ICS 67.160
X 66
备案号：20182—2007

SB

中华人民共和国国内贸易行业标准

SB/T 10417—2007

酱油中乙酰丙酸的测定方法

Method for determination of β-acetylpropionic acid in soy sauce

2007-01-25 发布　　2007-07-01 实施

中华人民共和国商务部　发布

食品伙伴网http://www.foodmate.net

目　次

前言 …… Ⅲ
1　范围 …… 1
2　内标法 …… 1
2.1　原理 …… 1
2.2　试剂和溶液 …… 1
2.3　仪器和设备 …… 1
2.4　分析步骤 …… 1
3　外标法 …… 3
3.1　原理 …… 3
3.2　试剂 …… 3
3.3　仪器和设备 …… 3
3.4　分析步骤 …… 3

食品伙伴网http://www.foodmate.net

前　言

本标准是为了配合国家、行业出台的一系列酱油新标准，即：GB 18186—2000《酿造酱油》、SB 10336—2000《配制酱油》、SB 10338—2000《酸水解植物蛋白调味液》的实施而制定的。

本标准由中国调味品协会提出。

本标准由中华人民共和国商务部归口。

本标准起草单位：北京市食品酿造研究所、广东佛山海天调味食品有限公司。

本标准主要起草人：吴鸣、钟佛生、黄文彪、车有荣、邓嫣容、石欲容、潘淑芬、杨桂菊。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

酱油中乙酰丙酸的测定方法

1 范围

本标准规定了用气相色谱法测定酱油中乙酰丙酸的方法。

本标准适用于酱油中乙酰丙酸的测定。

本标准方法的检出限：0.010 g/kg。

2 内标法

2.1 原理

样品经酸化后，用乙醚提取乙酰丙酸，以正庚酸作内标物质，用具有氢火焰离子化检测器的气相色谱仪进行测定，以内标法进行定量。

2.2 试剂和溶液

除非另有规定，仅使用分析纯试剂和蒸馏水或去离子水。

2.2.1 无水硫酸钠：650℃下灼烧 4 h，贮于密闭容器中备用。

2.2.2 无水乙醚。

2.2.3 浓盐酸。

2.2.4 饱和氯化钠。

2.2.5 标准品正庚酸：色谱纯，纯度≥99.5%。

2.2.6 标准品乙酰丙酸：色谱纯，纯度>98%。

2.2.7 正庚酸标准溶液：称取 0.50 g 正庚酸标准品（精确至 0.000 1 g）(2.2.5)，用乙酸乙酯定容至 100 mL。此标准溶液的浓度为 0.005 0 g/mL。

2.2.8 乙酰丙酸标准溶液：称取 0.50 g 乙酰丙酸标准品（精确至 0.000 1 g）(2.2.6)，用乙酸乙酯定容至 100 mL。此标准溶液的浓度为 0.005 0 g/mL。

2.2.9 标准系列溶液：分别准确吸取乙酰丙酸标准溶液(2.2.8)0.05 mL、0.1 mL、0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL 于 6 个 10 mL 容量瓶中，各加入 1.0 mL 正庚酸标准溶液(2.2.7)，用乙酸乙酯定容，即得标准系列溶液，相当于每毫升含 25 μg，50 μg，250 μg，500 μg，750 μg，1 000 μg 的乙酰丙酸。

2.3 仪器和设备

实验室常规仪器、设备及下列各项：

2.3.1 100 mL 具塞试管。

2.3.2 气相色谱仪：配有氢火焰离子化检测器(FID)。

2.3.3 色谱柱：石英弹性毛细管柱，柱长 30 m，内径 0.25 mm，涂膜厚度 0.5 μm；固定液：Carbwax 20M。或与此相当的色谱柱。

2.3.4 250 mL 圆底烧瓶。

2.3.5 浓缩设备（水浴、旋转蒸发仪或氮吹仪）。

2.4 分析步骤

2.4.1 样品提取

准确称取 5.0 g 试样（精确至 0.000 1 g）于 100 mL 具塞试管(2.3.1)中，加入 10 mL 饱和氯化钠溶液、1.0 mL 正庚酸标准溶液(2.2.7)、浓盐酸 3.0 mL(2.2.3)，充分震摇 1 min 后，加入 50.0 mL 无水乙醚，震摇萃取 3 min～5 min，静置约 10 min～15 min。待分层后，吸取上层乙醚萃取液于 250 mL 圆底烧瓶(2.3.4)中，再重复萃取两次，合并乙醚萃取液，用 10 mL 饱和氯化钠溶液洗涤两次，弃去下层。乙醚层过过量无水硫酸钠脱水，在 45℃左右浓缩至近干，残液用乙酸乙酯定容至 10 mL，即可上机。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

2.4.2 测定

2.4.2.1 气相色谱参考条件

a) 色谱柱温度：120℃，1 min $\xrightarrow{8℃/min}$ 230℃，4 min；

b) 进样口温度：270℃；

c) 检测器温度：270℃；

d) 进样方式：分流进样，分流比 25∶1；

e) 进样体积：1 μL；

f) 氢气流速：30 mL/min；

g) 空气流速：300 mL/min；

h) 尾吹气：30 mL/min；

i) 载气：高纯氮，纯度大于 99.999%，流速：1.0 mL/min。

2.4.2.2 定量

用进样器分别吸取 1 μL 的标准系列溶液(2.2.9)，注入气相色谱仪，在上述色谱条件(2.4.2.1)下测定乙酰丙酸与内标物质的响应峰面积。以乙酰丙酸峰面积/内标物质峰面积为纵坐标，以乙酰丙酸浓度为横坐标，绘制标准曲线或计算回归方程。

用进样器吸取 1 μL 的试样(2.4.1)，注入气相色谱仪，在上述色谱条件(2.4.2.1)下测定试样。根据标样保留时间，确定乙酰丙酸和内标物质的峰位置，并记录乙酰丙酸峰面积和内标物质峰面积，计算样品中乙酰丙酸含量。

在上述色谱条件(2.4.2.1)下，通常保留时间为：乙酰丙酸约为 14.6 min，内标物质约为 9.7 min。

标准系列溶液的气相色谱图如图 1：

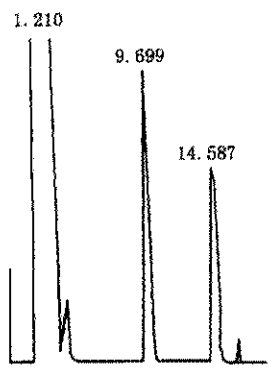


图 1 标准系列溶液的气相色谱图

2.4.3 空白试验

用 5.0 mL 蒸馏水代替试样，按 5.1～5.2 的步骤做空白试验。

2.4.4 结果计算

样品中乙酰丙酸的含量 X，按式(1)计算：

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \qquad \cdots\cdots(1)$$

式中：

X ——样品中乙酰丙酸含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；

c ——测定用样品中乙酰丙酸含量，单位为微克每毫升(μg/mL)；

V ——样品的定容体积，单位为毫升(mL)；

m ——样品质量，单位为克(g)。

结果表述：计算结果保留两位有效数字。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

2.4.5 **精密度**

同一样品，两次平行测定结果之差，不得超过平均值的10%。

3 外标法

3.1 原理

样品经酸化后，用乙醚提取乙酰丙酸，用配有氢火焰离子化检测器的气相色谱仪进行分离测定，以外标法（标准曲线法）跟系列标准进行比较定量。

3.2 试剂

如非特别说明，本标准方法所用的水为蒸馏水，所用试剂均为分析纯。

3.2.1 无水乙醚：不含过氧化物。

3.2.2 无水硫酸钠：650℃以下灼烧4 h，贮于密闭容器中备用。

3.2.3 乙酸乙酯：经重蒸馏处理。

3.2.4 6 mol/L盐酸溶液：量取50 mL浓盐酸，用水稀释至100 mL。

3.2.5 乙酰丙酸标准品：色谱纯，纯度≥99.5%。

3.2.6 乙酰丙酸标准贮备液：准确称取乙酰丙酸标准品（3.2.5）0.50 g（精确至0.000 1 g），置于100 mL容量瓶中，室温下用乙酸乙酯（3.2.3）溶解稀释并定容至刻度。此标准溶液浓度相当于5.0 mg/mL乙酰丙酸。

3.2.7 乙酰丙酸标准系列溶液：吸取适量的乙酰丙酸标准贮备液（3.2.6），以乙酸乙酯（3.2.3）稀释成每毫升相当于25 μg，50 μg，100 μg，500 μg，750 μg，1 000 μg的乙酰丙酸。

3.3 仪器和设备

实验室常规仪器、设备及以下各项：

3.3.1 气相色谱仪：配备氢火焰离子化检测器。

3.3.2 色谱柱：J&W DB-FFAP色谱柱（柱长30 m，内径0.25 mm，内膜厚度0.25 μm，固定液：TPA改性聚乙二醇）或与之相当的色谱柱。

3.3.3 浓缩设备（旋转蒸发器、恒温水浴、真空泵）。

3.3.4 25 mL具塞试管。

3.3.5 100 mL梨形浓缩瓶。

3.4 分析步骤

3.4.1 **样品提取**

室温下准确吸取充分均匀的酱油样品5.0 g（精确至0.000 1 g）于25 mL具塞试管中，加入6 mol/L盐酸溶液（3.2.4）1 mL，充分震摇均匀，往试管中加入25 mL无水乙醚（3.2.1），充分震摇萃取1 min，静置约10 min～15 min，待上层乙醚与下层样品充分分层后，吸取上层乙醚提取液于100 mL浓缩瓶中，之后重复进行上述的萃取操作两次，每次加入无水乙醚的量均为20 mL，三次的乙醚萃取液合并后经无水硫酸钠（3.2.2）进行吸水处理，于40℃下减压旋转蒸发浓缩至干，以乙酸乙酯（3.2.3）溶解残留物并于室温下定容至5 mL，摇匀后静置，待气相色谱进样检测。

3.4.2 **色谱参考条件**

色谱温度：60℃，1 min $\xrightarrow{18℃/min}$ 200℃，1 min $\xrightarrow{10℃/min}$ 230℃，12 min；

进样口温度：260℃；

检测器温度：280℃；

进样方式：不分流进样；

进样体积：1 μL；

氢气流速：35 mL/min；

食品伙伴网http://www.foodmate.net

空气流速：200 mL/min；

载气：氮气，纯度大于 99.999%，流速：2.2 mL/min；

尾吹气：氮气，纯度大于 99.999%，流速：27.8 mL/min。

3.4.3 测定

以乙酰丙酸标准系列溶液(3.2.7)分别进样 1 μL 于气相色谱仪中，测得不同的标准浓度下乙酰丙酸的响应峰面积，以乙酰丙酸的浓度为横坐标，相应的峰面积为纵坐标，作一标准曲线并计算其回归方程。

在相同的色谱条件下以上述处理后的样品溶液(3.4.1)进样 1 μL。测得的峰面积与标准曲线比较定量。

在上述色谱条件(3.4.2)下，标准系列溶液的气相色谱图如图 2：

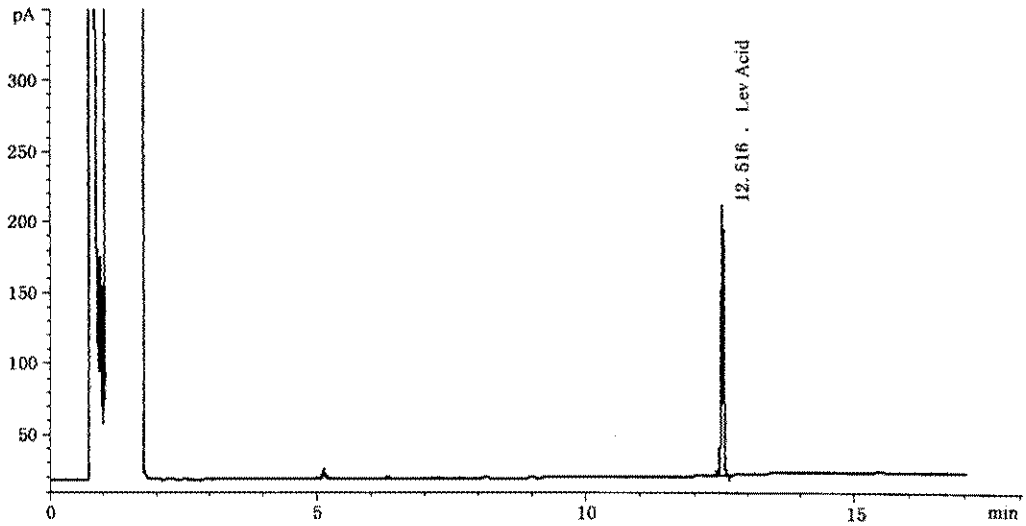


图 2 标准系列溶液的气相色谱图

3.4.4 结果计算

样品中乙酰丙酸的含量按式(2)进行计算。

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \qquad \cdots\cdots(2)$$

式中：

X ——样品中乙酰丙酸含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；

c ——测定用样品中乙酰丙酸含量，单位为微克每毫升(μg/mL)；

V ——样品的定容体积，单位为毫升(mL)；

m ——样品质量，单位为克(g)。

结果表述：计算结果保留两位有效数字。

3.4.5 精密度

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% 。

食品伙伴网http://www.foodmate.net