

植物性食品中甲醛快速检测方法的优化

摘要

本文依据盐酸苯肼法测定甲醛的原理，采用苏州慧康电子信息科技有限公司的 HF-3800A 多参数食品安全检测仪对植物性食品中甲醛的检测参数进行了优化，并组建了一种适用于植物性食品中甲醛快速检测的试剂盒。首先对植物性食品样品中甲醛的提取和盐酸苯肼法测定的反应条件进行了优化，在单因素试验的基础上，采用正交试验的方法得出最优检测参数，即提取温度 50℃、提取时间 30min，盐酸用量 500 μ L、盐酸反应时间 5min。在此最优检测参数下进行植物性样品中甲醛的加标回收试验，回收率为 89.61%-99.26%，相对标准偏差为 0.046%-1.587%，表明该方法的准确度和重现性均为良好。将优化后的检测参数应用到快速检测试验中，组建试剂盒，建立一种快速、操作简单的植物性食品中甲醛快速检测方法。加标回收试验测定结果显示：回收率为 77.13%-103.59%，相对标准偏差 0.243%-2.348%，该快检试剂盒操作方便、简单，可用于实际样品的测定。

关键词： 甲醛 盐酸苯肼法 快速检测 分光光度法

Improvement of Rapid Detection method for formaldehyde in Plant Foods

Abstract

Based on the principle of determination of formaldehyde by phenylhydrazine hydrochloride, the HF-3800A multi-parameter food safety detector of Huikang Electronic Information Technology Co., Ltd was used to optimize the detection parameters of formaldehyde in plant food. A kit for rapid detection of formaldehyde in plant food was constructed. Firstly, the extraction of formaldehyde from plant food samples and the reaction conditions for the determination of phenylhydrazine hydrochloride were optimized. On the basis of single factor experiment, the orthogonal test was used to obtain the optimum test parameters. The extraction temperature is 50 degrees. The extraction time is 30min. The volume of hydrochloric acid is 500 μ L. The reaction time of hydrochloric acid is 5min. Recovery test of formaldehyde in plant samples were experimentalized under the optimal detection parameters. The recovery rate of formaldehyde was 89.61%-99.26%, and the relative standard deviation was 0.046%-1.587%. It showed that the accuracy and reproducibility of the method were all good. The optimized test parameters were applied to the rapid test, and a kit was set up to establish a rapid and simple method for the rapid detection of formaldehyde in plant food. The recovery rate is 77.13%-103.59%, and the relative standard deviation is 0.243%-2.348%. That were all in a good range. The rapid detection method was proved to be reliable.

Key words: formaldehyde; hydrochloric hydrazine ; rapid detection; spectrophotometry

目录

1. 前言	1
1.1 甲醛简介	1
1.2 甲醛检测方法研究进展	1
1.2.1 气相色谱法	1
1.2.2 液相色谱法	2
1.2.3 分光光度法	2
1.3 研究目的	2
1.4 研究内容	3
2. 材料与amp;方法	4
2.1 试验材料	4
2.1.1 材料与试剂	4
2.1.2 仪器设备	4
2.1.3 溶液配置	4
2.2 试验方法	5
2.2.1 盐酸苯肼法检测植物性食品中甲醛参数的优化研究	5
2.2.2 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒的组建和应用研究	7
3. 结果与分析	8
3.1 盐酸苯肼法检测植物性食品中甲醛的研究结果	8
3.1.1 盐酸苯肼法检测甲醛的最大吸收波长的确定	8
3.1.2 盐酸苯肼法检测甲醛的条件优化结果	8
3.1.3 验证试验	12
3.1.4 盐酸苯肼法检测植物性食品中甲醛标准曲线的制作	12
3.1.5 加标样品回收率与相对标准偏差结果	12
3.2 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒的组建和应用研究结果	14
3.2.1 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒标准曲线的制作	14
3.2.2 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒用于实际样品的检测研究结果	14

4. 结论	16
参考文献	17
致谢	18

1.前言

1.1 甲醛简介

甲醛，化学式 HCHO 或 CH_2O ，式量 30.03，亦称蚁醛，是最简单的羰基化合物。无色气体具有刺激性和窒息性，易刺激眼、鼻等器官，在我国有毒化学品优先控制名单上位于前列^[1]。被世界卫生组织（WHO）确认为致癌性、致畸性物质，属于高毒物质^[2]。长时间接触高浓度的甲醛对人的呼吸系统、神经系统、肝脏、皮肤免疫系统等都有一定的危害作用^[3]。甲醛能够损坏细胞蛋白质，凝结蛋白质从而使蛋白质产生变性，严重影响细胞代谢的正常，因而对生物细胞存在巨大损害，这也是甲醛能够防腐和杀菌的原理。该化合物在人体内累积到一定程度时，可能会引发白血病^[4]。活跃的甲醛基不需要经过代谢就能对人体内的亲和基因进行攻击，损害人体 DNA。

甲醛应用于生活中多个范畴，甲醛在木料产业上用于生产脲醛树脂及酚醛树脂；在纺织业中应用于服装中树脂的整理，以达到服装面料防皱缩、保持印花、改善手感等效果；甲醛还具有防腐的作用，可用来制作标本。食品中甲醛的污染主要有以下三个方面^[5]，一是食品中天然存在的甲醛，在动物中，甲醛为代谢正常产生的中间产物，在植物中，香菇子实体在生长发育过程中会产生甲醛^[6]。二是食品中违法添加的甲醛，存在于水发产品^[7]、米面、豆制品、酒类饮料^[8]中。三是食品外包装中甲醛的迁移^[9]。甲醛在食品包装材料与内容物接触的内表面扩散，进而被消融，从而存在于食品中。食品包装与食品安全存在密切关联，包装材料中有害化学物质的消融转移是引起食品污染的原因之一。

1.2 甲醛检测方法研究进展

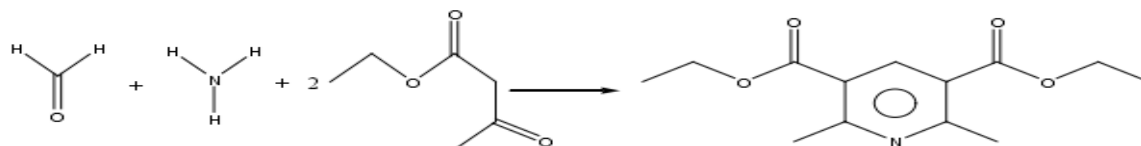
由于甲醛对人体健康存在严重危害，我国卫生计生委发布的《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单》^[10]中，规定甲醛为食品中违法添加的非食用物质，但近年来，甲醛在食品中的污染问题愈发严重，如西安某面店的老板在鲜面中添加工业甲醛以延长面条保存期限；菜农向白菜根部喷洒甲醛维持白菜在长途运输中的新鲜。为了加强对食品中甲醛的监控，对食品中的甲醛进行测定很有必要。目前，食品中甲醛的检测方法主要有气相色谱法、液相色谱法^[11]、分光光度法等^[12]。

1.2.1 气相色谱法

在盐酸溶液的酸性条件下，甲醛与 DNPH 进行衍生，生成 2,4-二硝基苯腙，再用有机溶液萃取出苯腙，除水后检测^[13]。：

1.2.2 液相色谱法

在碱性条件下，甲醛与乙酰乙酸乙酯反应，反应式如下图，用正己烷萃取，然后用 HPLC 检测^[14]。此方法测定甲醛快速、简洁、重现性好。



1.2.3 分光光度法

分光光度法检测甲醛的原理是通过甲醛与某种化合物反应，产生某种带有颜色的物质，在一定波长下进行测定获得该波长下吸光度，再代入标准曲线方程得到甲醛浓度^[4、13]。

1.2.3.1 间苯三酚法

甲醛和间苯三酚及氢氧化钠反应时会生成红色中间产物，该红色产物易褪色，此方法通过快速测定该红色中间产物吸光度来确定甲醛的含量，红色中间产物在波长 470nm 左右有最大吸收。

1.2.3.2 乙酰丙酮法

甲醛和乙酰丙酮及氨反应生成黄色化合物，名为二乙酰基二氢卢剔啶，该化合物在波长 410nm 处有最大吸收。

1.2.3.3 盐酸苯肼法

在酸性条件下，铁氰化钾将甲醛和盐酸苯肼氧化形成玫红色化合物，玫红色化合物颜色深浅与甲醛含量成正比，该化合物在波长 520nm 左右处有最大吸收。

上述分光光度法中，乙酰丙酮法^[15]和间苯三酚法都存在甲醛与显色剂反应不稳定的问题，吸光度波动大，导致试验误差大。乙酰丙酮法相对适用于测定高浓度的甲醛，反应所需时间长。间苯三酚法适用于测定低浓度的甲醛，但是测定结果容易被温度影响，不适合作为定量分析。盐酸苯肼法测定甲醛，受干扰因素较少，操作方便，吸光度稳定，精密度和准确度较高^[16]。盐酸苯肼法的定性分析不受其他因素干扰，样品定性可直接测定。定量分析结果准确、可信^[17]。

1.3 研究目的

甲醛在食品中残留问题已经影响着生活中的每个方面，严重威胁着人体的健康，迫切需要引起人们的关注。传统方法中，大多存在样品预处理时间长，需要大型仪器，操作复杂、耗时，成本高等缺点，不适于基层快速检测。在全民关注食品质量安全的今天，

食品安全快速检测技术成为热点,一是食品快速检测能够运用于日常监督中,有效控制实验室监测不到的环节,特别是强化对欠发达地区的食品安全监督。二是保障大型活动中的食品安全,防止群发性食物中毒事件。三是应用在应急事件的处理上,食品快速检测技术能够快速筛查食物中毒可疑因子,阻截其进一步扩散同时也能为救助患者赢取最佳时间^[18]。但是目前甲醛快速检测应用存在许多问题,快检方法参差不齐、定量方面准确度不高,操作人员能力、水平参差等。快速、可靠的甲醛快速检测技术已成为下一个的研究方向。本文根据盐酸苯肼法测定甲醛的基本原理,对植物性食品中甲醛的检测条件进行优化,并将优化后参数应用到植物性食品中甲醛快速检测试剂盒的组建。

1.4 研究内容

1. 根据盐酸苯肼法测定甲醛的原理对盐酸苯肼法测定植物性食品中甲醛的方法进行优化,在单因素试验基础上,采用正交试验的方法得出最优检测参数。

2. 将正交试验得到的最优检测参数应用到加标回收实验中,对回收率和相对标准偏差进行计算,验证该方法的可靠性。

3. 将优化后的检测参数应用到快速检验中,组建试剂盒,并对组建的试剂盒进行应用试验,建立一种快速、操作简单的植物性食品中甲醛快速检测方法。

2.材料与方法

2.1 试验材料

2.1.1 材料与试剂

材料：鲜面、腐竹、豆干、挂面，购于常熟市大润发超市；实验用水为一级去离子水。

试验用试剂见表 1

表 1 试剂
Tab 1 Reagents

试剂	级别	生产厂家
甲醛	分析纯	上海阿拉丁试剂有限公司
三氯乙酸	分析纯	上海阿拉丁试剂有限公司
盐酸苯肼	分析纯	上海阿拉丁试剂有限公司
铁氰化钾	分析纯	上海阿拉丁试剂有限公司
盐酸	分析纯	上海凌峰化学试剂有限公司

2.1.2 仪器设备

试验用仪器设备见表 2

表 2 仪器设备
Tab 2 Instruments

仪器设备	生产厂家
HH-4 数显恒温水浴锅	国华电器有限公司
HF-3800A 多参数食品安全检测仪	苏州慧康电子科技有限公司
EL104 型电子天平	梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司
UV-1700 紫外可见分光光度计	上海化科实验器材有限公司

2.1.3 溶液配置

10%三氯乙酸：准确称取 10g 的三氯乙酸溶解于 100mL 蒸馏水中，充分溶解后转移至棕色试剂瓶内避光保存。

盐酸苯肼（10g/L）：精确称取 0.2g 盐酸苯肼溶于 0.4mL10+2 盐酸中再加 19.6mL 的蒸馏水，充分混匀溶解后转移至棕色试剂瓶内并避光保存。

铁氰化钾（20g/L）：精确称取 0.4g 铁氰化钾溶于 20mL 蒸馏水中。

（10+2，V/V）盐酸：精确移取 10 体积的盐酸与 2 体积的蒸馏水混合摇匀。

甲醛标准贮备液：精确移取 2.8mL 甲醛试剂，蒸馏水稀释定容至 1000mL，再精确移取此溶液 10mL 于 100mL 容量瓶中，用蒸馏水稀释刻度。

甲醛标准使用液：精确移取甲醛标准贮备液 10mL 于 100mL 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，此时溶液浓度为 10mg/Kg，该溶液现配现用。

2.2 试验方法

2.2.1 盐酸苯肼法检测植物性食品中甲醛参数的优化研究

对盐酸苯肼法测定植物性食品中甲醛的方法进行优化, 在单因素试验基础上, 采用正交试验的方法得出最优检测参数。用正交试验获得的的最优检测参数进行加标回收试验, 对回收率和相对标准偏差进行测定计算, 验证该方法的可靠性。

2.2.1.1 盐酸苯肼法检测甲醛的原理和操作流程

原理: 三氯乙酸沉淀样品中的蛋白质, 过滤后, 甲醛与盐酸苯肼在盐酸酸性条件作用下经铁氰化钾氧化生成玫红色化合物颜色深浅与甲醛含量成正比, 该化合物在波长为 520 nm 左右处有最大吸收^[19]。

操作流程: 准确称取 1g 样品于 15mL 离心管中, 加入 1mL10%的三氯乙酸, 9mL 蒸馏水, 摇匀, 一定温度下水浸泡提取一段时间后过滤取 2mL 清液备用, 加入 200 μ L10g/L 盐酸苯肼溶液, 混匀静置 5 分钟, 加入 100 μ L20g/L 铁氰化钾, 混匀静置 4 分钟, 再加入一定体积的 10+2 盐酸, 混匀静置一段时间。在 HF-3800A 多参数食品安全检测仪上测其吸光度, 代入标准曲线方程, 计算得到甲醛浓度。

2.2.1.2 盐酸苯肼法检测甲醛的最大吸收波长的确定

取 2.0 mL 甲醛标准使用液于 15 mL 离心管, 再加入 2.0 mL 盐酸苯肼溶液, 混匀后静置 5min 加入铁氰化钾溶液 1.0 mL, 混匀放置 4 min, 加入 5.0 mL 10+2 盐酸溶液, 摇匀静置 5min, 进行 400 nm~800 nm 全波段扫描, 测其最大吸收波长。^[19]

2.2.1.3 盐酸苯肼法检测甲醛的条件优化

本研究以加标样品鲜面为检测对象, 用盐酸苯肼对加标样中的甲醛进行检测试验, 对样品中甲醛提取的温度、提取时间、反应中盐酸的用量和反应时间这四个因素进行优化, 考察了这四个因素对反应后形成的玫红色化合物在 520nm 处吸光度值的影响。再设计正交试验, 得到盐酸苯肼法检测甲醛的最优检测参数。

1. 单因素试验

对样品中甲醛提取的温度、提取时间、反应中盐酸的用量和反应时间四个因素分别设计优化试验, 观察了这四个因素对反应后生成的玫红色化合物在 520nm 处吸光度值的影响。单因素试验设计如表 3 所示。

表 3 单因素试验表
Tab 3 One-factor experiment

因素 Factor	水平 Level						
提取温度 (°C) Extraction temperature	20	30	40	50	60	70	
提取时间 (min) Extraction time	10	20	30	40	50	60	
盐酸用量 (μL) Hydrochloric acid volume	200	300	400	500	600	700	
盐酸反应时间 (min) Hydrochloric reaction time	3	5	7	9	11	13	

2. 正交试验设计

结合单因素试验的结果进行正交试验设计，正交实验设计如表 4 所示，按表中因素及选择水平进行正交试验^[20]。

表 4 四因素三水平取值表
Tab 4 The value of 3 levers of 4 factors

因素 Factor	水平 Level		
	1	2	3
A:提取温度 (°C) Extraction temperature	40	50	60
B:提取时间 (min) Extraction time	20	30	40
C:盐酸用量 (μL) Hydrochloric acid volume	400	500	600
D:盐酸反应时间 (min) Hydrochloric reaction time	3	5	7

2.2.1.4 盐酸苯肼法检测甲醛的标准曲线的制作

取 5 只 15mL 的离心管，分别准确称取适量鲜面样品加入离心管中，甲醛加标浓度为 2.00mg/Kg、4.00mg/Kg、6.00mg/Kg、8.00mg/Kg、10.00mg/Kg，加入 1mL10%的三氯乙酸，9mL 蒸馏水，摇匀，50°C 水浴。水浴 30min 拿出离心管，过滤取清液备用。各取 2 mL 清液于 6 只 15 mL 离心管中，各加入 200 μL10g/L 盐酸苯肼溶液，混匀静置 5 分钟，各加入 100 μL 20g/L 铁氰化钾，混匀静置 4 分钟，各加入 500 μL10+2 盐酸，混匀静置 5 分钟。同时做空白试验，测得吸光度，制作标准曲线。

2.2.1.5 加标样品回收率与相对标准偏差的测定计算

取 5 只 15mL 的离心管，分别准确称取 1g 粉碎后的加标样品倒入离心管中，加入 1mL10%的三氯乙酸，9mL 蒸馏水，震荡摇匀于 50°C 下水浴。水浴 30min 拿出，过滤取清液备用。各取 2 mL 清液于 5 只 15 mL 离心管中，各加入 200 μL10g/L 盐酸苯肼溶液，混匀静置 5 分钟，各加入 100 μL 20g/L 铁氰化钾，混匀静置 4 分钟，各加入 500 μL10+2 盐酸，混匀静置 5 分钟。同时做空白试验，测得其吸光度，代入标准曲线计算甲醛浓度并得出加标样品的回收率和相对标准偏差^[21]。

2.2.2 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒的组建和应用研究

快速检测试剂盒具有操作简便、适宜携带、缩短试验时间等优点^[22]，可以满足企业与基层单位等对食品中甲醛残留的现场检测和批量检测的需求。在最优检测参数下，进行植物性食品中甲醛快速检测试剂盒的组建和应用研究。

2.2.2.1 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒组建及使用方法

1. 试剂盒的组建

试剂盒包括：A液：50%三氯乙酸 10mL；B液：10g/L 盐酸苯肼 10mL；C液：20g/L 铁氰化钾 10mL；15mL 离心管 2个；定性中速滤纸；一次性手套；使用说明书等。

2. 试剂盒使用方法

取1只15ml离心管，加入1g碾碎的待测样，滴加6滴A液，加入9mL蒸馏水，盖上管盖，摇匀5分钟，用滤纸过滤，取清液备用。取2mL清液于15mL离心管，往离心管内滴加6滴B液，混匀静置5分钟，滴加3滴C液，混匀静置4分钟，再准确移取500 μ L10+2盐酸溶液，混匀静置5分钟。用HF-3800A多参数食品安全检测仪在520nm处进行吸光度的测定，根据该样品对应的标准曲线得到甲醛浓度。

2.2.2.2 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒标准曲线的制作

取6只15mL离心管，分别准确称取适量粉碎的鲜面样品倒入离心管，甲醛加标浓度为2.00mg/Kg、4.00mg/Kg、6.00mg/Kg、8.00mg/Kg、10.00mg/Kg，加入6滴A液，9mL蒸馏水，摇匀，置于50 $^{\circ}$ C水浴锅中加热。水浴30min后拿出，过滤取清液备用。各准确移取2mL清液于6只15mL离心管中，往离心管内滴加6滴B液，混匀静置5分钟，各加入3滴C液，混匀静置4分钟，再各加入500 μ L10+2盐酸，混匀静置5分钟。测得吸光度，绘制标准曲线。

2.2.2.3 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒用于实际样品的检测研究

使用该试剂盒对加标了五个不同浓度的实际样品进行检测。计算甲醛回收率和相对标准偏差。

3.结果与分析

3.1 盐酸苯肼法检测植物性食品中甲醛的研究结果

3.1.1 盐酸苯肼法检测甲醛的最大吸收波长的确定

按照 2.2.1.2 所述步骤，测定结果如图 1 所示，由图可知，玫红色化合物在 400nm-800nm 波长范围内，吸光度先增大后减小，在 520nm 波长处有最大吸收，因此盐酸苯肼检测甲醛的最大吸收波长定为 520nm。

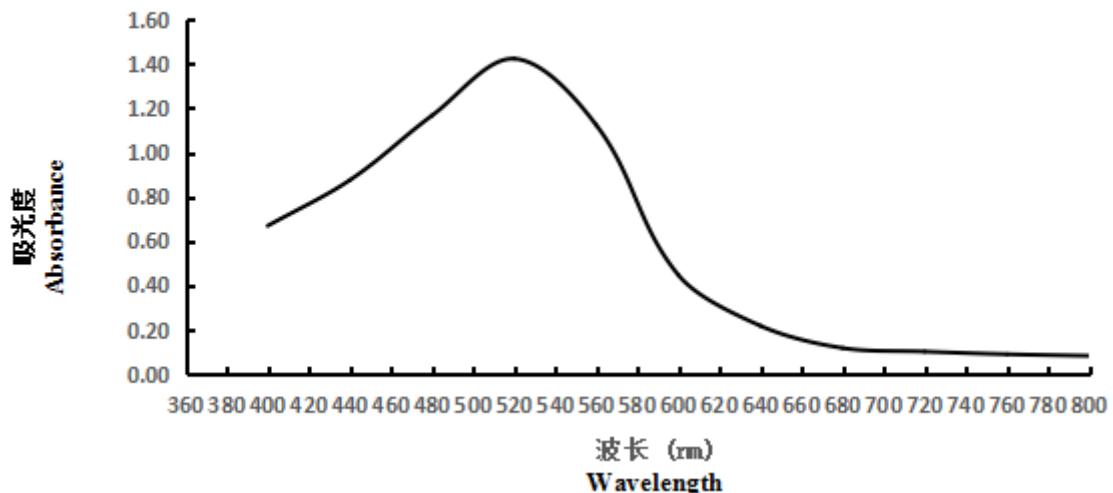


图 1 不同波长与吸光值的关系

Fig 1 The relationship between absorbance and wavelength

3.1.2 盐酸苯肼法检测甲醛的条件优化结果

3.1.2.1 单因素试验结果

1.提取温度的优化

提取温度的优化结果如图，由图 2 可知，提取温度不同，产生的玫红色化合物的吸光度也不同，随着温度的上升，吸光度由小变大，在 50℃时，吸光度有最大值，当温度高于 50℃时，反而会导致吸光度的降低。可能原因是甲醛在 19℃时开始挥发，伴随着温度上升，提取速度加快，到 50℃时，甲醛的挥发与提取达到平衡，温度继续升高时，甲醛提取率反而减小。所以正交试验中提取温度定为 40℃、50℃、60℃。

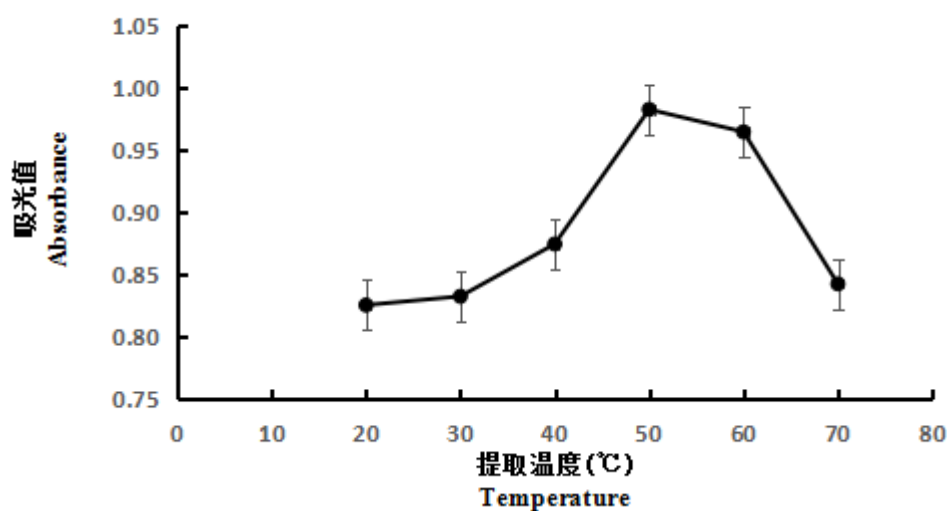


图 2 样品不同提取温度对盐酸苯肼反应的吸光值的影响

Tab 2 The influence of absorbance measured in different water bath temperature of sample by phenylhydrazine hydrochloride reaction

2. 提取时间的优化

提取时间的优化结果如图，由图 3 可知，提取时间从 10min 到 30min 时，甲醛提取率增大，吸光度变大，当提取时间到 30min 时，甲醛提取率最大，吸光度最大，提取时间继续增加时，甲醛慢慢挥发，提取率下降，吸光度变小。所以正交试验中提取时间定为 20min、30min、40min。

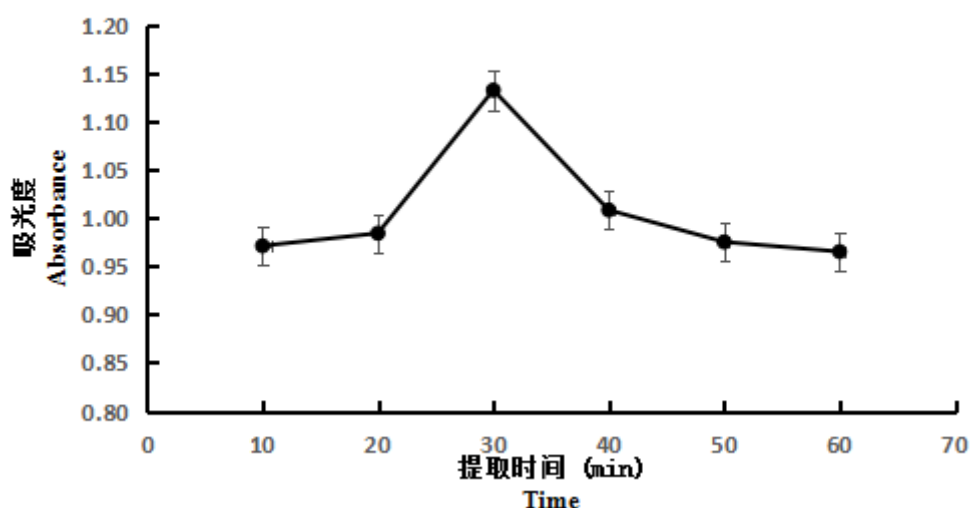


图 3 样品不同提取时间对盐酸苯肼反应的吸光值的影响

Fig 3 The influence of absorbance measured in different water immersion time of sample by phenylhydrazine hydrochloride reaction

3. 盐酸用量的优化

盐酸用量优化结果如图，由图 4 可知，当盐酸体积添加量为 400 μ L 时，吸光度达最高峰，盐酸为甲醛与盐酸苯肼反应生成的氮杂茂提供酸性条件，盐酸用量不足时会影响玫红色化合物生成影响吸光值，根据试验数据推测过量的盐酸并不会对反应生成的氮杂茂产生多大影响。所以正交试验中盐酸体积添加量定为 400 μ L、500 μ L、600 μ L。

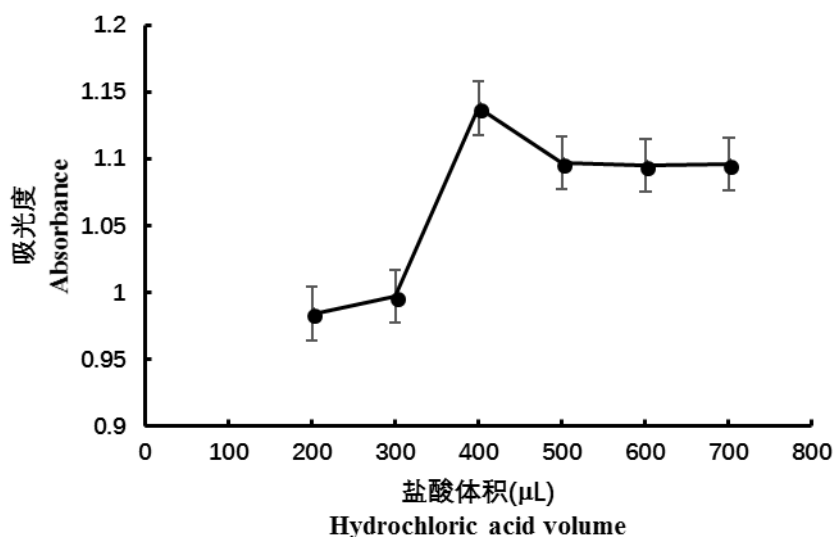


图 4 不同盐酸体积对盐酸苯肼反应的吸光值的影响

Fig 4 The influence of absorbance measured in different Hydrochloric acid volume by phenylhydrazine hydrochloride reaction

4. 盐酸反应时间的优化

盐酸反应时间的优化结果如图，由图 5 可知，若盐酸反应时间过短，显色时间不足，影响玫红色化合物生成，对吸光度产生影响，当盐酸反应时间为 5min 时，吸光度达到最高峰，而 5min 后反应时间继续增加吸光度反而下降。可能原因是伴随着时间增加，玫红色化合物愈加不稳定，对吸光度产生影响。所以正交试验中盐酸反应时间定为 3min、5min、7min。

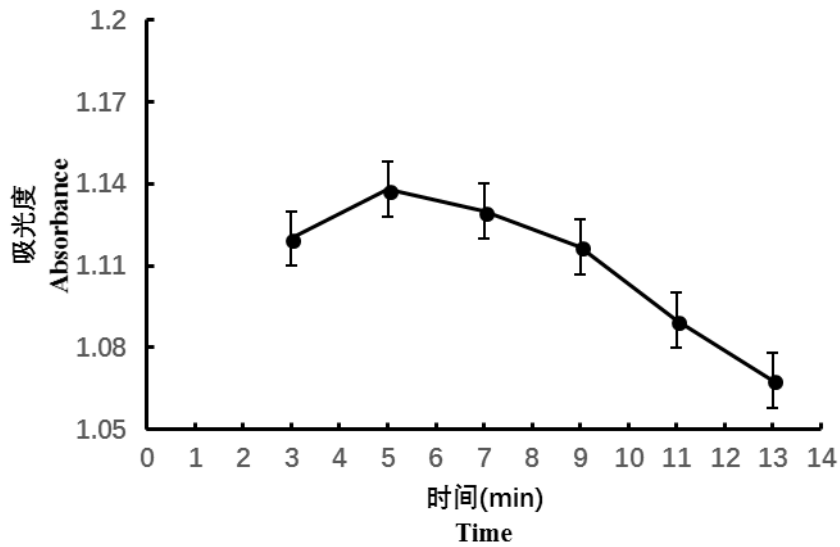


图 5 不同盐酸反应时间对盐酸苯肼反应的吸光值的影响
 Fig 5 The influence of absorbance measured in different hydrochloric acid time by phenylhydrazine hydrochloride reaction

3. 1. 2. 2 正交试验设计结果

表 5 正交试验数据分析

Tab 5 The data analysis of orthogonal experimental

序列	提取温度 (°C)	提取时间 (min)	盐酸用量 (ml)	盐酸反应时间 (min)	吸光值
1	40	20	400	3	0.832
2	40	30	500	5	0.883
3	40	40	600	7	0.847
4	50	20	500	7	1.085
5	50	30	600	3	1.098
6	50	40	400	5	1.103
7	60	20	600	5	0.997
8	60	30	400	7	0.977
9	60	40	500	3	0.984
K1	0.854	0.971	0.971	0.971	
K2	1.095	0.986	0.984	0.994	
K3	0.986	0.978	0.981	0.969	
R	0.241	0.015	0.013	0.025	

称取适量鲜面样品于离心管中，甲醛加标浓度为 10mg/Kg，按照四因素三水平表内因素及选择水平进行正交试验。并做空白试验。正交试验结果如表 5 所示。比较 A、B、C、D 四个因素中的 K 值，由表中可知最优条件是 $A_2B_2C_2D_2$ ，即提取温度 50°C，提取时间 30min，盐酸体积添加量为 500 μ L，加入盐酸后反应时间 5min。对比本试验中 A、B、C、D 四个因素中 R 的大小，最大的是 R_A ，表明提取温度是影响该试验的最重要因

素, R_B 与 R_C 相近, 且均小于 R_D , 也就是提取时间对试验的影响程度和盐酸用量对试验的影响程度彼此相近, 而且都小于盐酸反应时间对试验的影响程度。

3.1.3 验证试验

依据正交试验获得的最优检测参数进行验证试验, 试验表明, $A_2B_2C_2D_2$ 的吸光度为 1.214, 大于表 5 中 $A_2B_3C_1D_2$ 的吸光度。从而得出试验的最佳条件组合方案为 $A_2B_2C_2D_2$, 即水浴温度 50°C 、水浸泡时间 30min, 盐酸体积 $500\mu\text{L}$ 、盐酸反应时间 5min

3.1.4 盐酸苯肼法检测植物性食品中甲醛标准曲线的制作

对甲醛系列浓度加标鲜面进行检测, 结果如图 6 所示, 甲醛的标准曲线方程为 $y=0.1115x+0.1273$, $R^2=0.9953$, 甲醛浓度与反应体系的吸光度值之间线性关系良好。

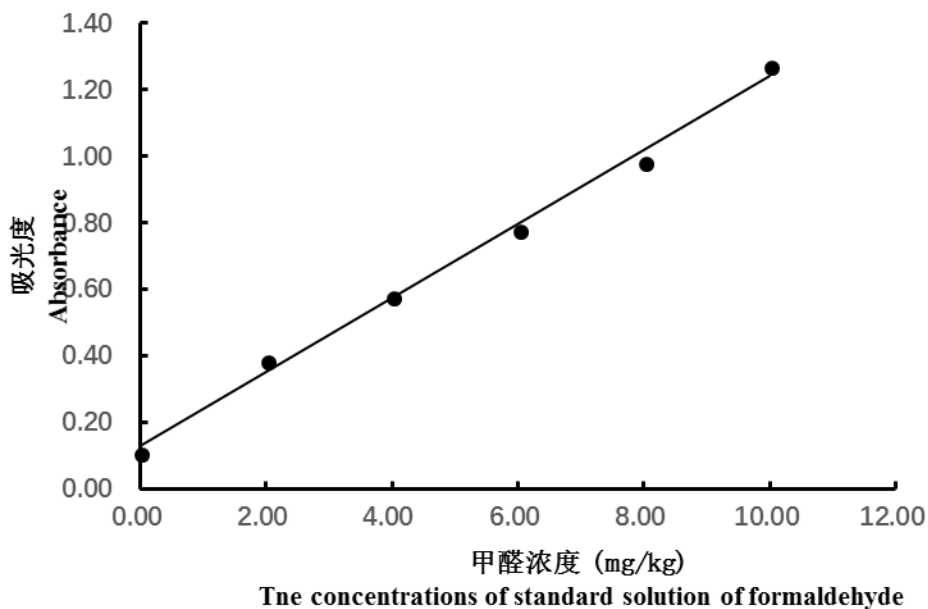


图 6 甲醛溶液浓度与吸光值之间的关系

Fig6 The relationship between formaldehyde solution concentration and absorbance

3.1.5 加标样品回收率与相对标准偏差结果

按照 2.2.1.5 的步骤, 对其它样品参照正交试验得到的最优检测条件进行测定。所测结果如表 6 所示。在甲醛加标浓度为 2.00mg/Kg — 10.00mg/Kg 下, 豆干的回收率在 94.42%—99.26% 范围内, 相对标准偏差为 0.046%—0.633%; 腐竹的回收率在 89.61%—98.35% 范围内, 相对标准偏差为 0.268%—0.904%; 挂面的回收率在 94.39%—99.12% 范围内, 相对标准偏差为 0.480%—1.587%。在五个不同浓度的添加水平下, 常见的植物性样品回收率在

89.61%–99.26%范围内，相对标准偏差范围 0.046%–1.587%，结果证明该方法的准确度和重现性均良好。

表 6 不同样品的回收率和相对标准偏差
Tab 6 Recovery and relative standard deviation of different samples

样品	添加水平	回收率范围%	相对标准偏差% (RSD)
豆干	2	96.43—97.30	0.633
	4	96.03—97.72	0.275
	6	98.56—99.26	0.521
	8	94.42—94.73	0.382
	10	98.56—99.07	0.046
腐竹	2	89.61—91.79	0.904
	4	97.69—98.35	0.268
	6	96.57—98.27	0.901
	8	93.46—95.8	0.802
	10	94.05—94.74	0.514
挂面	2	95.57—98.12	1.340
	4	95.59—97.7	1.041
	6	97.43—99.12	0.480
	8	95.15—96.64	0.480
	10	94.39—97.26	1.587

3.2 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒的组建和应用研究结果

3.2.1 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒标准曲线的制作

植物性食品中甲醛快速检测试剂盒标准曲线如图 7 所示

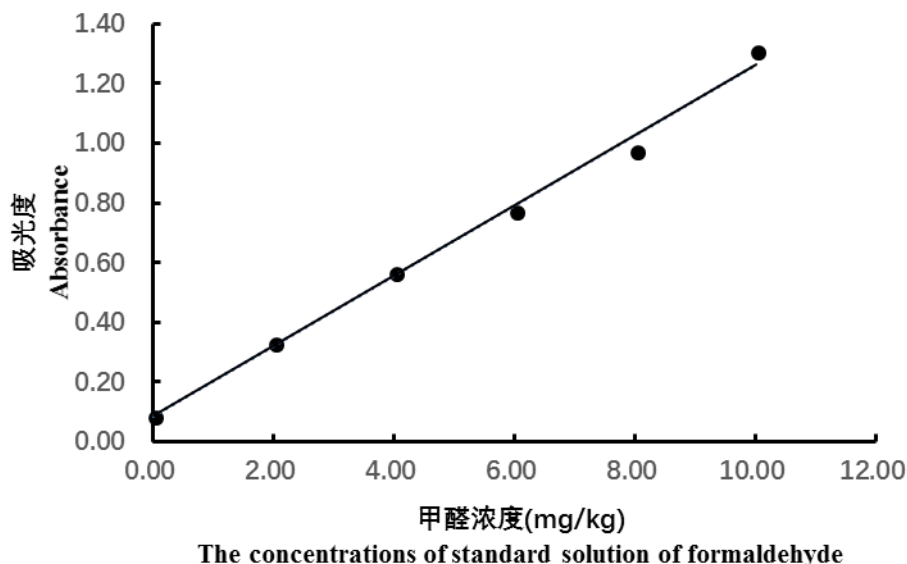


图 7 甲醛溶液浓度与吸光度之间的关系表

Tab7 The relationship between formaldehyde solution concentration and absorbance

3.2.2 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒用于实际样品的检测研究结果

按照 2.2.2.3 所述步骤进行植物性样品中方法的回收率和相对标准偏差的测定计算, 所测结果如表 7 所示。在甲醛加标浓度为 2.00mg/Kg—10.00mg/Kg 下, 豆干的回收率范围为 77.13%—98.92%, 相对标准偏差为 1.263%—2.348%; 腐竹的回收率范围为 84.29%—99.55%, 相对标准偏差为 0.5216%—1.3777%; 挂面的回收率范围为 87.89%—103.59%, 相对标准偏差为 0.2429%—1.3091%。在五个不同浓度的添加水平下, 常见植物性样品回收率范围为 77.13%—103.95%, 相对标准偏差范围 0.2429%—2.348%, 应用快速检测试剂盒的检测结果的回收率和相对标准偏差都不及准确添加试剂量试验, 但也在良好范围内, 表明该快速检测方法的建立是可行的。

表 7 不同样品的回收率和相对标准偏差

Tab 7 Recovery and relative standard deviation of different samples

样品	添加水平	回收率范围%	相对标准偏差% (RSD)
豆干	2	91.03—97.76	2.2743
	4	76.91—82.06	2.348
	6	77.13—79.67	1.3171
	8	81.84—84.19	1.263
	10	94.8—98.92	1.949
腐竹	2	84.29—87.88	1.0773
	4	90.57—91.92	0.5216
	6	90.13—91.47	0.5735
	8	96.3—99.55	1.3777
	10	84.84—86.27	0.7231
挂面	2	99.1—102.24	0.963
	4	100.22—103.59	1.3091
	6	87.89—89.54	0.7507
	8	99.55—100.22	0.5837
	10	97.94—99.35	0.2429

4.结论

本文根据盐酸苯肼法测定甲醛的基本原理,采用苏州慧康公司的 HF-3800A 多参数食品安全检测仪,对植物性食品中甲醛的检测条件进行优化,并将优化后参数应用到植物性食品中甲醛快速检测试剂盒的组建。具体结论如下:

1、用紫外分光光度计对甲醛标准溶液在酸性条件下与盐酸苯肼反应后生成的玫红色化合物的最大吸收波长进行了测定,在波长 520nm 处有最大吸光度。

2. 盐酸苯肼法检测甲醛条件的优化

由单因素试验结合正交试验得到的最佳反应条件为提取温度 50℃、提取时间 30min、盐酸体积 500 μ L、盐酸反应时间 5min。盐酸苯肼法检测甲醛的标准曲线方程为 $y=0.1115x+0.1273$, $R^2=0.9953$, 线性关系良好。当样品中甲醛的添加水平为 2.00-10.00mg/Kg 时,其回收率范围在 89.61%-99.26%,相对标准偏差 0.046%-1.587%,表明该方法的准确度和重现性均为良好。

3. 植物性食品中甲醛快速检测试剂盒的组建与应用研究

根据盐酸苯肼法检测甲醛的优化条件,组建了植物性食品中甲醛快速检测试剂盒并对甲醛加标浓度为 2.00mg/Kg—10.00mg/Kg 的样品进行检测,试剂盒应用试验中甲醛的标准曲线方程为 $y=0.1177x+0.0863$, $R^2=0.9943$, 线性关系良好。当样品中甲醛的添加浓度为 2.00-10.00mg/Kg 时,其回收率范围在 76.91%-103.59%,相对标准偏差 0.243%-2.348%,表明该方法的准确度和重现性均为良好。

参考文献

- [1] 赖谷仙. 甲醛测定方法的研究进展[J]. 化工技术与开发, 2017, 46(10): 25-27.
- [2] 李秀波, 李林等. 2,4-二硝基苯肼比色法测定食品中甲醛的改进[J]. 中国食品添加剂, 2016, 08(8): 205-209
- [3] 刘艳民. 浅析食品中甲醛的测定方法[J]. 企业技术开发, 2012, 31(29): 179-180.
- [4] 钟铎, 李幼琼. 甲醛对实验技术人员健康影响[J]. 中国职业医学, 2017, 05(24): 638-639.
- [5] 周众. 食品中甲醛测定方法的研究[D]. 上海: 上海海洋大学硕士论文, 2010
- [6] 曹丽, 蒋青玲等. 香菇功效及甲醛残留检测研究进展[J]. 农产品加工, 2017, 12(445)
- [7] 周群慧, 彭琨, 汪洋. 食品中甲醛测定新进展及各种方法的比较[J]. 食品科技, 2004, 10(23): 75-79.
- [8] 黄曼. 两种分光光度法检测粉条中甲醛残留量的方法对比及实验条件研究[J]. 基础科学, 2012, 04(8): 104-105.
- [9] 王利兵, 于艳军, 李宁涛等. 我国食品包装标准现状及对策分析[J]. 包装工程, 2007, 28(8): 223-225.
- [10] 《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单(第六批)》[S].
- [11] Deandrade J B, Deandrade M V. Determination of Formaldehyde and Acetaldehyde in Urine by HPLC[J]. American Laboratory, 1999, 31(10): 22.
- [12] Gamizracia L, Decastro M D L. Determination of Formaldehyde in Liquid Solid and Semisolid Pharmaceuticals and Cosmetics by Flow Injection-Permeation[J]. Analyst, 1999, 124(7): 1119.
- [13] GB/T5009.69-2003 食品罐头内壁环氧酚醛涂料卫生标准的分析方法[S].
- [14] 徐炜, 魏青春. 食品中游离甲醛的高效液相色谱测定方法的研究[J]. 分析化学, 2004, 32(12): 1617-1620
- [15] SC/T 3025-2006 水产品中甲醛的测定[S].
- [16] 鲍会梅. 食品中甲醛残留量测定方法的比较[J]. 轻工科技, 2006, 11(5): 45-45
- [17] 欧阳星星, 肖珍芳. 新形势下甲醛分析仪现场检测技术[J]. 计量与测试技术, 2017, 44(10): 102-103.
- [18] 兰淑华. 浅谈食品快速检测在监管工作中的重要作用[EB/OL]. http://www.cfsn.cn/supervision/2016-11/14/content_282067.htm, 2016. 11. 14.
- [19] 陈炳卿, 孙长颢. 食品污染与健康[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002, 114
- [20] 徐仲安, 王天保, 李常英, 赵丽艳, 马青梅, 苗玉宁. 正交试验设计法简介[J]. 科技情报开发与经济, 2002, 12(5): 148-150.
- [21] 任成忠, 毛丽芬. 加标回收试验的实施及回收率计算的研究[J]. 工业安全与环保, 2006, 32(2): 75-77
- [22] 刘凤银, 王淑娟, 李轩等. 液态奶中硫氰酸钠快速检测试剂盒的研制与应用[J]. 现代食品科技, 2017, 33(11): 33