

乙酰丙酮分光光度法检测菌菇类及水产品中 甲醛含量的研究

华红慧, 岳振峰*, 郑卫平, 林燕奎, 韩瑞阳, 王耀宇
(深圳出入境检验检疫局食品检验检疫技术中心, 广东 深圳 518067)

摘 要: 采用乙酰丙酮分光光度法检测菌菇类及水产品中甲醛的含量。本方法采用试样低温浸泡预处理, 加磷酸溶液蒸馏提取, 且控制冷凝水温 $\leq 10^{\circ}\text{C}$, 然后用分光光度法测定试样中甲醛含量。通过对检测条件的优化, 甲醛的测定低限为 0.1mg/kg 。甲醛的加标回收率可达 $90\%\sim 111\%$, 相对标准偏差为 $5.6\%\sim 8.5\%$ 。

关键词: 甲醛; 分光光度法; 菌菇类; 水产品

Study on Determination of Formaldehyde in Mushroom and Aquatic Products
by Acetyl-acetone Spectrophotometric Method

HUA Hong-hui, YUE Zhen-feng*, ZHENG Wei-ping, LIN Yan-kui, HAN Rui-yang, WANG Yao-yu
(Technical Center for Food Inspection and Quarantine, Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau,
Shenzhen 518067, China)

Abstract: Acetyl-acetone spectrophotometric method is adopted to analyze the content of formaldehyde in mushroom and aquatic products. The sample is soaked in water at low temperature before adding phosphoric acid and distilling, and the temperature of cooling water is controlled below 10°C and at last the content of formaldehyde in sample is analyzed by spectrophotometer. Through the optimization of the analysis conditions, the limit of quantitation is 0.1mg/kg , the recovery is between 90% and 111% , and the relative standard deviation is between $5.6\%\sim 8.5\%$.

Key words: formaldehyde; spectrophotometric method; mushroom; aquatic product

中图分类号: 0657.32

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0273-04

甲醛是细胞毒物, 即使是少量进入人体, 也可沉淀蛋白质, 使组织细胞发生不可逆的凝固、坏死, 对中枢神经系统也有毒性作用, 人口服致死量为 10g , 长期食用含有甲醛的食品亦可引起肝、肾损害, 甚至引发癌症。我国食品卫生法明确规定甲醛或含甲醛化合物禁止作为食品添加剂使用。但由于甲醛具有防腐、保鲜、增加机体组织脆性和弹性的作用, 常有不法商人将甲醛用于水产品的保鲜; 另外, 由于甲醛具有杀菌、防腐、防虫、保鲜等作用, 一些不法种植或养殖业者也在种植或养殖过程中使用甲醛, 使食品中的甲醛含量明显高于其天然本底含量, 严重威胁到消费者的饮食安全和身体健康。一些地方甚至出现“谈甲醛色变”等对食品安全严重不信任的现象, 对食品中甲醛含量的检测已是刻不容缓, 但目前我国尚没有菌菇类和水产品中甲醛含量的标准检测方法。

文献报道的甲醛定量检测方法主要有分光光度法^[1-6]、

色谱法^[7-8]和极谱法^[9], 其中最常用的为乙酰丙酮分光光度法。但直接采用乙酰丙酮分光光度法测定水产品 and 菌菇类产品中的甲醛含量存在回收率低、精密度差等问题。本文通过对测定过程中各种影响因素的深入研究, 优化出最佳的检测条件, 改进后的乙酰丙酮法准确可靠、灵敏度高、重现性好。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器设备

组织捣碎机; 2100 型高温蒸馏装置; 调温电热套及 500ml 全玻璃蒸馏装置; CARY-4E 分光光度计; 冷冻恒温水浴器。

1.1.2 试剂

所用试剂均为分析纯, 水为超纯水。

收稿日期: 2006-04-30

*通讯作者

作者简介: 华红慧(1964-), 女, 工程师, 本科, 研究方向为进出口食品监督检测。

10% (V/V) 磷酸溶液; 1% 淀粉溶液; 碘溶液: $[C(1/2I_2)=0.1\text{mol/L}]$; 硫代硫酸钠标准溶液 $[C(Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O)=0.1\text{mol/L}]$; 醋酸铵; 冰醋酸; 硫酸溶液(1+35); 甲醛溶液(36%~38%); 乙酰丙酮溶液: 100ml 蒸馏水中加入醋酸铵 25g, 冰醋酸 3ml 和乙酰丙酮 0.4ml, 摇匀, 储备于棕色瓶中, 此液可保存 1w。

1.2 样品处理

样品先置于 0~4℃ 冰箱, 冷藏 4h 后检测。

水蒸汽蒸馏法。视甲醛含量的高低称取适量搅碎样品(水产品 10.0g、干香菇 1.0g、鲜菇类 10.0g), 置于蒸馏瓶中, 加入蒸馏水 10ml, 然后加 10% 磷酸溶液 10ml, 立即通水蒸汽蒸馏, 冷凝管下口应先插入盛有 10ml 蒸馏水且置于冰浴的容器中, 且控制冷凝水的水温 $\leq 10^\circ\text{C}$, 准确收集蒸馏液至 100ml。同时做空白蒸馏。

1.3 仪器测定与结果计算

1.3.1 标准溶液的配制与标定

吸取 36%~38% 甲醛溶液 10.0ml, 加入 0.5ml 硫酸溶液(1+35), 用水稀释至 500ml。再吸取 5.0ml 稀溶液于 250ml 碘量瓶中, 加 40ml 0.1mol/L 的碘溶液和 15ml 1mol/L 氢氧化钠溶液, 摇匀, 放置 10min。再加入 20ml 硫酸溶液(1+35)酸化, 再放置 10~15min, 加入 100ml 水, 摇匀, 用 0.1000mol/L 的硫代硫酸钠标准溶液滴定至淡黄色, 然后加约 1ml 10g/L 淀粉指示剂, 继续滴定至蓝色褪去即为终点。同时做试剂空白实验。

甲醛标准溶液的浓度按式(1)计算:

$$X = (V_1 - V_2) \times C_1 \times \frac{15}{5} \quad (1)$$

式中, X 为甲醛标准溶液的浓度, mg/ml; V_1 为空白试验所消耗的硫代硫酸钠标准溶液的体积, ml; V_2 为滴定甲醛溶液所消耗的硫代硫酸钠标准溶液的体积, ml; C_1 为硫代硫酸钠标准溶液的浓度, mol/L; 15 为与 1.0ml 碘标准溶液(1.000mol/L)相当的甲醛的质量, mg。

用上述已标定甲醛浓度的溶液, 用水配制含甲醛 $5\mu\text{g/ml}$ 的甲醛标准使用液。

1.3.2 仪器测定

1.3.2.1 标准曲线的绘制

分别吸取 $5\mu\text{g/ml}$ 的甲醛标准使用液 0、0.02、0.04、

0.10、0.20、0.40、0.60、1.00、2.00ml, 相当于浓度 0、0.1、0.20、0.50、1.00、2.00、3.00、5.00、10.0 μg , 补充蒸馏水至 10.0ml, 加乙酰丙酮溶液 1.0ml, 混匀。置于沸水浴中 10.0min, 取出冷却, 以空白为参比, 于波长 415nm 处, 以 1cm 比色杯进行比色, 记录吸光度, 通过计算机绘制标准曲线。

1.3.2.2 样品测定

根据样品蒸馏液中甲醛含量的高低, 吸取样品蒸馏液 1~10.00ml, 加入乙酰丙酮 1ml 混匀, 置沸水浴中 10min, 取出冷却。以空白为参比, 于波长 415nm 处, 以 1cm 比色杯进行比色, 记录吸光度, 根据标准曲线计算结果。

1.3.3 结果计算

计算公式:

$$X = \frac{C \times V_2}{m \times V_1} \quad (2)$$

式中, X 为样品中甲醛的含量, mg/kg; C 为从标准曲线上查出的甲醛含量, g; V_1 为样品测定取蒸馏液的体积, ml; m 为样品质量, g; V_2 为蒸馏液总体积, ml。

2 结果与分析

2.1 低温浸泡时间对甲醛回收率的影响

选取不同种类的含有甲醛的实际样品, 在 0~4℃ 浸泡不同的时间后测定其甲醛含量, 并以最高检测值作为 100%, 计算相对回收率。由表 1 可见, 随着浸泡时间的延长, 试样中甲醛的相对回收率增加, 浸泡时间为 3~4h 时甲醛的相对回收率达到最高, 随着浸泡时间的进一步延长甲醛的相对回收率有小幅下降。另外, 低温浸泡时间对于干菇类中甲醛回收率的影响远高于鲜菇类和水产品, 脱水蘑菇片由于其甲醛含量较低(3.46mg/kg), 低温浸泡时间对其甲醛回收率的影响不及甲醛含量高的香菇和冬菇显著。可见低温浸泡时间对甲醛测定的回收率影响显著, 浸泡时间以 3~4h 为佳。

2.2 冷却水温度对甲醛回收率的影响

表 1 低温浸泡时间对甲醛相对回收率的影响
Table 1 Effects of soaking time at low temperature on relative recovery of formaldehyde

浸泡时间(h)	干香菇1(%)	干香菇2(%)	干香菇3(%)	冬菇(%)	鲜香菇(%)	脱水蘑菇片(%)	鲑鱼(%)	福其鱼(%)
0	13.7	20.1	12.4	12.3	54.9	77.2	71.6	69.4
1.0	63.7	70.8	78.5	80.3	63.6	83.5	77.1	84.8
2.0	74.7	90.1	90.2	90.3	66.7	94.2	73.4	89.1
3.0	100	92.2	100	100	85.5	100	93.2	91.4
4.0	98.6	100	94.5	91.4	100	90.2	100	100
5.0	98.8	99.5	94.4	89.2	86.9	91.3	81.4	82.1
6.0	98.7	97.2	95.3	86.3	84.1	83.2	92.7	86.5

表3 样品中蛋白质和碳水化合物对甲醛检测的影响

Table 3 Effects of protein and carbohydrate in samples on determination of formaldehyde

干扰物种类	添加1倍量	添加1倍量	添加2倍量	添加2倍量	添加3倍量	添加3倍量
蛋白质	0.42	0.39	0.37	0.45	0.45	0.47
碳水化合物	0.61	0.60	0.62	0.70	0.62	0.70

表2 冷却水温度对甲醛回收率(%)的影响

Table 2 Effects of temperature of cooling water on recovery (%) of formaldehyde

冷却水温(℃)	加标水平(mg/kg)			
	2.0	4.0	10	20
0~10	95~100	95~100	95~100	90~100
10~20	65~85	60~78	63~85	58~80
20~27	35~55	43~59	35~60	43~69

由表2可见,冷却水温度对甲醛的加标回收率有着显著影响。冷却水温控制在较低温度(0~10℃),甲醛的加标回收率明显提高,同时采用低温冷却水较常温冷却水的蒸馏提取速度可提高50%~60%,经多次反复实验,冷却水水温控制在0~10℃,其加标回收率可达90%以上。

2.3 蒸馏速度对甲醛回收率的影响

蒸馏速度也对样品中的甲醛回收率有较大影响。蒸馏速度太快,样品中的甲醛不能完全蒸出,使检测结果偏低;蒸馏速度太慢,高温易使样品中的多糖类分解为糖醛,与显色剂反应呈黄色,使检测结果偏高。经多次试验,得出蒸馏速度控制在约20ml/min最佳。一般的菌菇类(如干香菇)需蒸馏10~15min,馏出液收集至200~250ml;一般水产品及鲜菇类需蒸馏约5min,馏出液收集至100ml。

2.4 磷酸浓度和用量对蒸馏提取效果的影响

2.4.1 磷酸用量的影响

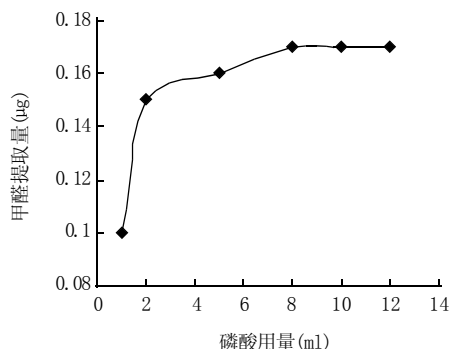


图1 磷酸用量对蒸馏提取效果的影响

Fig.1 Effects of volume of phosphoric acid on extract efficiency

分别取10% H_3PO_4 溶液1.0、2.0、5.0、8.0及10.0ml对鲜草菇进行蒸馏,测定结果见图1。可见随着磷酸用量的增加,甲醛的提取量增加,当磷酸用量达到8ml后不再对甲醛的提取量产生影响,为安全起见,

取磷酸的用量为10ml。

2.4.2 磷酸浓度的影响

分别用10%、20%和30%的 H_3PO_4 溶液10ml对鲜草菇进行蒸馏提取,收集馏出液至100ml。实验结果表明,蒸馏时磷酸浓度越高,收集液的吸光值越高,磷酸浓度过高,可将蔗糖分解为糖醛,与乙酰丙酮结合反应呈黄色,易产生假阳性。故在蒸馏提取过程中,磷酸的浓度以10%为佳。

2.5 样品中蛋白质和碳水化合物对甲醛检测的影响

本实验以鲜草菇为试样,以干香菇中蛋白质含量35%~38%,碳水化合物含量为20%~25%为基准,分别添加1~3倍蛋白质(蛋白质含量为99.3%)及1~3倍的碳水化合物(面粉),同时做添加3倍蛋白质试样及3倍碳水化合物试样的加标回收实验,实验结果见下表3。

实验表明,试样中的蛋白质或碳水化合物对本实验方法几乎没有影响。

2.6 线性关系与测定低限

本实验方法的线性范围为0.1~5.0mg/kg。线性方程为: $Y=0.02606X-0.00214$,相关系数 $R^2=0.999$ 。测定低限为0.1mg/kg。

2.7 加标回收率与重现性

2.7.1 加标回收率

以带鱼为试样,分别在0.1、0.5和1.0mg/kg浓度水平做6个平行的加标回收实验,加标回收率可达90%~111%,实验数据见表4。

表4 带鱼样品中甲醛的加标回收率与相对标准偏差

Table 4 Recovery and RSD of determination of formaldehyde in hairtail sample

测定次数	初始数据(mg/kg)	添加水平1 0.10mg/kg	添加水平2 0.50mg/kg	添加水平3 1.0mg/kg
1	0.03	0.12	0.56	1.06
2	0.01	0.13	0.49	1.13
3	0.02	0.11	0.52	0.96
4	0.02	0.13	0.48	1.12
5	0.03	0.12	0.53	0.93
6	0.02	0.12	0.51	0.96
平均测定值(mg/kg)	0.02	0.12	0.52	1.03
回收率范围(%)		90~110	92~108	91~111
平均回收率(%)		100	100	101
RSD(n=6)		6.0	5.6	8.5

3 结论

苯酚 - 硫酸法测定野木瓜中多糖含量的研究

王文平¹, 郭祀远¹, 李琳¹, 王明力², 梁桂娟²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640

2. 贵州省发酵工程与生物制药重点实验室, 贵州 贵阳 550003)

摘要: 采用苯酚 - 硫酸法对野木瓜中的多糖含量进行测定, 在波长 490nm 处测定吸光度, 实验表明标准葡萄糖在 8~64 μg 之间呈良好的线性关系, 该法简便易行, 准确性高, 重现性好。本文探讨了测定过程的影响因素, 并通过此法测得野木瓜中多糖含量为 12.02%。

关键词: 野木瓜; 多糖; 苯酚 - 硫酸法; 含量

Assay Study on Content of Polysaccharides in *Stanuntonia Chinensis* by Phenol-sulfuric Acid Method

WANG Wen-ping¹, GUO Si-yuan¹, LI Lin¹, WANG Ming-li², LIANG Gui-juan²

(1. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China

2. Guizhou Province Key Laboratory of Fermentation Engineering and Biopharmacy, Guiyang 550003, China)

Abstract: The content of polysaccharides in *Stanuntonia Chinensis* was determined by the method of phenol-sulfuric acid, to assay the absorbance at 490 nm. The results showed that there is a good linearity relationship between the absorbance and the content of standard glucose in the range of 8~64 μg. The method is simple, convenient and accurate, and has good reproducibility. The affecting factors in the assaying process were discussed in this paper respectively. By this method, the content of polysaccharides in *Stanuntonia Chinensis* is found to be 12.02%.

Key words *Stanuntonia Chinensis*; polysaccharides; phenol-sulfuric acid method; content

中图分类号: Q503

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0276-04

野木瓜 (*Stanuntonia Chinensis*) 是贵州省遵义正安县独有的野生天然特产资源, 属蔷薇科贴梗海棠灌木丛植物。正安县野木瓜品质独具特色, 具有果大、皮薄、

肉厚、肉质细嫩、味甘酸、气香等特点。木瓜在中医药学中用途广泛, 《中医大辞典》、《本草纲目》、《本草拾遗》等著名医著都记载了木瓜具有舒筋活络,

收稿日期: 2006-05-18

基金项目: 贵州省科技基金项目(黔科合J字[2005]2017号)

作者简介: 王文平(1966-), 女, 博士研究生, 研究方向为天然产物化学。

通过对低温浸泡时间、蒸馏速度、冷凝温度及磷酸浓度等具体实验参数的优化和控制, 明显提高了乙酰丙酮分光光度法的灵敏度和准确度, 测定低限可达 0.1 mg/kg, 回收率达 90%~111%。改进后的乙酰丙酮分光光度法能够准确定量测定菌菇类及水产品中的游离态和结合态甲醛含量, 具有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] 卫生部(卫法监发)[2001]159号. 食品中甲醛次硫酸氢钠的测定方法[S].
- [2] 张蕊, 赵成军, 周志刚, 等. 2004食品卫生检验新技术标准规程手册: 第一卷[M]. 北京: 光明日报出版社, 2004: 345-347.

- [3] 日本药学会. 卫生试验法注解[M]. 张洪祥, 译. 北京: 华文出版社, 1995: 384-395.
- [4] 范荻, 潘振球, 曹华娟, 等. 食品中甲醛测定前处理的干扰问题探讨[J]. 实用预防医学, 2002, 9(4): 412-413.
- [5] 李长海. 食品中甲醛次硫酸氢钠(吊白块)测定结果的分析[J]. 仪器分析, 2004(3): 49-52.
- [6] 段鸿莺, 王建林, 向国强, 等. 荧光光度法快速测定水溶液中甲醛的研究. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2001, 35(2): 185-188.
- [7] 唐小玲. 高效液相色谱测定车间空气中的甲醛[J]. 生态科学, 1991(2): 99-102.
- [8] 沈戮. 气相色谱法测定猪血制品中甲醛[J]. 食品科学, 1999, 20(8): 54-55.
- [9] 向仕学, 汤晓勤, 陈澍. 污染食品中甲醛的极谱分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2002, 14(1): 19-21.