

DB 12

天 津 市 地 方 标 准

DB12/T 883—2019

食用菌中甲醛的测定 高效液相色谱法

Determination of formaldehyde in mushroom-High performance liquid
chromatography

2019 - 03 - 25 发布

2019 - 05 - 01 实施

天津市市场监督管理委员会 发布

前 言

本标准依据GB/T1.1-2009给出的规则起草。

本标准由天津市农业科学院提出并归口。

本标准起草单位：天津市农业质量标准与检测技术研究所。

本标准主要起草人：刘征辉、魏静娜、赵琳琳、张强、薛天凯、赵云平、徐石勇、郑贵忠。

食用菌中甲醛的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了采用高效液相色谱法测定食用菌中甲醛的原理、试剂和材料、仪器和设备、操作步骤及结果表示。

本标准适用于食用菌中甲醛的含量测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

3 原理

用衍生液提取样品中的甲醛，反应生成甲醛衍生物。液液萃取净化后，在365 nm波长处，液相色谱法测定，外标法定量。

4 试剂和材料

4.1 试剂

4.1.1 乙腈（ C_2H_3N ）。

4.1.2 硫酸铵（ $(NH_4)_2SO_4$ ）。

4.1.3 冰乙酸（ $C_2H_4O_2$ ）。

4.1.4 乙酸钠（ $C_2H_3NaO_2$ ）。

4.1.5 2, 4-二硝基苯肼：纯度 $\geq 99\%$ （ $C_6H_6N_4O_4$ ）

4.1.6 水（ H_2O ）：GB/T 6682 规定的一级水。

注：除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯。

4.2 试剂配制

4.2.1 缓冲溶液（pH 5）：称取 2.64 g 乙酸钠，以适量水溶解，加入 1.0 mL 冰乙酸，用水定容至 500 mL。

4.2.2 2, 4-二硝基苯肼溶液（0.6 g/L）：称取 2, 4-二硝基苯肼 300 mg，用乙腈溶解定容至 500 mL。

4.2.3 衍生液：量取 100 mL 缓冲溶液和 100 mL 2, 4-二硝基苯肼溶液，混匀。

4.3 标准溶液

甲醛标准溶液：100 $\mu g/mL$ 。安培瓶封装，置于10 $^{\circ}C$ 以上保存，使用前于室温下平衡，摇匀，推荐打开后一次性使用，或者将标准溶液转移至棕色瓶密封。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪：配有二极管阵列检测器或紫外检测器。
- 5.2 天平：感量 0.001 g。
- 5.3 粉碎机。
- 5.4 涡旋混合仪。
- 5.5 离心机：转速 ≥ 4000 r/min。
- 5.6 恒温振荡器。
- 5.7 具塞塑料离心管：聚丙烯，50 mL。
- 5.8 具塞比色管或刻度试管：20 mL。

6 试样制备与保存

从所取全部样品中取出样品约500 g，取可食部分经粉碎机充分粉碎均匀，均分成两份，分别装入洁净容器内作为试样，密封并注明标记。鲜样于-18℃下冷冻保存；干样于0~4℃下冷藏保存。

7 分析步骤

7.1 提取

称取已混匀的鲜样5.0 g（干品1.0 g），精确至0.001 g，置于50 mL塑料离心管中，准确加入10.0 mL衍生液。旋紧塞子，涡旋混匀后置于60℃恒温振荡器中，150 r/min振摇，间隔20 min取出混匀一次，振摇1 h后取出冷却至室温。

7.2 净化

将样品提取液，以不低于4000 r/min离心5 min。如离心后溶液澄清，过0.22 μm 微孔滤膜后，滤液直接供HPLC测定。如离心后溶液浑浊或分层，在提取液中加入8 g硫酸铵，混匀，以不低于4000 r/min离心5 min。移取上清液于20 mL具塞比色管或刻度试管中，下层溶液用5 mL乙腈重复萃取一次，合并上清液，用乙腈定容至10.0 mL，混匀后，过0.22 μm 微孔滤膜，滤液供HPLC测定。

7.3 甲醛衍生物标准溶液的制备

移取0 μL 、20 μL 、50 μL 、100 μL 、200 μL 、500 μL 甲醇标准溶液（4.3），置于10 mL具塞比色管中，补加缓冲溶液（4.2.1）至5.0 mL，再用2,4-二硝基苯肼溶液（4.2.2）定容至10.0 mL，盖上塞后混匀，60℃水浴加热1 h，取出冷却至室温。过0.22 μm 微孔滤膜，滤液供HPLC测定。

7.4 测定条件

液相色谱条件如下：

- 色谱柱： C_{18} ，5 μm ，4.6 $\times$ 250 mm；
- 流速：1.0 mL/min；
- 柱温：30℃；
- 进样量：20 μL ；
- 流动相：甲醇-水（70-30）；
- 检测波长：365 nm。

7.5 色谱测定

标准溶液和样液中甲醛衍生物的响应值应在仪器检测的线性范围内，以峰面积为纵坐标，甲醛衍生物标准溶液对应的甲醛浓度为横坐标，绘制标准曲线。

通过保留时间定性，外标法定量。

色谱图参见附录A。

8 分析结果表述

试样中甲醛的残留量按式（1）计算：

$$X = \frac{C \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots(1) \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中甲醛的残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C ——从标准工作曲线得到的样液对应的甲醛浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V ——样液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——样液所代表的试样质量，单位为克（g）。

测定结果保留到小数点后两位。

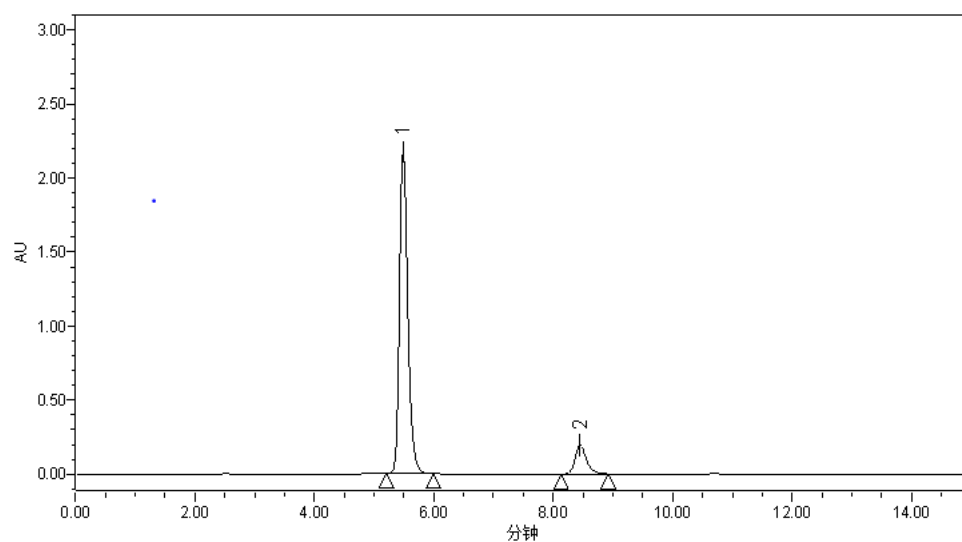
9 测定低限

本标准对食用菌中甲醛的测定低限为0.1mg/kg。

10 测定低限

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10 %。

附 录 A
(资料性附录)
标准品色谱图



注： 1. 2, 4-二硝基苯肼 2. 甲醛-2, 4-二硝基苯肼

图A.1 甲醛衍生物的标准液相色谱图