

高效液相色谱法测定蔬菜中的甲醛含量

黄燕, 陈青青

(浙江福立分析仪器股份有限公司, 浙江省温岭市 317500)

摘要: 试料中的甲醛经水提取, 在酸性条件下与衍生剂 2,4-二硝基苯肼反应生成 2,4-二硝基苯腙, 用二氯甲烷萃取、浓缩后, 注入高效液相色谱仪, 355nm 波长处测定, 外标法定量。

关键词: 高效液相色谱法; 蔬菜; 甲醛

1 检测方法

依据国家标准: 蔬菜中甲醛含量的测定 高效液相色谱法 (NY/T 3292-2018)。

2 试剂和材料

2.1 乙腈 (CH₃CN): 液相色谱纯。

2.2 二氯甲烷 (CH₂Cl₂): 液相色谱纯。

2.3 邻苯二甲酸氢钾溶液 (0.01mol/L): 称取 2.04g 邻苯二甲酸氢钾, 用水溶解并定容至 1000mL。

2.4 2,4-二硝基苯肼 (DNPH): 纯度≥99.0%。

2.5 2,4-二硝基苯肼溶液 (0.4g/L): 称取 (3.4) 2,4-二硝基苯肼 0.040g, 加入乙腈溶解, 并定容至 100mL。

2.6 甲醛标准溶液 (100μg/mL): 冷藏避光条件下保存。

2.7 水: 纯净水。

3 仪器和装置

3.1 高效液相色谱仪: 福立 LC5090 高效液相色谱仪, 配备 LC5090 在线脱气机、LC5090 二元高压输液泵、LC5090 自动进样器、LC5090 柱温箱、LC5090 双波长-紫外检测器。

3.2 色谱柱: Sunniest C18 色谱柱, 4.60 mm * 250 mm, 粒径为 5.0 μm。

3.3 一次性注射器。

3.4 针头过滤器: 0.45 μm 有机滤膜。

3.5 微孔滤膜 0.45 μm。

3.6 超声清洗仪。

3.7 水浴锅。

3.8 分液漏斗：250mL。

3.9 浓缩装置：莱伯泰科平行浓缩仪 MultiVap-10。

3.10 一般实验室常用仪器。

4 实验

4.1 样品制备

4.1.1 试样处理：白萝卜样品取可食部分，将其切碎，粉碎机粉碎成匀浆，过玻璃纤维滤膜。

4.1.2 提取：称取约 1 g 试样，精确至 0.01 g，置于 10 mL 容量瓶中，加入 8 mL 水，超声提取 30 min 后取出，冷却，加水至刻度，摇匀，用滤纸过滤，弃去初滤液，取续滤液备用。

4.1.3 衍生：移取 5 mL 滤液（4.1.2），依次加入 10 mL 邻苯二甲酸氢钾溶液（2.3）和 5 mL DNPH 衍生液（2.5），振荡摇匀，50°C±5°C 水浴锅反应 60 min，取出冷却至室温。

4.1.4 萃取净化：将衍生反应液（4.1.3）转移至 250 mL 分液漏斗中，加入 20 mL 二氯甲烷，振荡萃取，静置分层后收集下层有机相，再加入 15 mL 二氯甲烷，重复提取 2 次，合并 3 次有机相，40°C 平行浓缩仪蒸发至约 1 mL，转移至 5 mL 容量瓶中，用少量乙腈洗涤，合并到 5 mL 容量瓶中并定容，混匀后过微孔滤膜（3.5），待测。

4.2 标准曲线的制备

分别移取 5 μ L、10 μ L、25 μ L、50 μ L、100 μ L 甲醛标准储备液（2.6）（相当于 0.5 μ g、1.0 μ g、2.5 μ g、5.0 μ g、10.0 μ g）各加入 5 mL 水，其他步骤同 4.1.3~4.1.4，得到甲醛的浓度分别为 0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L 系列标准溶液。

4.3 仪器条件

a) 色谱柱：Sunniest C18，柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μ m；

b) 流动相：乙腈：水=50：50；

c) 流速：1 mL/min；

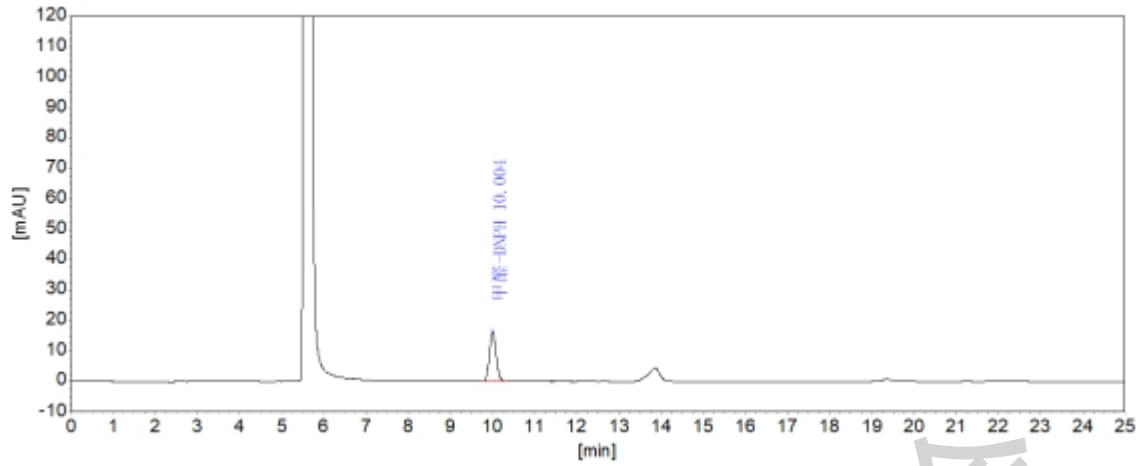
d) 检测器：UV 355nm；

e) 柱温：40 °C；

f) 进样量：10 μ L；

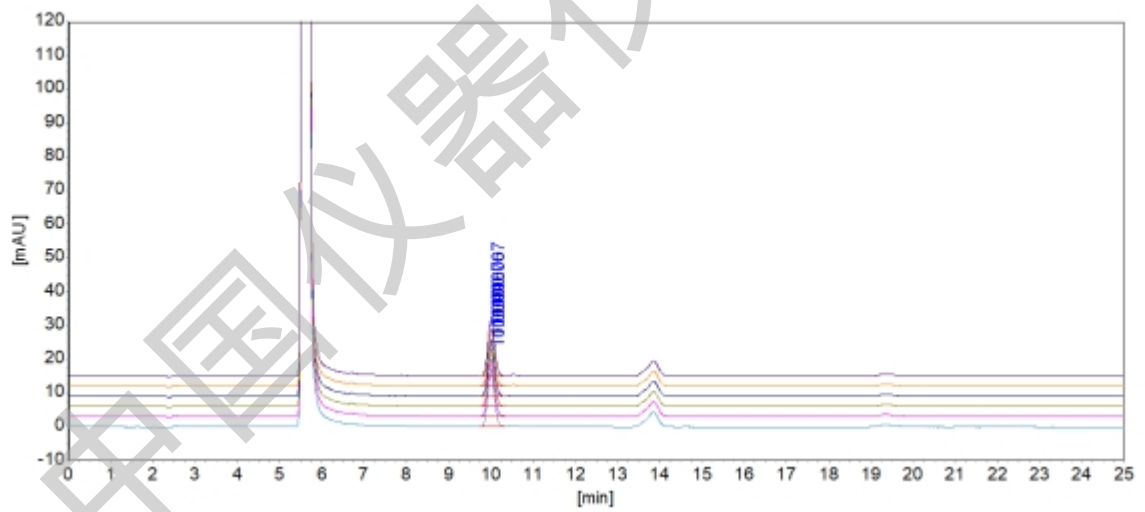
4.4 分析结果

4.4.1 甲醛标准溶液典型谱图及结果（0.5 mg/L）



组分名	保留时间[min]	峰面积 [uAU*s]	峰高[uAU]	理论塔板	拖尾因子
甲醛-DNPH	10.004	181198.8	16236.6	18281	1.087

4.4.2 甲醛标准溶液六针重复性谱图及结果 (0.5 mg/L)



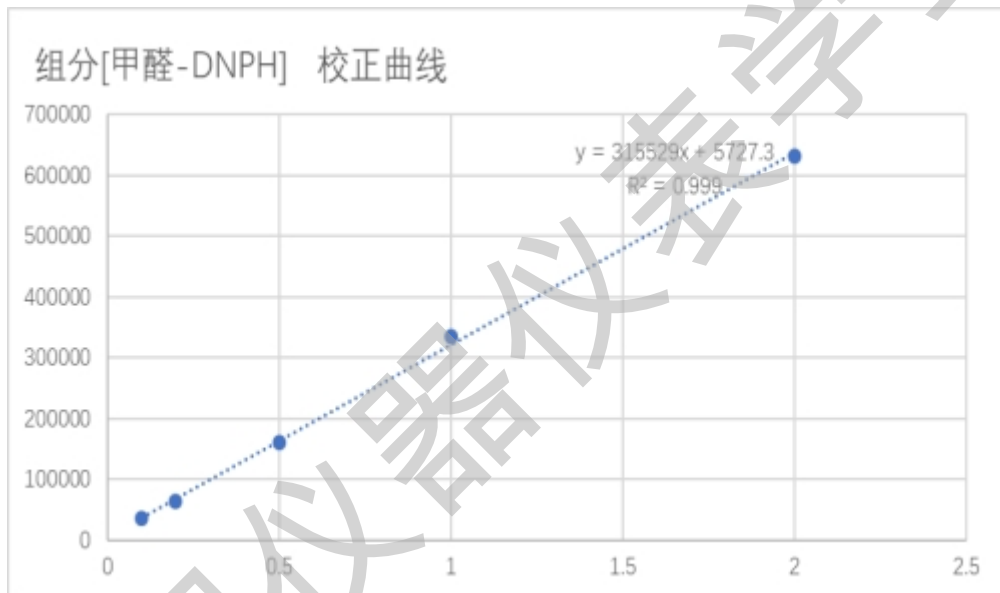
组分名	平均时间 [min]	时间 RSD%	平均面积 [mAU*s]	面积 RSD%	平均峰高 [mAU]	峰高 RSD%
甲醛-DNPH	10.005	0.013	181861.1	0.284	16257.0	0.205

4.3.3 标准曲线

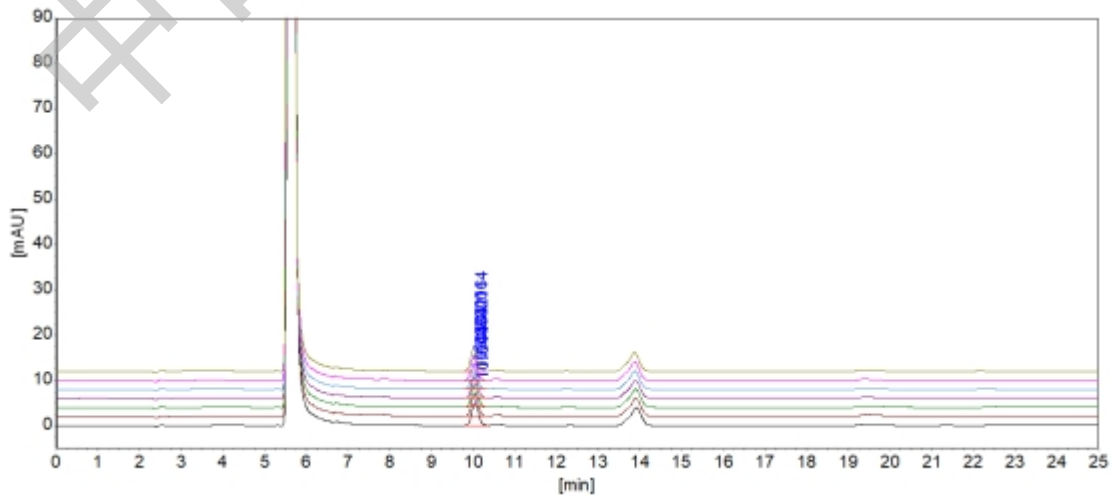
标准曲线的绘制：分别进样浓度为 0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L 的

标准系列各 10 μL ，进行 HPLC 分析。然后以峰面积为纵坐标，以目标物的浓度为横坐标，绘制标准曲线。

浓度 mg/L	空白峰面积/uAU*s	峰面积/uAU*s	扣除空白峰面积/uAU*s
0.1	20008.5	55806.4	35797.9
0.2		84835.6	64827.1
0.5		181198.8	161190.3
1.0		354744.3	334735.8
2.0		651104.1	631095.6



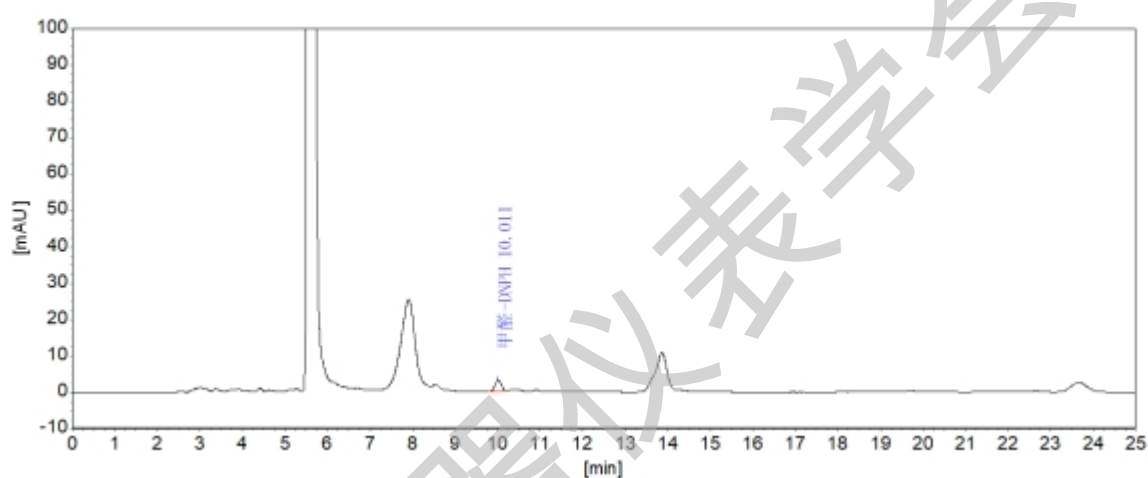
4.4.4 检出限



峰序	平行测定	1/ mg/L	2/ mg/L	3/ mg/L	4/ mg/L	5/ mg/L	6/ mg/L	7/ mg/L	检出限/ mg/kg	定量限/ mg/kg	标准 定 m
1	甲醛 -DNPH	0.0925	0.0922	0.0938	0.0929	0.0936	0.0953	0.0946	0.035	0.14	

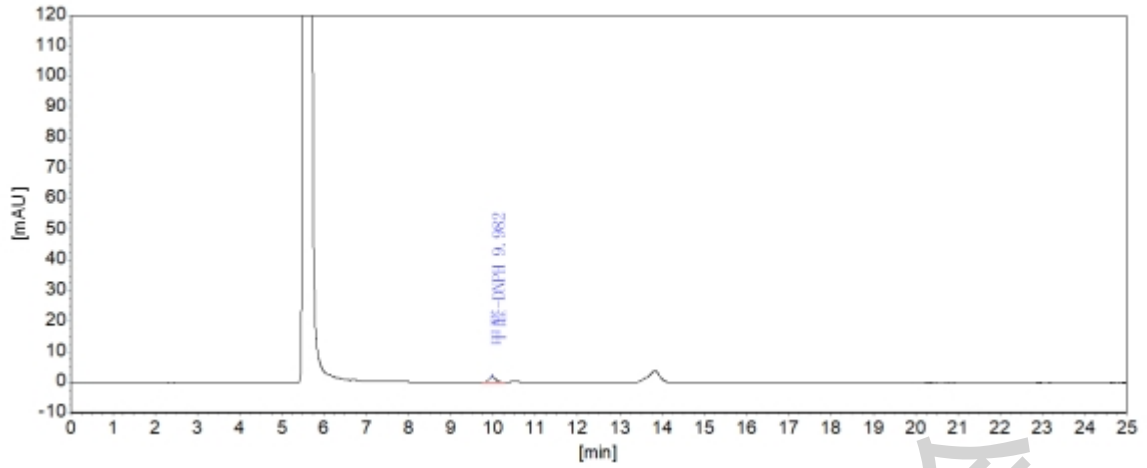
注：定容体积为 10 mL，称样量为 1 g。

4.4.5 样品典型谱图及结果



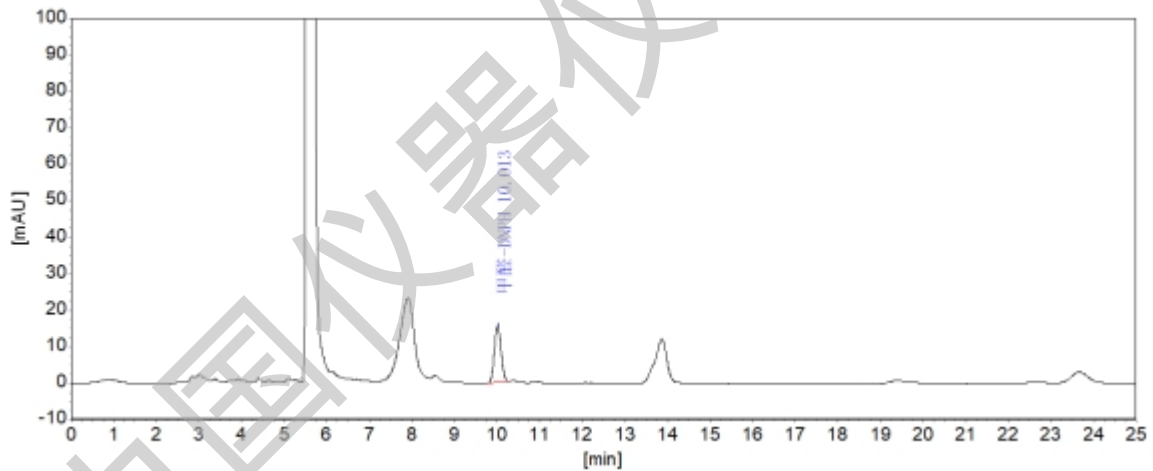
组分名	保留时间[min]	扣除空白峰面积	扣除空白含量	扣除空白含量平 均值[mg/kg]
		[uAU*s]	[mg/kg]	
甲醛-DNPH	10.011	11484.8	0.08665	0.09721
	10.010	12622.2	0.10777	

4.4.6 空白谱图



组分名	保留时间[min]	峰面积[uAU*s]	峰高[uAU]
甲醛-DNPH	9.982	20008.5	1781.3

4.4.7 样品加标典型谱图及回收率



组分名	样品中扣除空白甲醛量 (mg/kg) (平均值)	加标浓度 (mg/L)	测量值 (mg/kg)	加标回收率 (%)	加标回收率范 围 (%)
甲醛 -DNPH	0.09721	0.5	2.7664	106.77	83.81~106.77
			2.2617	86.58	
			2.1925	83.81	

5 实验结果

方法验证结论：甲醛的精密度、线性相关系数、检出限及回收率汇总如下：

方法评价						
组分名	保留时间/min	检出限 mg/kg	定量限 mg/kg	峰面积 RSD%	线性相关系数	加标回收率%
甲醛 -DNPH	10.004	0.035	0.14	0.28	0.999	83.81~106.77

由以上实验结果可知，采用福立 LC5090 测定蔬菜中甲醛的含量，方法稳定可靠，目标物线性范围良好，灵敏度较高，有很好的重现性，能够对样品进行准确定性定量。

中国仪器仪表教学网