

绿色食品啤酒标准中甲醛测定方法的探讨

李 红¹, 陈苏娟², 郭瑞涵², 张五九¹

(1. 中国食品发酵工业研究院, 北京 100027; 2. 福建雪津啤酒有限公司, 福建 莆田 351111)

摘 要: 绿标中对啤酒甲醛的测定方法的反应条件和各试剂的添加量合适; 反应形成的紫红色化合物在常温下相当稳定, 1 h 内吸光值基本不会变化; 啤酒的除气方式对测定结果有一定的影响, 测定结果重复较好, 回收率稍差, 蒸馏时发生焦糊, 易引起测定结果偏高。

关键词: 啤酒; 甲醛; 绿色食品啤酒; 甲醛测定方法

中图分类号: TS262.5; TS261.7; O623.5 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2005)11-0081-03

Discussion on the Determination Methods of Formaldehyde in Beer by Green Food Standards

LI Hong¹, CHEN Su-juan², GUO Rui-han² and ZHANG Wu-jiu¹

(1. China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing 100027; 2. Fujian

Sedrin Brewery Co. Ltd., Putian, Fujian 351111, China)

Abstract: The reaction conditions of determination methods of formaldehyde in beer by green food standard and the addition quantity of each agent were applicable. The claret compounds were quite stable under normal temperature and there was almost no change in absorbency within 1 h. The gas removal modes in beer had certain effects on formaldehyde determination. The determination results had good repeatability but the recovery rate was a little bad. The scorch of beer in distillation would easily induce the increase of determination results. (Tran. by YUE Yang)

Key words: beer; formaldehyde; green food; determination methods of formaldehyde

2002~2003 年在我国啤酒行业曾掀起“甲醛”风波。农业部于 2002 年 12 月 30 日发布了新的绿色食品啤酒标准 NY/T 273-2002 (以下简称绿标) 代替原来的标准 NY 273-1995, 并于 2003 年 3 月 1 日起实施。新发布的绿标规定了啤酒中甲醛含量的限量标准, 并且有相应的检测方法。至今, 新绿标已经实施了 2 年多, 在这 2 年多的时间里, 啤酒厂的反应很多, 反应最多的就是绿标中的甲醛测定方法。针对该情况, 笔者对绿标中甲醛测定方法进行了进一步的研究。

绿标中测定甲醛的基本原理是利用甲醛与 4-氨基-3-联氨-5-巯基-1,2,4-三唑 (也叫 4-氨基-3-联氨-5-巯基-1,2,4-三氮杂茂, 英文为 4-amino-3-hydrazine-5-mercapto-1,2,4-triazole, 缩写为 AHMT) 在碱性条件下缩合, 然后经高碘酸钾氧化成 6-巯基-5-三氮杂茂 (4,3-b)-S-四氮杂苯紫红色化合物, 此化合物在 550 nm 下有最大吸收峰, 其色泽深浅与甲醛含量成正比。以下将用此法测定啤酒中甲醛含量的方法简称为 AHMT 法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要材料

啤酒: 市售。

1.1.2 主要试剂

AHMT: Bio, 苏州新区贝克精细化学品有限公司生产; KOH: 分析纯, 天津市大茂化学仪器供应站提供; EDTA-Na₂: 分析纯, 深圳大学化工实验厂生产; 高碘酸钾: 分析纯, 天津市福晨化学试剂厂生产; Na₂S₂O₃: 分析纯, 北京化学试剂厂; H₂SO₄: 分析纯, 北京化学试剂厂。

1.1.3 主要仪器

可见紫外分光光度计: UV-1601, SHIMADZU 公司生产; 旋转振荡摇床: KS260 control, 德国 IKA 生产; 恒温冰水浴: CB20-38Sp, 丹麦 Heto 公司生产。

1.2 分析方法

1.2.1 甲醛浓度的标定^[1]

1.2.2 甲醛标准曲线的绘制^[1]

甲醛标准曲线见图 1。

收稿日期: 2005-07-18

作者简介: 李红, 男, 硕士学位, 从事啤酒研究。

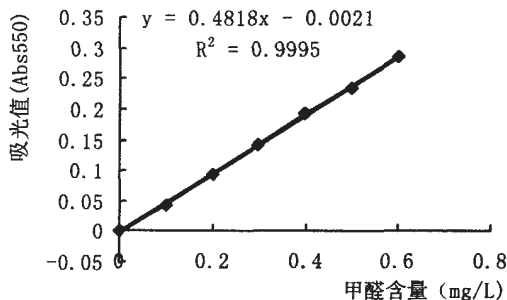


图 1 甲醛标准曲线

1.2.3 啤酒甲醛的测定^[1]

2 结果与分析

绿标中测定啤酒甲醛的方法包括 ,一是反应比色过程 (反应条件) ,二是样品的前处理 (啤酒的蒸馏) 。

2.1 AHMT 法测定甲醛的条件

2.1.1 吸收光谱

将浓度为 0.05 mg/L ,0.1 mg/L 和 0.15 mg/L 的甲醛溶液按测定方法进行测定 ,并将最终的显色液用岛津 UV-1601 于 400~800 nm 范围内自动扫描。从扫描图谱可以看出最终的显色液于 550 nm 下有最大吸收值。

2.1.2 试剂用量

2.1.2.1 碱溶液的用量

于 8 支含有约 0.2 mg/L 甲醛的比色管中 ,分别添加 5 mol/L KOH-EDTA 溶液 0.5 mL ,1 mL ,1.25 mL ,1.5 mL ,2 mL ,2.5 mL ,3 mL 和 3.5 mL ;其余按照标准方法进行测量。将测定的吸光值对 KOH-EDTA 溶液添加量进行作图 (见图 2) 。从图 2 可看出 ,KOH-EDTA 溶液添加量在 2 mL 时 ,吸光值达最大值。KOH-EDTA 溶液添加量若继续加大时 ,吸光值会进一步减小。因此 ,可以断定 ,按绿标测定甲醛时 ,KOH-EDTA 溶液添加 2 mL 是合理的。

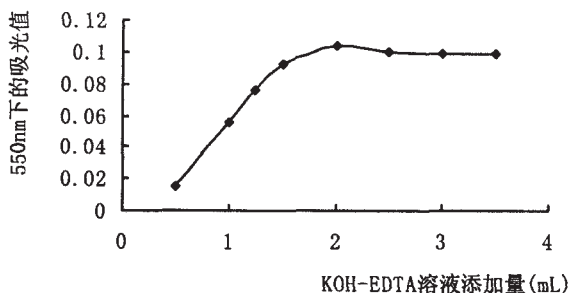


图 2 KOH-EDTA 溶液添加量的选择

2.1.2.2 缩合剂的用量

于 6 支含有 0.2 mg/L 甲醛的比色管中 ,分别添加 5 mol/L KOH-EDTA 溶液 2 mL ,AHMT 的添加量分别为 0.5 mL ,1 mL ,1.5 mL ,2 mL ,2.5 mL 和 3 mL ;其余按照标准方法进行测量。将测定的吸光值对 AHMT 添加量作图 (见图 3) 。从图 3 可看出 ,AHMT 添加量在 1.5 mL 时 ,吸光值达最大值。添加量超过 1.5 mL 时 ,吸光值会

进一步减小 ,这可能是由于稀释的原因。因此 ,可以断定 ,按绿标测定甲醛时 ,AHMT 溶液添加 1.5 mL 是合理的。

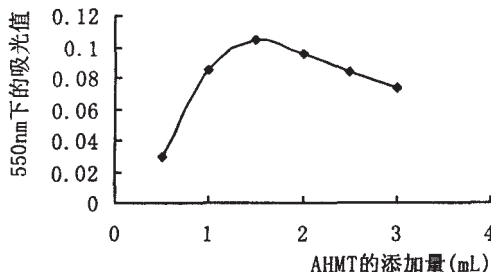


图 3 AHMT 添加量的选择

2.1.2.3 氧化剂的用量

于 6 支含有 0.2 mg/L 甲醛的比色管中 ,添加 2 mL 5 mol/L 的 KOH-EDTA 溶液 ,AHMT 添加量为 1.5 mL ,反应 20 min 以后 ,分别加入氧化剂高碘酸钾 0.25 mL ,0.5 mL ,1 mL ,1.5 mL ,2 mL 和 2.5 mL ;其余按标准方法进行测定 ,将测定的吸光值对氧化剂高碘酸钾添加量进行作图 (见图 4) 。从图 4 可以看出 ,高碘酸钾添加量在 0.5 mL 时 ,吸光值达最大值。添加量超过 0.5 mL 时 ,吸光值会发生明显的减小。因此 ,可以断定 ,绿标中测定甲醛时 ,添加 0.5 mL 高碘酸钾是合理的。

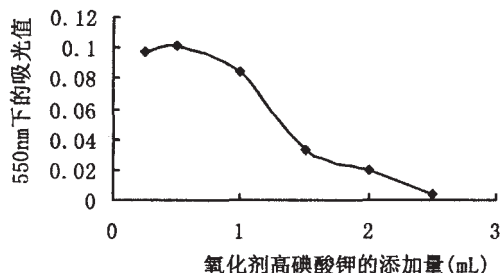


图 4 氧化剂高碘酸钾添加量的选择

2.1.3 氧化时间与呈色的稳定性

于 12 支含有 0.1 mg/L ,0.2 mg/L 甲醛的比色管中 (各 6 支) ,按绿标进行测定 ,分别于加入氧化剂高碘酸钾后 5 min ,10 min ,15 min ,30 min ,45 min 和 60 min 时测定吸光值 (结果见表 1) 。由于时间的关系 ,反应后只选最长时间 60 min。从表 1 可以看出 ,反应形成的紫红色的化合物在室温下是相当稳定的 ,至少在 1 h 之内吸光值不会有太大的变化。

表 1 氧化时间对吸光值的影响

氧化时间 (min)	甲醛含量 (mg/L)	
	0.1	0.2
5	0.094	0.153
10	0.093	0.152
15	0.094	0.151
30	0.092	0.154
45	0.093	0.155
60	0.091	0.153

2.1.4 除气方式对测定结果的影响

在国标 GB/T 4928-2001 (啤酒分析方法)中对啤酒的除气有严格的规定,这主要是因为除气方式会对测定的结果产生较明显的差异。2002 年颁布的绿色食品啤酒标准 NY/T 273-2002 对啤酒的除气方式没有明确规定,给啤酒厂的质检部门的实际操作带来不少麻烦,为此,特对除气方式对甲醛测定结果的影响做了进一步的实验。实验结果(见表 2)表明,除气方式会对测定结果产生明显影响。

表 2 除气方式对测定结果的影响

除气方式	350 r/min, 10 min	过滤	加消泡剂
测定结果	0.18	0.20	0.21

2.1.5 异常情况对测定结果的影响

为了消除啤酒色度对比色的影响,在测定啤酒中甲醛含量时要对啤酒进行蒸馏,取馏出液进行测量。具体的蒸馏方式是 50 mL 啤酒加上 10 mL 水和 1 mL 的乙酸锌及 0.5 mL 的 10 % 的硫酸,于全玻璃仪器中蒸馏出 45 mL。馏出液越多,啤酒中的甲醛回收越完全,但是随着馏出液的增多,玻璃烧瓶中残留的啤酒越来越少,这时极易出现玻璃烧瓶中残留的啤酒焦糊现象。在此种情况下,测定结果值是很高的(见表 3)。这主要是由于啤酒中的甘氨酸发生了史垂克(Strecker)降解。

表 3 焦糊化对测定结果的影响

项 目	没有焦糊	焦糊
甲醛含量(mg/L)	0.18	0.657

2.2 该方法的重复性

2.2.1 蒸馏的重复性

同一酒样分别蒸馏 6 次,然后测定,结果见表 4。

表 4 蒸馏重复性

蒸馏次数	测定平均值 $\bar{X}$	标准偏差 SD	相对标准偏差 RSD (%)
6	0.159	0.0217	13.7

2.2.2 检测的重复性

取同一蒸馏液做 6 次平行试验,结果见表 5。

表 5 检测重复性

检测次数	测定平均值 $\bar{X}$	标准偏差 SD	相对标准偏差 RSD (%)
6	0.179	0.00674	3.8

2.3 该方法的准确性

对啤酒样品进行回收率实验,结果见表 6。由于需要对啤酒进行除气和蒸馏,所以回收率稍差一些。

2.4 绿标中 AHMT 法中的其他错误之处

绿标中测定甲醛有一个错误,就是甲醛标定中硫代硫酸钠溶液的浓度应为 0.1 mol/L,计算式中的换算系数

2 是多余的。

表 6 啤酒样品加标回收率实验

酒样 (mg/L)	加标量 (mg/L)	加标后 (mg/L)	回收率 (%)
0.151	0.1	0.244	83
0.151	0.2	0.332	90.5

另外,绿标中对 10 % 的硫酸没有给出配制方法。因此,有人将其理解为(1+9)的硫酸,有人将其理解为重量百分比。依笔者之见在没有说明的情况下应理解为重量百分比,其配制方法为 5.9 mL 浓硫酸 + 95.7 mL 水即为 10 % (w/w) 的硫酸溶液。在笔者的试验中全为 10 % (w/w) 的硫酸溶液。

2.5 AHMT 法的灵敏度

该方法的灵敏度为标准曲线的直线回归后的斜率 0.4818 吸光度 (L/mg)。

2.6 AHMT 法的检出限

该方法的检出限 $D=3R_N/S$, R_N 为噪音, S 为灵敏度。 R_N 通过试剂空白求得为 0.00203,则求得该方法的检出限为 0.012 mg/L。

2.7 市售啤酒甲醛含量的测定

取从市场购买的啤酒进行检测,结果见表 7。从表 7 可以看出,百威啤酒的甲醛含量是相当低的。国产啤酒(表中英文代号)的甲醛含量有高有低。

表 7 啤酒样品的甲醛含量

酒样	原浓(°P)	甲醛含量(mg/L)
喜力	11.5	0.210
嘉士伯	11.1	0.146
百威	11	0.051
A	12	0.38
B	10	0.17
C	8	0.12

3 结论

3.1 测定甲醛的反应条件是合适的,各试剂的添加量都使吸光值处于最大值范围;

3.2 反应形成的紫红色化合物在常温下相当稳定,在 1 h 内吸光值基本不会变化;

3.3 啤酒的除气方式对测定结果有一定的影响;

3.4 该方法测定啤酒甲醛时,重复性较好,但是回收率稍差;

3.5 蒸馏时发生焦糊,测定结果会明显偏高。

参考文献:

- [1] NY/T 273-2002,绿色食品啤酒标准[S].
- [2] GB/T 16129-1995,居住区大气中甲醛卫生检验标准方法:分光光度法[S].
- [3] 施小平,陈干.AHMT 法测定水中微量甲醛[J].江苏预防医学,1997,(12):98-100.