

食品安全国家标准-食品中脱氢乙酸的测定

刘海侠

(浙江福立分析仪器股份有限公司, 浙江 温岭 317500)

摘要: 样品经沉淀蛋白、脱脂酸化后, 用乙酸乙酯提取, 用配氢火焰离子化检测器的气相色谱仪分离测定, 以色谱峰的保留时间定性, 外标法定量。

关键词: 脱氢乙酸;气相色谱;食品

1 检测方法

依据国家标准《GB5009.121-2016 食品安全国家标准 食品中脱氢乙酸的测定》(第一法 气相色谱法)

2 试剂和材料

2.1 试剂

- 1) 乙酸乙酯: 色谱纯。
- 2) 正己烷: 色谱纯。
- 3) 盐酸: 分析纯
- 4) 氢氧化钠: 分析纯,
- 5) 硫酸锌: 分析纯。
- 6) 盐酸溶液 (1+1, V/V): 量取 50mL 盐酸加入到 50mL 水中, 混匀。
- 7) 氢氧化钠溶液 (20g/L): 称取 2 g 氢氧化钠, 溶于水并稀释至 100mL。
- 8) 硫酸锌溶液 (120g/L): 称取 12g 硫酸锌, 溶于水并稀释至 100mL。
- 9) 脱氢乙酸标准品: CAS 520-45-6, 纯度 99.4%, 有证书。

2.2 仪器设备

- 1) GC9720Plus 气相色谱仪, 氢火焰检测器 (FID)
- 2) 色谱柱: 石英毛细管柱 RB-FFAP, 柱长 30m, 内径 0.32mm, 膜厚 0.50 μ m
- 3) FL1092T 自动进样器

3 溶液配制

3.1 标准溶液配制

1) 脱氢乙酸标准储备溶液 (1.0mg/mL) : 准确称取 50.0mg 脱氢乙酸标准品于 50 mL 容量瓶中, 用乙酸乙酯溶解并定容至刻度, 配制成浓度为 1.0mg/mL 的标准储备液, 4°C 保存。有效期为 3 个月。

2) 脱氢乙酸标准工作液: 分别吸取脱氢乙酸标准储备溶液 (1.0mg/mL) 10 μ L, 100 μ L, 500 μ L, 1000 μ L, 2000 μ L 于 10mL 容量瓶, 用乙酸乙酯稀释至刻度, 配成浓度为 1.00, 10.0, 50.0, 100, 200 μ g/mL 的脱氢乙酸标准系列溶液。4°C 保存。有效期为 1 个月。

3.2 样品溶液制备

1) 果蔬汁、果蔬浆样品、面包、糕点、焙烤食品馅料、复合调味料样品、黄油样品:

称取 2 g (精确到 0.001 g) 试样于至 50 mL 具塞塑料离心管中, 加水约 15 mL, 2.5 mL 硫酸锌溶液 (3.1.8), 用氢氧化钠溶液 (3.1.7) 调 pH7.5, 转移至 25mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀。置于离心管中、超声提取 15min。在 4000 r/min 转速下离心 10 min, 取上清液 10 mL, 加入 5 mL 正己烷, 振摇 1min, 在 4000 r/min 转速下离心 10 min, 弃去正己烷层, 下层水液加入 1mL 盐酸溶液 (3.1.6) 酸化后, 准确加入 5.0mL 乙酸乙酯, 振摇 2min, 在 4000 r/min 转速下离心 10 min, 取上清液供气相色谱测定。。

2) 酱菜、发酵豆制品样品:

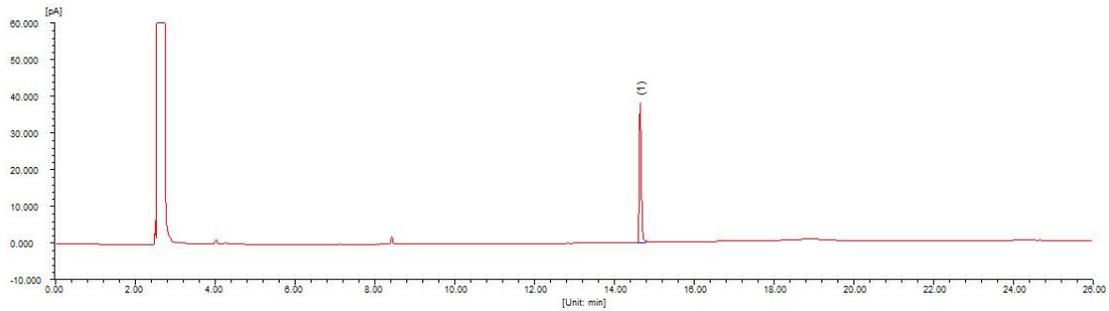
称取 2 g (精确到 0.001 g) 试样于至 50 mL 具塞塑料离心管中, 加水约 15 mL, 2.5 mL 硫酸锌溶液 (3.1.8), 用氢氧化钠溶液 (3.1.7) 调 pH7.5, 转移至 25mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀。置于离心管中、超声提取 15min。在 4000 r/min 转速下离心 10 min, 取上清液 10 mL, 加入 1mL 盐酸溶液 (3.1.6) 酸化后, 准确加入 5.0mL 乙酸乙酯, 振摇 2min, 在 4000 r/min 转速下离心 10 min, 取上清液供气相色谱测定。

4 色谱条件

- 1) 进样口: 240°C;
- 2) 柱温: 初始 150°C, 保持 2min, 以 5°C/min 升到 220°C, 保持 10min;
- 3) 检测器: 240°C;
- 4) 恒流: 1.0mL/min;
- 5) 分流比: 5: 1;
- 6) 进样量: 1.0 μ L。

5 分析结果

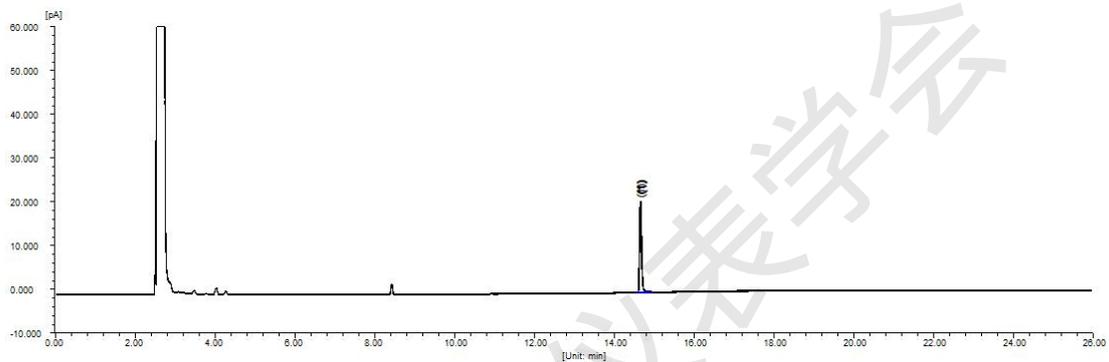
5.1 脱氢乙酸标准溶液典型谱图



1. 脱氢乙酸

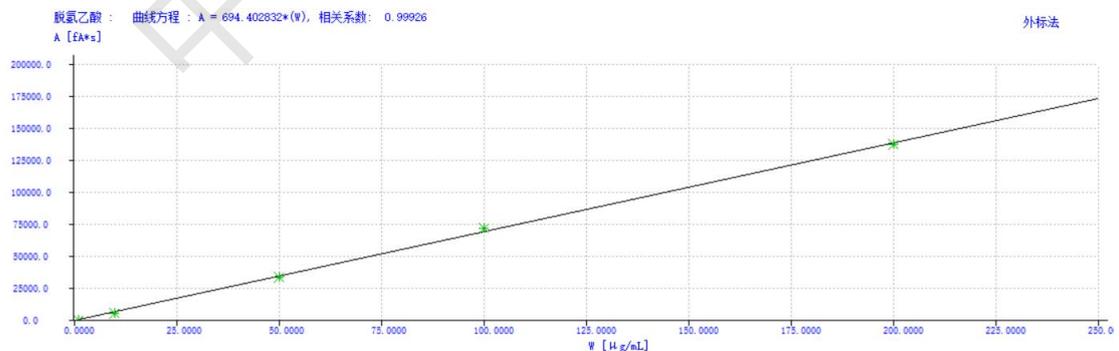
5.2 重复性实验

1) 脱氢乙酸标准溶液 100 $\mu\text{g/mL}$ 重复性谱图及结果



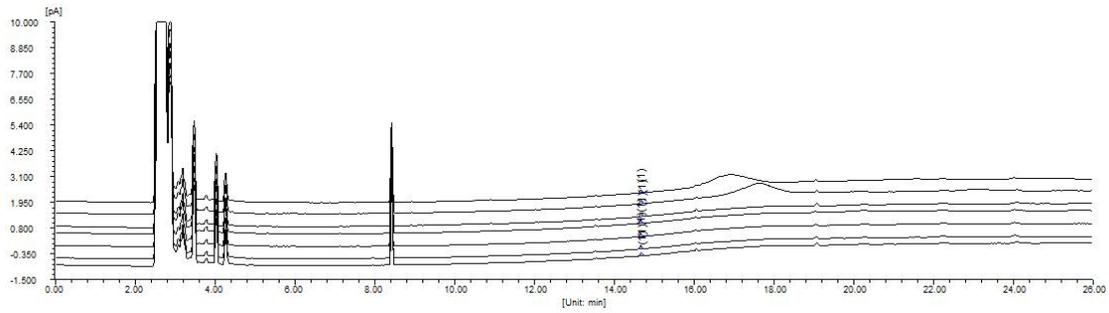
序号	组分名	平均时间 [min]	时间 RSD%	平均面积 [fA*s]	面积 RSD%	平均峰高 [fA]	峰高 RSD%	平均含量 [$\mu\text{g/mL}$]	含量 RSD%	谱图数
1	脱氢乙酸	14.668	0.048	74939.3	1.5188	20737.7	2.1076	107.919	1.5188	6

5.3 脱氢乙酸标准曲线方程及相关系数



5.4 检出限

1) 脱氢乙酸标准溶液 (1.0 $\mu\text{g/mL}$) 七针重复性谱图



序号	组分名	平均时间 [min]	时间 RSD%	平均面积 [fA*s]	面积 RSD%	平均峰高 [fA]	峰高 RSD%	平均含量 [μg/mL]	含量 RSD%	谱图数
1	脱氢乙酸	14.679	0.053	669.9	6.3041	170.2	2.8075	0.9648	6.3041	7

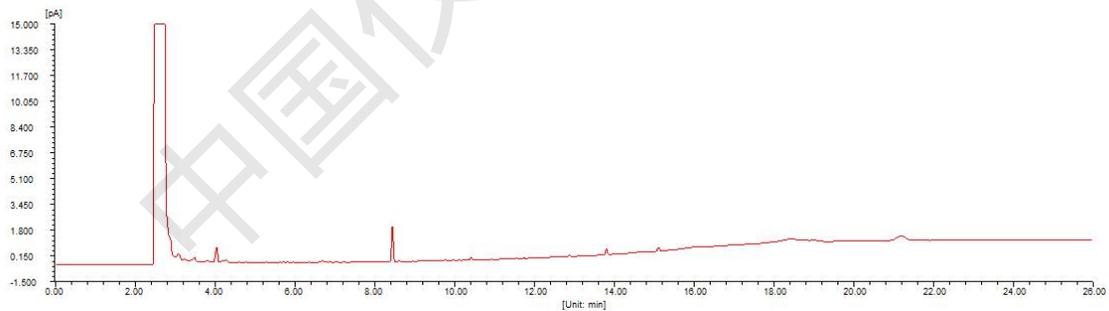
1) 脱氢乙酸检出限结果

以取样 2.0 g 计，本方法的检出限、定量限如下表所示：

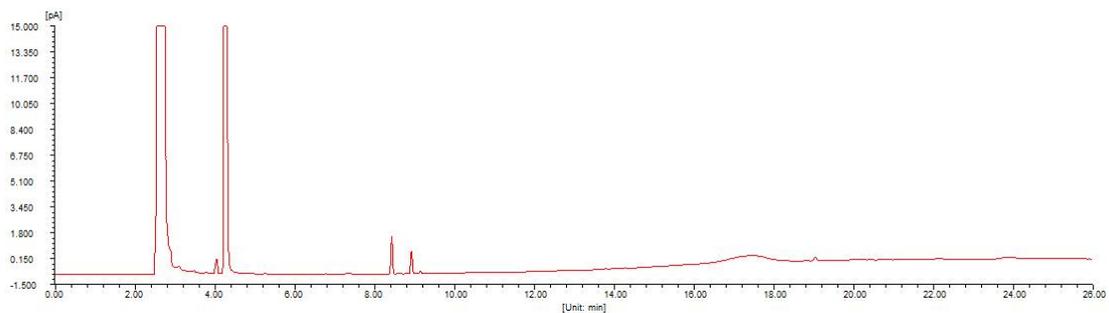
组分名	含量 [μg/mL]	检出限 [mg/kg]	定量限 [mg/kg]						
脱氢乙酸	1.0474	0.9998	0.8789	0.9337	1.0229	0.9168	0.9538	1.0	3.0

5.5 样品中脱氢乙酸谱图及加标回收率结果

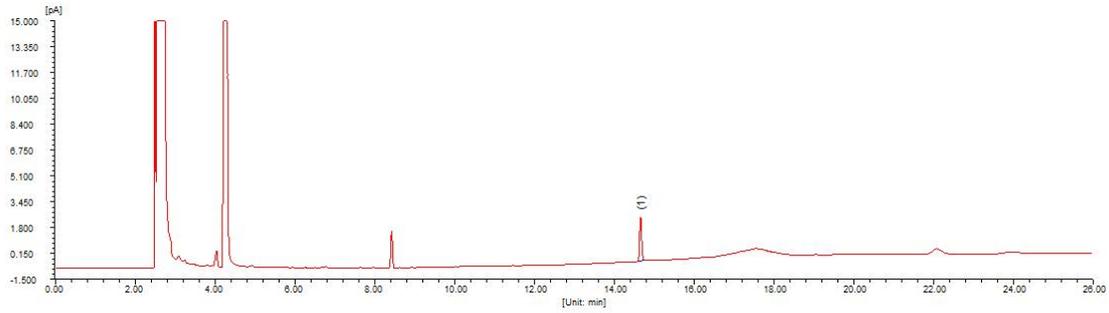
1) 试样空白



2) 果汁样品谱图及结果



3) 果汁样品加标脱氢乙酸 (100 mg/kg) 谱图及结果

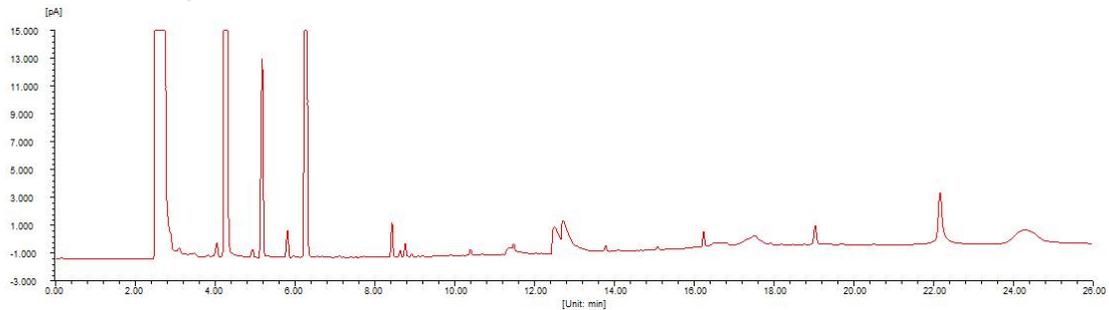


峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.670	0.055	2874.0	10516.6	100.000 0	94.6555

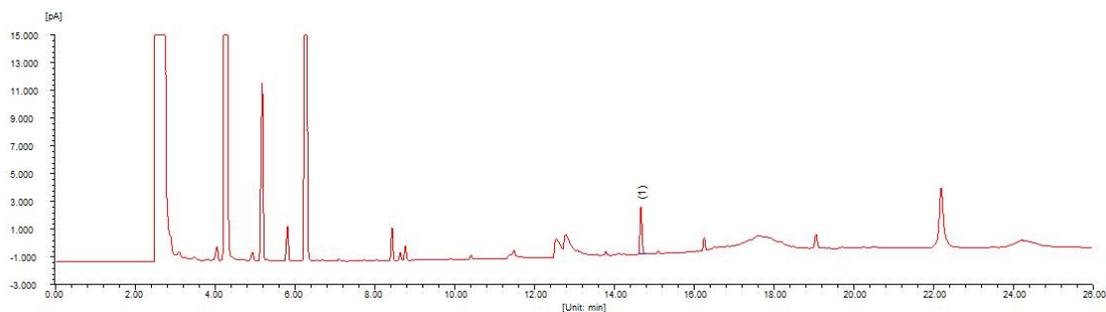
峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.656	0.054	2754.9	10120.5	100.000 0	91.0902

峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.670	0.055	2845.4	10524.0	100.000 0	94.7220

4) 豆干样品谱图及结果



5) 豆干样品加标脱氢乙酸 (100 mg/kg) 谱图及结果

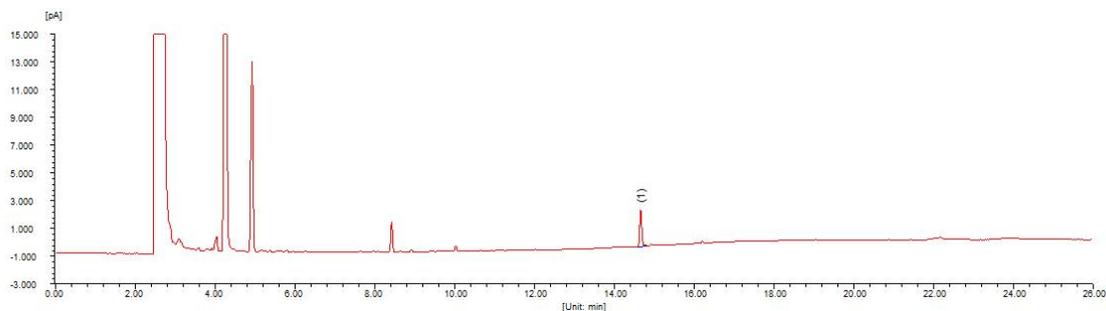


峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.676	0.053	3477.7	11808.1	100.000 0	106.2795

峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.661	0.052	3520.2	11941.8	100.000 0	107.4827

峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.679	0.052	3422.7	11705.5	100.000 0	105.3558

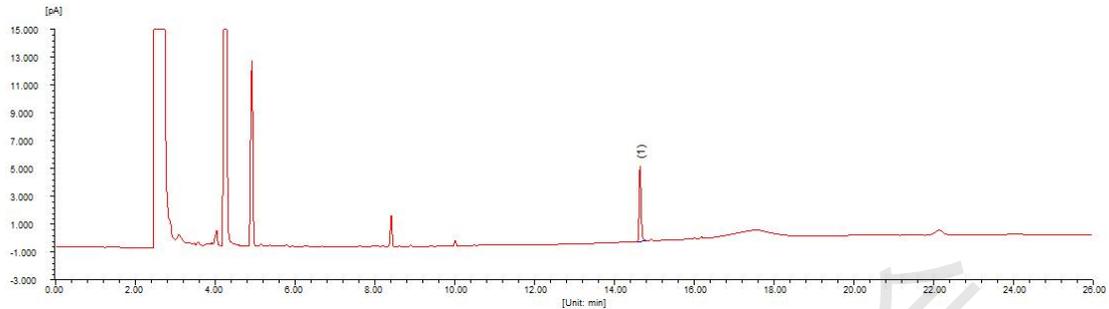
6) 面包样品谱图及结果



峰序	组分名	保留时间	半峰宽	峰高	峰面积	峰面积	含量
----	-----	------	-----	----	-----	-----	----

		[min]	[min]	[fA]	[fA*s]	[%]	[mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.672	0.054	2643.2	9565.6	100.000 0	86.0952

7) 面包样品加标脱氢乙酸 (100 mg/kg) 谱图及结果

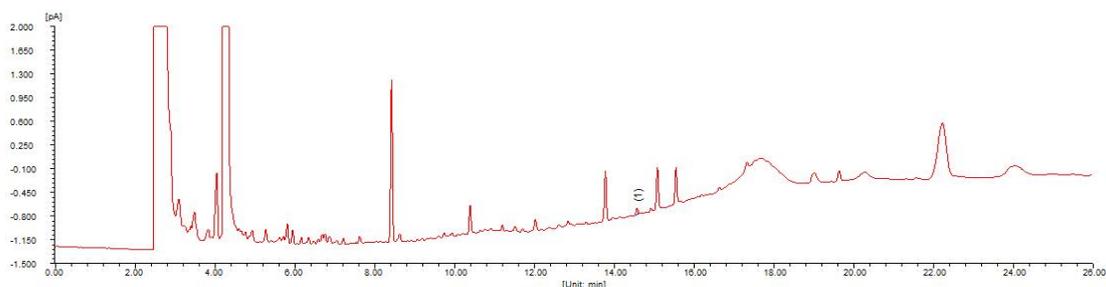


峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.672	0.053	5459.8	19326.1	100.000 0	173.9449

峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.669	0.053	5330.6	18726.9	100.000 0	168.5518

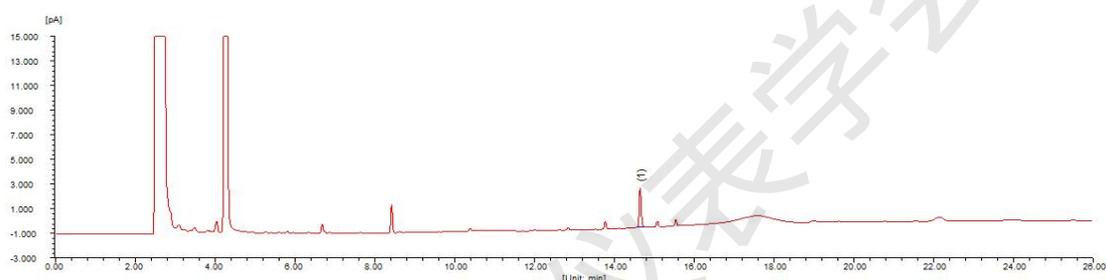
峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.657	0.052	5453.6	19029.9	100.000 0	171.2796

8) 黄油样品谱图及结果



峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.582	0.050	98.0	315.6	100.0000	2.8401

9) 黄油样品加标脱氢乙酸 (100 mg/kg) 谱图及结果



峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.678	0.053	3286.7	11455.6	100.000 0	103.1068

峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.675	0.054	3279.0	11539.3	100.000 0	103.8596

峰序	组分名	保留时间 [min]	半峰宽 [min]	峰高 [fA]	峰面积 [fA*s]	峰面积 [%]	含量 [mg/kg]
1	脱氢乙 酸	14.660	0.054	3219.6	11334.8	100.000 0	102.0194

样品名称	试样中脱氢乙酸含量 (mg/kg)		试样中脱氢乙酸加标量 (mg/kg)		测定值 (mg/kg)	加标回收率 %	相对标准偏差 %	平均回收率 %
	氢乙酸含量	试样空白	氢乙酸加标量	加标量				
果汁	0	0	100	100	94.7	94.7	2.22	93.5
					91.1	91.1		
豆干	0	0	100	100	94.7	94.7	0.94	106
					106	106		
面包	86.1	0	100	100	107	107	2.95	85.2
					105	105		
黄油	2.84	0	100	100	174	87.9	0.90	100
					169	82.9		
					171	84.9		
					103	100		
					104	101		
					102	99.2		

6 方法验证结果

化合物	保留时间	峰面积 RSD(%)	标准曲线相关系数	检出限 [mg/kg]	定量限 [mg/kg]	样品名称	样品中含量 [mg/kg]	加标回收率 [%]
脱氢乙酸	0.048	1.52	0.99926	1.0	3.0	果汁	0	93.5
						豆干	0	106
						面包	86.1	85.2
						黄油	2.84	100

脱氢乙酸作为一种食品防腐剂，被广泛用于黄油、腌制蔬菜、发酵豆制品、面包、糕点、复合调味料、熟肉制品等食品的防腐，使用范围和添加量都有严格的规定，如果违规使用食品防腐剂，会带来严重的食品安全隐患，因此快速、高效、经济地检测食品中的脱氢乙酸对

食品安全风险监测工作有着重要的意义。脱氢乙酸属于非羧酸类，在非极性或弱极性的色谱柱存在严重拖尾的现象·国家标准《GB5009.121-2016 食品安全国家标准 食品中脱氢乙推荐极性毛细管柱，本方法最终选择极性毛细管色谱柱 RB-FFAP，柱长 30m，内径 0.32mm，膜厚 0.50 μ m，得到了良好的峰形。参照国家标准《GB5009.121-2016 食品安全国家标准 食品中脱氢乙酸的测定》（第一法 气相色谱法）的果蔬汁、果蔬浆样品制备，发现样品中的大量色素和果浆会被乙酸乙酯萃取，干扰脱氢乙酸的测定，不能得到满意的加标回收率。本方法通过改变果蔬汁、果蔬浆样品制备方法，优化柱温升温程序，使各类样品都获得了满意的回收率和良好的峰形。本方法脱氢乙酸标准曲线线性、加标回收率、检出限均能符合《GB5009.121-2016 食品安全国家标准 食品中脱氢乙酸的测定》（第一法 液相色谱法）要求，完全能够在食品安全风险监测中快速、高效、经济地检测食品中的脱氢乙酸的含量。

中国仪器仪表表学网