塑料、皮革、染料、橡胶、炸药、制药、纺织、油漆等。在日常生活中甲醛可用作消毒、防腐和熏蒸剂^[2]。甲醛具有较大毒性, 低浓度下会刺激眼黏膜, 浓度稍高时刺激上呼吸道, 引起咳嗽、胸闷, 同时额部会有特殊的压迫感, 并使粘膜溃烂, 进而在肺部引起炎症。此外甲醛还能损伤细胞内的遗传物质, 是可疑的致癌物质。长期接触甲醛气体可引起头痛、脉搏加快、皮炎、红肿等^[3,4]。因此世界卫生组织(WHO)

*通讯作者: 崔娜, 主要研究方向为食品检测及管理。E-mail: 83617535@qq.com

*Corresponding author: CUI Na, Beijing Products Quality Supervision and Inspection Institute, Haidian District, Beijing 100094, China. E-mail: 83617535@qq.com

和美国环境保护局将甲醛列为可疑的致癌物与重要的环境污染物。考虑到甲醛的毒性,我国《中华人民共和国食品卫生法》中明确规定禁止甲醛作为食品添加剂^[5]。

啤酒中的甲醛主要来自两个方面:一是,啤酒在发酵过程中,新陈代谢产生的内源性甲醛;二是,在酿酒工艺中作为食品加工助剂添加到啤酒中,以有效去除啤酒中多酚,防止啤酒的非生物稳定性使啤酒澄清透亮,其危害较大^[6]。甲醛的测定方法可分为乙酰丙酮法^[7,8]、AHMT法(甲醛与4-氨基-3-联氨-5-巯基-1,2,4-三唑比色法)^[9]、液相荧光光谱法^[10]、气相色谱质谱法^[11]、流动注射分光光度法^[12]和酶催化光度法^[13]。这些新方法通常需要先进的仪器,而这些仪器又相对昂贵。针对一些经济落后地区实验室,建立快速、简便而又比较准确的测定方法显得尤为重要。分光光度法是甲醛测定中应用最为广泛的一种方法,其中乙酰丙酮比色法直接测定啤酒中的甲醛,精密度和准确度均符合实验要求^[14]。本文对乙酰丙酮法进行研究,通过对实验中关键控制点(磷酸浓度、蒸馏液体积、反应时间)的讨论,探索最佳适合的反应条件,对其方法进行改进,使该检测方法更加简单、快速、准确,易于推广。

2 材料与方法

2.1 仪器

紫外分光光度计(UV-2450,日本岛津公司),恒温水浴锅(HHS,上海博迅实业有限公司),水蒸气蒸馏装置(ZDHW,北京中兴伟业仪器有限公司)。

2.2 试剂

甲醛(37%~40%,西陇化工股份有限公司);乙酸铵(分析纯,西陇化工股份有限公司);乙酸、磷酸、硫酸、氢氧化钠(分析纯,北京化工厂);乙酰丙酮(分析纯,天津福晨化学试剂厂),可溶性淀粉、硫代硫酸钠(分析纯,天津长鑫宏翔商贸有限公司),碘(分析纯,西陇化工股份有限公司)。

20%磷酸溶液:称取10 g磷酸,溶于500 mL容量瓶中,用水定容摇匀。

1 mol/L 氢氧化钠:吸取56 mL澄清的氢氧化钠饱和溶液于1000 mL容量瓶,加水冷却后定容,摇匀。

1mol/L 硫酸:量取30 mL硫酸,缓缓注入适量水

中,冷却后稀释到1000 mL,摇匀。

5 g/L 淀粉:称取0.50 g可溶性淀粉,用水定容至100 mL,摇匀。

乙酰丙酮溶液:称取0.4 g乙酰丙酮和25 g乙酸铵、3 mL乙酸溶于水中,定容至200 mL备用。现用现配。

0.1 mol/L 硫代硫酸钠^[15]:称取26 g硫代硫酸钠及0.2 g碳酸钠,加入适量溶解,并稀释至1000 mL,混匀,放置一个月后过滤备用。

0.1 mol/L 碘^[15]:称取13.5 g碘,加36 g碘化钾、50 mL水,溶解后加入3滴盐酸及适量水稀释至1000 mL。密封避光保存。

2.3 实验方法

2.3.1 标准溶液的配制和标定

吸取36%~38%甲醛溶液3 mL放入100 mL容量瓶中,加蒸馏水定容至刻度。吸取上述溶液10 mL于250 mL碘量瓶中,加水90 mL、0.1 mol/L的碘溶液20 mL和1 mol/L的氢氧化钠溶液15 mL,摇匀,放置15 min。加入1 mol/L的硫酸溶液20 mL进行酸化,用0.1000 mol/L的硫代硫酸钠标准溶液滴定至淡黄色,然后加约5 g/L的淀粉指示剂1 mL,继续滴定至蓝色褪去为终点。同时做试剂空白试验。计算出甲醛标准溶液的浓度。用上述已标定的甲醛浓度的溶液,用水配制成含甲醛5 $\mu\text{g/mL}$ 的甲醛标准使用液。

精密吸取5 $\mu\text{g/mL}$ 的甲醛标准使用液各0.00、0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、6.00、8.00、10.0 mL于25 mL比色管中,加水至10.0 mL。

2.3.2 样品前处理

取预先在冰箱中冷却至10~15 $^{\circ}\text{C}$ 的啤酒,启盖后经快速滤纸过滤,置于三角烧瓶中,稍加振摇,静置,以除去二氧化碳和部分泡沫。

2.3.3 蒸馏操作

(1)平行吸取4份25 mL去除二氧化碳的啤酒移入500 mL的蒸馏瓶中,加入20%磷酸溶液20 mL于蒸馏瓶中,分别在吸取的样液中加入0、1、2、5 mL甲醛标准溶液,接入水蒸气蒸馏装置进行蒸馏。接收馏出液于100 mL容量瓶中(近100 mL时拿出冷却定容)。同法另制备两份样液,接收馏出液于200 mL、300 mL容量瓶中。

(2)平行吸取4份25 mL去除二氧化碳的啤酒移入500 mL的蒸馏瓶中,加入10%磷酸溶液20 mL于蒸馏瓶中,分别在吸取的样液中加入0、1、2、5 mL

甲醛标准溶液, 接入水蒸气蒸馏装置中进行蒸馏。接收馏出液于 200 mL 容量瓶中(近 200 mL 时拿出冷却定容)。

(3)平行吸取 4 份 25 mL 去除二氧化碳的啤酒移入 500 mL 的蒸馏瓶中, 加入 5%磷酸溶液 20 mL 与蒸馏瓶中, 其余同 2.3.2(2)。

2.3.4 测定比色

(1)吸取样品馏出液 10 mL 移入 25 mL 比色管中。在标准系列和样品比色管中各加入 2 mL 乙酰丙酮溶液, 摇匀后在沸水中水浴加热 10 min, 取出冷却至室温。另取两份样品馏出液 10 mL 移入 25 mL 比色管中, 加入 2 mL 乙酰丙酮溶液, 摇匀后分别在沸水浴中加热 5 min、20 min, 取出冷却至室温。置于紫外分光光度计 10 mm 比色皿中, 于 415 nm 波长处测定吸光度, 绘制标准曲线(图 1)。

(2) 计算结果和回收率

$$X=m/V$$

公式中: X: 样品中甲醛含量, mg/L;
m: 从标准曲线上查出的相当的甲醛的质量, μg;
V: 测定样液中相当的样液体积, mL。
回收率=加标试样测定值/加标量×100%。

3 结果与分析

为比较不同馏出液对回收率的影响, 分别为选择 100、200、300 mL 不同的馏出体积。在不同加标浓度、不同馏出液体积下考察回收率, 结果如表 1 所示。随着馏出液体积的增加, 回收率一直呈上升趋势, 馏出液从 100 mL 增加到 200 mL, 回收率提高超过 20%。馏出液体积从 200 mL 增加到 300 mL, 回收率

增加不到 6%, 但同时实验时间却增加了 1/3。综合考虑回收率与实验时间, 馏出液体积选择 200 mL 比较合适。

表 1 馏出液体积对回收率的影响
Table 1 Effect of liquid distillate volume on recovery

加标浓度(mg/L)	馏出液体积(mL)	回收率(%)
5.04	100	66.00
	200	80.81
	300	81.92
10.08	100	63.80
	200	82.10
	300	84.97
25.2	100	61.50
	200	86.20
	300	91.02

表 2 中, 相同的馏出液体积(以加入 20%磷酸, 200 mL 馏出液为例), 甲醛含量与乙酰丙酮沸水浴反应时间不同, 回收率不同。由于甲醛易溶于水, 通常以水溶液形式出现, 沸点为 19 ℃, 较低, 随着温度的上升挥发速度加快, 在长时间沸水浴中加热很容易挥发, 因而沸水浴时间不宜过长。综合实验考虑, 沸水浴 5 min 为最适合水浴时间。

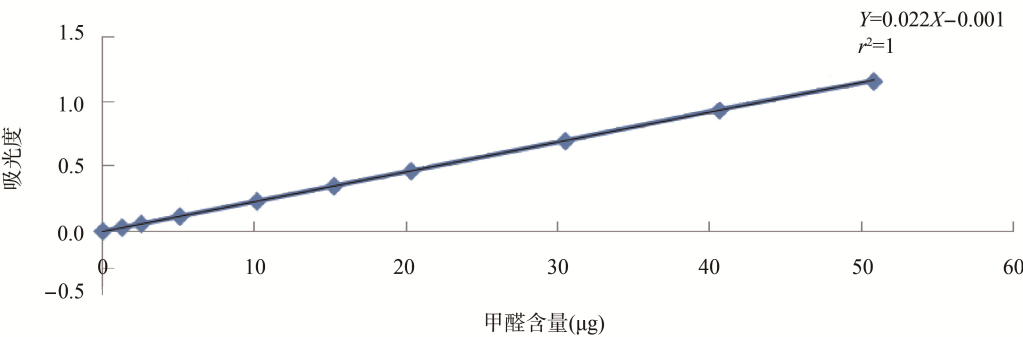


图 1 甲醛的标准曲线
Fig. 1 Formaldehyde standard curve

表 2 沸水浴时间对回收率的影响
Table 2 Effect of boiling water time on the recovery

加标浓度(mg/L)	沸水浴时间(min)	回收率(%)
5.04	5	82.52
	10	80.81
	15	76.30
10.08	5	83.42
	10	82.10
	15	77.61
25.2	5	86.22
	10	85.90
	15	79.90

表 3 中, 相同反应条件下(200 mL 馏出液体积 5 min 的沸水浴), 加入磷酸溶液的浓度不同, 甲醛的回收率也有所不同。因甲醛易被氧化, 加热易分解, 它的羰基与亚硫酸氢钠、醇、氨及氨类衍生物等极易进行加成反应。但如受热时与酸共热, 在充分的酸性条件下, 可以解聚再生成甲醛。因此, 在 20%磷酸溶液条件下回收率较高。

表 3 磷酸浓度对回收率的影响
Table 3 Effect of phosphoric acid concentration on recovery

加标浓度(mg/L)	磷酸浓度(%)	回收率(%)
5.04	5	70.51
	10	81.30
	20	82.52
10.08	5	67.10
	10	80.60
	20	83.42
25.2	5	63.90
	10	78.30
	20	86.22

4 结 论

本实验主要研究在不同蒸馏体积、不同反应时间、不同磷酸浓度下对乙酰丙酮显色法的干扰, 以选出最合适的检测条件。综合考虑, 磷酸浓度 20%、馏出液体积选择 200 mL、沸水浴 5 min 显色最为理想。甲醛含量在 0~50 μg 范围内具有良好的线性关系, 线性方程为 $Y=0.022X-0.001$, $r^2=1$ 。

参考文献

[1] 江萍. 水产品中甲醛的快速测定[J]. 现代预防医学, 2005, 32(4): 346.
Jiang P. Rapid determination of formaldehyde in aquatic products [J]. J Prev Med, 2005, 32 (4): 346 .

[2] 王建, 崔艳梅. 酒类中微量甲醛的快速检测方法[J]. 分析科学学报, 2007, 23(1): 88–90.
Wang J, Cui YM. Rapid detection method of trace formaldehyde in alcohol [J]. J Anal Sci, 2007, 23(1): 88–90.

[3] 李英, 朱崇法. 职业接触低浓度甲醛对健康的影响[J]. 中国工业医学杂志, 2003, 16(5): 309.
Li Y, Zhu CF. Occupational exposure to health effects of low concentrations of formaldehyde [J]. Chin J Ind Med, 2003, 16(5): 309.

[4] 吴泳, 刘波. 装修室内甲醛污染监测及健康效应调查[J]. 预防医学情报杂志, 2005, 21(4): 483.
Wu Y, Liu B. Formaldehyde indoor decoration pollution monitoring and investigation of health effects [J]. J Prev Med Inf, 2005, 21(4): 483.

[5] 张晓风, 项锦欣, 付钰洁. 甲醛检测方法研究进展[J]. 重庆工学院学报, 2007, 21(1): 140–141 .
Zhang XF, Xiang JX, Fu YJ. Advances in formaldehyde detection method [J]. Chongqing Inst Technol, 2007, 21(1): 140–141.

[6] 王树庆, 张咏梅. 啤酒的浑浊稳定性及其防治[J]. 潍坊高等职业教育, 2005, 1(2): 37–40.
Wang SQ, Zhang YM. Turbid stability of beer and its control [J] Weifang Vocat Educ, 2005, 1(2): 37–40 .

[7] 王灵芝. 乙酰丙酮比色法直接检测啤酒中甲醛[J]. 预防医学论坛, 2007, 13(5): 447–448.
Wang LZ. Directly detection of formaldehyde in beer by acetylacetone colorimetry [J]. Prev Med Trib, 2007, 13(5): 447–448 .

[8] 王秋菊, 董健, 毕玉友. 乙酰丙酮比色法直接测定啤酒中甲醛[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(11): 1390.
Wang QJ, Dong J, Bi YY. Directly detection of formaldehyde in beer by acetylacetone colorimetry [J]. Chin J Public Health, 2004 , 20(11): 1390 .

[9] NY/T 273-2002 绿色食品啤酒(附录 A)[S].
NY / T 273-2002 Green beer (Appendix A) [S].

[10] 李军, 朱凤妹, 彭涛. 啤酒中甲醛的液相荧光光谱检测方法研究[J]. 中国食品学报, 2007, 7(5): 128–132.
Li J, Zhu FM, Peng T. Study on the detection of formaldehyde in beer by liquid chromatography fluorescence [J]. Chin Inst Food Sci, 2007, 7(5): 128–132 .

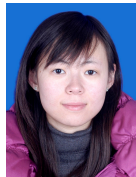
- [11] 黄晓兰, 黄芳, 林晓珊. 气相色谱-质谱法测定食品中的甲醛[J]. 分析化学, 2004, 32(12): 1617-1620.
Huang XL, Huang F, Lin XS. Detection of formaldehyde in food by mass spectrometry [J] Anal Chem, 2004, 32(12): 1617-1620 .
- [12] 强洪, 朱红霞, 朱若华. 流动注射分光光度法测定啤酒及海产品中的甲醛[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 371-374.
Qiang H, Zhu HX, Zhu RH. Detection of formaldehyde in beer and seafood by flow injection spectrophotometric [J]. Food Sci, 2009, 30(20): 371-374 .
- [13] Bechmann IB. Determination of formaldehyde in frozen fish with formaldehyde dehydrogenase using a flow injection system with an incorporated gel- filtration chromatography column [J]. Anal Chim Acta, 1996, 320: 155-164.
- [14] 纳文娟, 刘慧燕, 方海田. 食品中甲醛残留量检测方法的比较[J]. 保鲜与加工, 2008, 45(2): 42-44.

Na WJ, Liu HY, Fang HT. Comparison of the detection method of the residual formaldehyde in food [J]. Pres Proc, 2008, 45(2): 42-44 .

- [15] GB/T 5009.1-2003 食品卫生检验方法 理化部分 总则[S].
GB/T 5009.1-2003 Food hygiene inspection method-Physical and chemical section-General [S].

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



崔 娜, 主要研究方向为食品检测及管理。
E-mail: 83617535@qq.com