

微波消解-铬天青 S 光度法测定海蜇产品中的明矾含量*

岑剑伟, 李来好, 杨贤庆, 郝淑贤, 石红, 周婉君, 戚勃, 马海霞

(中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州, 510300)

摘要 在海蜇产品加工过程中需经盐和明矾腌渍处理, 以达到脱水 and 改善产品品质的目的, 这种常规加工方式会引起铝元素的残留, 因此, 明矾含量的监测是海蜇产品质量控制关键环节。该研究改善传统水煮滴定的测定方法, 微波消解样品后与铬天青 S, 溴化十六烷基三甲基铵和聚乙二醇辛基苯基醚反应形成稳定的四元显色体系, 明矾含量与其吸光强度成正比。研究结果表明: 在 595 nm 处铝离子浓度在 0.1~17.5 $\mu\text{g/mL}$ 内符合比耳定律, 检测方法加标回收率 98.69%~102.08%, 对应明矾的检测限为 0.02%, 检测结果与电感耦合等离子体发射光谱法的结果一致。采用微波消解海蜇样品明显提升样品的消化效果, 四元显色体系提高了检测的灵敏度和精确度, 为海蜇产品中明矾的测定提供了更好的方法, 值得推广应用。

关键词 海蜇产品, 明矾, 微波消解, 分光光度法

海蜇 (*Rhopilema esculentum* Kishinouye) 广泛分布于我国的沿海近岸, 是我国传统渔业生产的主要大型经济水母^[1]。我国是最早开发利用海蜇资源的国家, 近代研究表明, 海蜇有治疗高血压、慢性气管炎、哮喘、胃溃疡和单纯性甲状腺肿大的作用^[2]。近年海蜇产品渐为西方国家所接受, 美国 Auburn 大学的研究小组报道, 海蜇的胶原蛋白对实验鼠抗原引起的关节炎有一定的抑制作用^[3~7]。由于海蜇具有含水量高、易分解和自溶等特点, 腌制海蜇在加工过程中使用了大量的食盐和明矾, 引起了铝元素的残留^[8,9]。因过量使用明矾所引起的食品安全问题日益引起社会关注。1988 年世界卫生组织正式确定铝为食品污染物, 并对其使用及残留状况加以严格控制, 提出铝的 PTWI 值 (每人每周每千克体重摄入量) 为 7 mg/kg^[10]。目前, 我国只对面制品及部分水产品中铝 (明矾) 的允许限量作了规定, 面制品的卫生标准为 100 mg/kg, 而在水产行业标准中 SC/T 3210—2001《盐渍海蜇皮和盐渍海蜇头》和农业行业标准 NY5171—2003《无公害食品——海蜇》中规定明矾在海蜇中的含量为 1.2%~2.2%^[11~13]。

国标 GB/T 5009.182—2003《面制食品中铝的测定》采用铬天青 S (chrome azurol S, CAS) 溶液比色法测定铝的含量, 但其线性范围较窄, 最高能检测出 150 mg/kg 的铝含量, 而海蜇产品中的明矾是以加工助剂形式加入, 其含量远比其他食品中的本底含

量高。按海蜇产品的卫生标准及市售产品的调研计算得出, 海蜇产品的铝含量一般在 500~1 200 mg/kg, 因此, 该标准不适用于海蜇产品中明矾含量的检测, 需重新确定反应体系, 以求更宽的检测范围。铬天青 S 与铝形成二元络合物, 吸光值较低, 重现性不理想, 在有长碳链的有机表面活性剂参与反应条件下, 如溴化十六烷基三甲基铵 (cetylpyridinium bromide, CPB), 十六烷基三甲基溴化铵 (cetyltrimethylammonium bromide, CTAB) 和聚乙二醇辛基苯基醚 (octylphenol polyoxyethylene, OP) 等, 则可形成三或四元络合物。有研究表明, 三元体系灵敏度比二元体系提高约 3 倍, 四元体系比二元体系提高 10 倍, 因为由 2 种表面活性剂组合形成混合胶束比单一胶束的增敏和增稳作用更强^[14~16], 因此, 本研究拟采用 Al-CAS-CPB-OP 体系测定海蜇中的铝含量。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 仪器

分光光度计 (Genesys 5, 美国 Spectronic), 色差计 (DC-P3, 北京兴光测色仪公司), 微波消化炉 (MARS 美国 CEM), pH 计 (PB-10, 德国 Sartorius), 捣碎机。

1.1.2 试剂

铬天青 S (CAS) 1 mg/mL: 称取 0.100 g 铬天青 S 溶解于 100 mL 体积分数 50% 乙醇。十六烷基三甲基溴化铵 (CPB): 称取 0.3 g 十六烷基三甲基溴化铵溶解于 100 mL 纯水。聚乙二醇辛基苯基醚

第一作者: 硕士, 助理研究员 (李来好为通讯作者)。

* 农业部 2006 年农业行业标准制定和修订项目 (174)

收稿日期: 2008-11-07, 改回日期: 2009-01-07

(OP): 用移液管吸取 3 mL 聚乙二醇辛基苯基醚到 100 mL 容量瓶中,用纯水定容到刻度,摇匀后放置 12 h,备用。六次甲基四胺缓冲液:称取 100 mL 六次甲基四胺溶于 400 mL 水中,用体积分数 50% HNO_3 调节 pH 到 6.70。铝标准贮备液 0.1 mg/mL(国家标准物质中心);铝标准使用液 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.2 测定方法

1.2.1 样品前处理

将海蜇匀浆后,准确称取 1.00 g 样品于消解管中,加入 4 mL 水湿润,6 mL 浓 HNO_3 ,按微波消解仪操作规程进行消解。消解条件:消解功率为 800 W,消解温度 180℃,消解 15 min,冷却 15 min。消解完毕移入 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

1.2.2 标准曲线绘制及样品测定

取 50 mL 比色管 8 支,依次加入 0.1,0.25,0.5,0.75,1.0,1.25,1.5,1.75 mL 的 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的铝标准溶液,另取 1.0 mL 样品消解液于 50 mL 比色管中,再滴加 0.5 mL 氨水(1+6),向各管加纯水至 25 mL。再依次向各管加入 CAS 溶液 2 mL,OP 溶液 1 mL,CPB 溶液 2 mL 及六次甲基四胺缓冲液 5 mL,用水定容至刻度,混匀,放置 35 min 后用 1 cm 比色杯在波长 595 nm 处以试剂空白为参比测吸光度,绘制标准曲线并根据回归方程计算样品中铝的含量。

1.2.3 反应液的颜色测定

取反应液 5 mL 于色差计比色杯测定其 CIE LAB 色空间值, L^* 表示颜色的明度, a^* 正值表示偏红,负值表示偏绿; b^* 正值表示偏黄,负值表示偏蓝。

2 结果与分析

2.1 铬天青 S 反应体系的确定

为确定比色分析中铬天青 S 溶液的用量,配制铝标准溶液浓度梯度为 2.5~17.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$,在 pH 值 6.5、波长 640 nm 条件下进行比色分析,结果如图 1 所示。分析表明,铬天青 S 的加入量对检测范围影响明显,增大铬天青 S 加入量,可以拓宽其线性范围,加入 0.75 mg/mL 铬天青 S 时,只能检出 7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Al^{3+} ,而 CAS 加入量为 2 mg 时,可检出 Al^{3+} 达 17.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。这是因为铬天青 S 浓度过低时,造成 Al^{3+} 反应底物缺乏,从而影响其检测的线性范围。水产品卫生标准规定海蜇中明矾的含量为 1.2%~2.2%,折算成反应体系中 Al^{3+} 含量为 7~12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$,2 mg CAS 用量即可满足要求,因此确定加入 1 mg/mL CAS 溶液 2.0 mL。

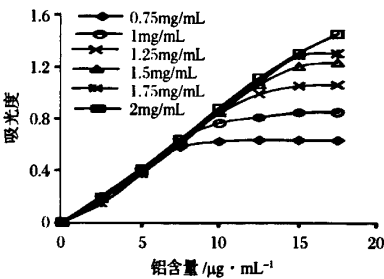


图 1 不同 CAS 用量的吸光值曲线

2.2 pH 值对反应体系的影响

实验证明 pH 对反应体系的影响较大,在 Al^{3+} 浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的条件下,改变反应体系的 pH 值,测定其吸收峰值的变化,用色差计测定反应体系的色差值 L^*, a^*, b^* ,同时通过感官描述反应体系的颜色变化,分析 pH 对检测结果的影响,结果见表 1,图 2。

表 1 不同 pH 反应体系的表现变化

pH 值	色差值			颜色	摩尔吸光系数 (λ_{640}) / $L \cdot (\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}$
	L^*	a^*	b^*		
2.5	33.02	31.4	-4.43	紫红色	9.45×10^4
3.5	28.34	-12.31	-4.03	紫红色	1.59×10^5
4.5	38.09	-27.86	-3.31	蓝绿色	1.73×10^6
5.5	38.63	-22.86	-0.02	蓝绿色	2.07×10^6
6.5	39.73	-11.56	16.06	蓝绿色	2.30×10^6
7.5	51.47	-0.9	28.74	黄绿色	1.24×10^5

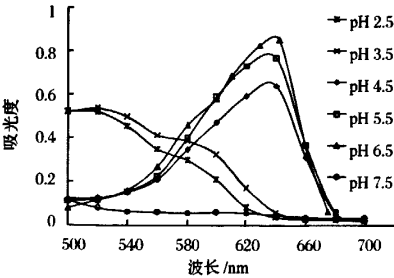


图 2 不同 pH 值条件的吸收曲线

结果表明,pH 为 4.5~6.5 时,反应体系在 640 nm 存在明显的吸收峰,摩尔吸光系数(λ_{640})为 2.30×10^6 ,反应体系透明,体系呈蓝绿色,红色值 a^* 较低,为 -11.56~27.86。pH 过高或过低,反应体系在 500~700 nm 都没有明显的吸收峰,总体趋势为 pH 越高,体系的亮度值 L^* 越大,黄色值 b^* 越高,颜色由紫红向黄绿色转变,升高或降低体系的 pH 都会降低体系的摩尔吸光系数。因此该反应体系的适宜 pH 范围在 pH 4.5~6.5,其中以 pH 6.5 条件下体

系的灵敏度最高。根据分布系数计算式可计算出,在 pH 6.5 条件下, CAS 主要以 HR^{3-} 的形态和铝离子以 $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ 和 $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ 参与反应。而反应体系 pH 变化对体系离子状态影响较大,因此控制体系的 pH 是本方法的关键,可提供该 pH 条件的缓冲液有较多的选择,如乙二胺缓冲液、六次甲基四胺为缓冲液和乙酸-乙酸钠缓冲液等。乙二胺缓冲液呈棕黄色,会引起比色分析的空白值升高;乙酸-乙酸钠缓冲液在 pH 6.5 时的缓冲能力较弱,而且带金属离子有可能会因为金属参与或影响反应体系的配比,从而引起吸收峰的迁移。本法采用 pH 6.5 六次甲基四胺缓冲液,该缓冲液具有无色,配制方法简单方便,易于保存的优点。

2.3 比色波长的确定

波长对比色分析的灵敏度、准确度和选择性都有较大的影响,由图 3 可以看出,不同浓度的样品从 500 nm 至 640 nm 波段吸光值随波长的增加而增加,并在 640 nm 存在明显的吸收峰,然后急剧下降,以 595 nm 和 640 nm 为检测波长制定标准曲线比较(图 3), Al^{3+} 浓度为 0.1~17.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内,595 nm 与 640 nm 对应的标准曲线均具有良好的线性。当铝离子含量达到 17.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,640 nm 处的吸光值已达 1.5,而 595 nm 处的吸光值还没达 1。普通分光光度计当吸光度 > 1.00 时,读数即不易准确,会有较严重的漂移,而高级的分光光度计对吸光度量程扩展到 0~2.1。为使方法既有良好的通用性又具备较高的灵敏度,本方法建议以 595 nm 作为检测波长。

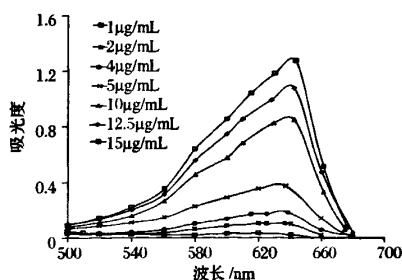


图 3 Al^{3+} 显色体系波长扫描图

2.4 显色时间和温度的影响

Al^{3+} 浓度在 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时反应体系吸光值随反应时间延长的变化曲线如图 5 所示。可见 2 种浓度反应体系 35 min 之后吸光度值达到稳定,反应时间 35 min 后进行比色检测即可获得良好结果。不同反应温度的对体系显色反应的影响如图 6 所示。结果表明,温度对反应体系影响较为显著,2

种铝离子浓度反应体系在室温(25~30℃)与 40℃ 显色曲线基本重合,而当温度达到 70℃ 时,吸光值呈下降趋势。提高反应温度不能使反应迅速达到平衡,反而严重影响显色反应,反应温度越高反应受抑越明显。

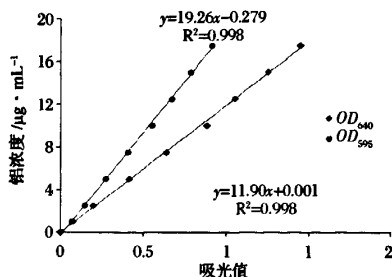


图 4 595 nm 和 640 nm 的吸收标准曲线

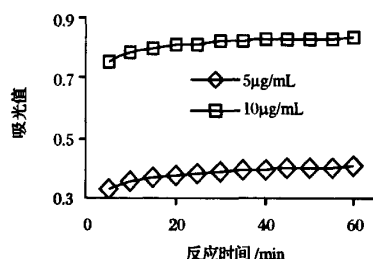


图 5 不同 Al^{3+} 浓度显色反应时间吸收曲线

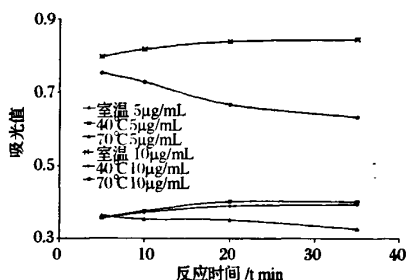


图 6 不同温度的显色反应时间吸收曲线

2.5 方法评价

2.5.1 检测范围及检测限

在 595 nm 处测定浓度在 0.1~17.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时的标准液的吸光值,进行回归分析(图 3),获得标准曲线图,其线性回归方程为: $y = 19.26x - 0.279$,相关系数为 0.998。本方法的线性范围可满足我国水产品卫生标准规定的海蜇中明矾的含量测定。根据检测限定义计算本方法的检测限^[17],得出检测限为 12.4 mg/kg 铝,0.02% 明矾,从检测范围及检测限分析,该法可满足海蜇产品实际情况的检测要求。

2.5.2 准确度及精密度

通过加标回收实验检验本方法的准确性,分别在 1g 海蜇样品中加入浓度为 10 mg/mL 明矾溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL。按上述确定的方法测定总明矾含量,各试验重复 3 次计算回收率(表 2),样品加标回收率介于 98.69%~102.08%,平均回收率为 99.81%,表明本方法的精密度符合分析的要求。

表 2 样品加标回收率

样品加标量/%	空白	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
明矾含量/%	1.45	1.6	1.66	1.77	1.87	2.04
	1.46	1.48	1.66	1.72	1.85	1.94
	1.37	1.44	1.56	1.64	1.72	1.92
均值/%	1.43	1.51	1.63	1.71	1.81	1.97
回收率/%	—	98.69	100.00	99.03	99.27	102.08
标准偏差 (SD×10 ⁻²)	4.93	8.33	5.77	6.56	8.14	6.43
相对标准偏差/%	3.45	5.51	3.54	3.83	4.50	3.26

2.5.3 方法比较

现行明矾测定方法主要有滴定法、比色法、电感耦合等离子体发射光谱法^[18,19]。本实验在相同前处理的情况下对本法、现行食品中明矾测定标准方法及通用的电感耦合等离子体发射光谱法的测定结果进行比较,如表 3 所示。本方法测定结果与电感耦合等离子体发射光谱法差异不明显($P > 0.05$),与现行标准测定结果差异明显($P < 0.05$),出现上述情况的可能原因是水产行业标准 SC/T 3210-2001 采用水煮后滴定方法,水煮处理未能有效地将样品中的铝离子提取出来,导致检测结果偏低。本法测定结果与电感耦合等离子体发射光谱法一致,表明该法的准确度精确,有效地简化了实验及降低检测成本。

表 3 不同方法测定海蜇中明矾含量的比较 %

检测方法	本方法	水产行业标准 SC/T 3210-2001	电感耦合等离 子体发射光谱
即食海蜇	1.62±0.12 ^a	0.52±0.03 ^b	1.63±0.02 ^a
盐渍海蜇皮	1.82±0.04 ^a	0.63±0.01 ^b	1.81±0.04 ^a
盐渍海蜇头	1.57±0.01 ^a	0.47±0.04 ^b	1.53±0.10 ^a

注:为平均值±标准差($n=5$),具有不同字母的平均值之间统计差异显著($P < 0.05$)。

3 小结

3.1 微波消解的优点

国标法采用湿法消解,消耗试剂多,却难以彻底消解样品中的有机成分,且消解液中残留的高氯酸会引起铬天青 S 显色失败。本文采用微波消解具有试剂成本少,消解彻底完全,消解时间短,空白低的优点,对比色反应干扰少;既省时省力,简化操作,又减少了强酸给操作人员带来的危害及反复处理带来的

误差,微波消解法已逐步取代传统方法成为现代实验室的主要消解方法。但因微波处理样品量需求较少,通常只要 1~2 g 的样品,本法操作中先将海蜇样品匀浆后取样,有效解决取样均匀性问题。

3.2 反应体系的研究

本法采用 Al-CAS-CPB-OP 四元络合物体系测定海蜇中的明矾含量,探索了 CAS 的用量、反应的最佳 pH 及反应的波长等条件的优化。Al³⁺与 CAS、CPB、OP 的在反应体系中按固定配合比组成^[22],本法在保证 CPB 和 OP 两长碳链的有机表面活性剂足量条件下,增大 CAS 加入量有效拓宽其对 Al³⁺的检测范围。研究表明 CAS 比色法对 pH 要求较苛刻,本法采用氨水预先中和消化所用的酸,再加入足量的缓冲液,保障反应体系具有稳定的 pH 条件。

3.3 方法的优越性比较

目前明矾主要的检测方法有原子吸收分光光度法,铬天青 S 比色法,乙二胺四乙酸(EDTA)滴定法。采用仪器分析技术测定金属元素含量近年来取得了长足的进步,如原子吸收光谱法、原子荧光法以及发射光谱法等,发射光谱法测定微量铝的报道较多^[21]。仪器分析方法具有灵敏度高、选择性好,对微量铝测定更有优势,但这些方法都需要大型的分析仪器支持,不适合我国大部分海蜇生产厂家的日常检测;滴定法虽然无需任何大型仪器,操作方便,但存在检测限偏高的问题。我国食品中铝含量测定采用的测定标准为国标 GB/T 5009.182-2003《面制食品中铝的测定》在检测范围和显色条件存在一定的不足之处^[20]。本研究采用微波消解样品,铬天青四元配合体系测定海蜇产品中的明矾含量,结果令人满意,更加适合检测中心及加工厂大批量样品的检测试验,有利于海蜇产品的食用卫生监管工作的开展。

参 考 文 献

1 洪惠馨. 水母和海蜇[J]. 生物学通报,2002,37(2):13~16
2 姜凤吾,张玉顺. 中国海洋药物辞典[M]. 北京:海洋出版社,1994. 269
3 Hsieh YH, Leong FM Rudloe J. Jellyfish as food [J]. Hydrobiologia,2001,451(1~3):11~17
4 Hsieh YH, Rudloe P, Potential J. of utilizing jellyfish as food in Western countries [J]. Trends Food Sci Tech, 1994(5):225~229
5 Hsieh YHP, Leong FM, Barnes KW. Inorganic constituents in fresh and processed Cannonball jellyfish (*Stomolo-*

- phusmeleagris)[J]. J Agric Food Chem, 1996, 44: 3 117~3 119
- 6 Huang Y W. Cannonball jellyfish, *Stomolophus meleagris* as a food resource [J]. J Food Sci, 1998, 53: 341~343
- 7 Kimura, Miura S S, Park Y H, Collagen as the major edible component of jellyfish (*Stomolophus nomurai*)[J]. J Food Sci, 1983, 48: 1 758~1 760
- 8 张锡佳, 魏潇, 刘政海, 等. 海蜇的加工技术与方法[J]. 齐鲁渔业, 2007(3): 46~47
- 9 杨贤庆, 李来好, 吴燕燕, 等. 即食海蜇丝加工技术及其调味配方的研究[J]. 南方水产, 2005, (2): 46~50
- 10 张兵. 铝的毒性[J]. 中国食品卫生杂志, 1998, 10(4): 31 31~34
- 11 NY 5171-2002, 无公害食品 海蜇[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002
- 12 SC/T 3210-2001, 盐渍海蜇皮和盐渍海蜇头[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001
- 13 GB/T 5009. 182-2003, 面制食品中铝的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003
- 14 杨晓秋. 铝-铬天青 S-溴代十六烷基吡啶三元配合物结构的研究[J]. 辽宁大学学报: 自然科学版 1995, 22(3): 11~15
- 15 李英杰, 孙冯超. Al-CAS- β -CD-CTMAB 四元络合体系光度法测定水中微量铝[J]. 理化检验(化学分册), 2006, 42(2): 131~132
- 16 郑新灵, 闫永胜. 四元配合物吸光光度法测定铝的研究[J]. 理化检验(化学分册), 1999, 年 35(7): 315~316
- 17 王叔淳. 食品卫生检验技术手册(第三版)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002. 93~95
- 18 杨雪娇, 张志伟, 黄伟, 等. 微波消解-电感耦合等离子体原子发射光谱仪测定面制食品中的铝[J]. 食品工业科技, 2007, 28(9): 206~208
- 19 刘希光, 于华华, 李学刚, 等. 海蜇中常量和微量元素的测定[J]. 海洋学报, 28(2): 151~155
- 20 曹丽军, 严继东. 微波消解-铬天青 S 光度法检测食品中铝[J]. 浙江预防医学, 2007, 19(11): 95~95
- 21 张统, 李学美. Al-CAS-OP-CPB 四元体系光度法测定碳钢低合金钢中微量铝[J]. 理化检验(化学分册), 1991, 27(3): 150~151

Determination of Aluminum Residue in Jellyfish Product with Microwave Digestion- CAS Spectrophotometer

Cen Jianwei, Li Laihao, Yang Xianqing, Hao Shuxian, Shi Hong, Zhou Wanjun, Qi Bo, Ma Haixia

(South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China)

ABSTRACT Aluminum residue was involved when processing jellyfish pickled with the salt and alum to dehydrate and improve the product quality. Therefore, it's of great necessary to fortify monitoring alum residue in jellyfish products for y safety reason. After treated by microwave digester, aluminum in the sample solution react with Chrome azurol S to form a stable quaternary complex in a hexamethylenetetramine buffer medium of ph 6. 7 in the presence of Cetylpyridinium bromide and Octylphenol Polyoxyethylene Ether. At 595nm wavelength, BeerS law was obeyed in the concentration range of 0. 1~17. 5 μ g/mL of aluminum. The precision and accuracy of the method was tested. A recovery of 98. 69%~102. 08% was obtained for spiked samples. The determination limit was 0. 02% alum, the equivalent results were observed in the comparisons with ICP-OES method. The accuracy and precision were improved by microwave digestion and chromogenic reaction of quaternary complex. It is a better alum determination method for jellyfish products.

Key words jellyfish products, alum, microwave digestion, spectrophotometry

欧盟采纳关于一些能量饮料中常用的 2 种成分的意见

欧盟食品安全局采纳关于能量饮料中常用的 2 种成分(牛磺酸和 D-葡萄糖内酯)的科学意见。应欧盟委员会的要求, 欧盟食品安全局食品添加剂及营养源专家小组(ANS)认为, 有规律的饮用能量饮料而暴露于牛磺酸和 D-葡萄糖内酯的量没有安全方面的顾虑。该项评估是继 2003 年欧盟前食品科学委员会对这 2 种物质评估后又一次进行的评估。