

改良甲亚胺 H 酸法快速测定豆奶中硼砂

郑鸿雁, 黄翠萍 (吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130118)

摘要 [目的]建立快速测定豆奶中硼砂的新方法。[方法]以市售豆奶为样品,经碱化、碳化、灰化,以 5 ml 5% HCl 溶解其灰分,使硼砂转化为硼酸根离子,用甲亚胺 H 酸作显色剂,在波长 420 nm 处测定其吸光值。[结果]试验表明,样品中硼酸浓度在 0~0.500 mg/ml 线性良好,线性相关系数为 0.999 1,其加标回收率为 97.04%~99.58%,相对标准偏差(RSD)为 1.53%~3.69%,最低检出限浓度 1.83 mg/kg。与姜黄素分光光度法比较,差异无显著性($t=1.800, P>0.05$)。[结论]该法所需试验设备简单,避免了繁琐的浓缩步骤,节约了大量乙醇,灵敏度及准确性均能满足分析要求,适用于大批量豆奶中硼砂的检测。

关键词 硼砂;甲亚胺 H 酸;分光光度法

中图分类号 S188+.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)27-11153-03

Rapid Determination for Borax in Soymilk by Improved Azomethine H Acid Method

ZHENG Hong-yan et al (College of Food Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract [Objective] To establish a new method for rapid determination of borax in soymilk. [Method] The commercially available soybean milk were mercerized, carbided, ashed, and then the ash was dissolved with 5 ml 5% HCl, borax were converted into the borate ion. With azomethine H acid as chromogenic agent, the absorbance value was determined at wavelength 420 nm. [Result] The results showed that the linearity is good when boric acid concentration in the sample is 0~0.500 mg/ml. The linear correlation coefficient is 0.999 1, the recovery is 97.04%~99.58%, and the RSD is 1.53%~3.69%, the lowest detection limit concentration is 1.83 mg/kg. Compared with curcumin spectrophotometry, the difference was not significant ($t=1.800, P>0.05$). [Conclusion] The law required experimental equipment is simple, avoids the tedious enrichment step, saves a large amount of ethanol, the sensitivity and accuracy can meet the requirement analysis, and is applicable to large quantities of soy milk in borax detection.

Key words Borax; Azomethine H acid; Spectrophotometry

豆奶中含有丰富的蛋白质、脂肪、矿物质和多种维生素,可防止皮肤干燥及暗沉,也可补充丰富的钙质^[1],在乳制品中营养价值颇高。硼砂具有能够改善食品保水性和保鲜防腐功能^[2],但毒性较强,成人致死量为 15~20 g,儿童致死量为 5 g,婴儿致死量为 2~3 g^[3]。许多不法商贩为了谋求商业利益,在豆奶中非法添加硼砂,严重危害消费者身体健康。为了保障食品安全,《食品安全法》和《食品添加剂卫生管理办法》^[4]都明令禁止在食品中添加硼砂。有关食品中硼砂的测定方法有滴定法^[5]、分光光度法^[6]、旋光法^[7]、色谱法^[8]、荧光法^[9]、质谱法、原子发射光谱法、火焰原子吸收法等。国标中采用姜黄素分光光度法^[10],此方法浓缩步骤较难掌握,操作繁琐,不适用于大批量样品检测。传统甲亚胺 H 酸法操作简单,但该法显色时间较长,需 1.5~6.0 h。Harp 通过改良传统的甲亚胺 H 法,使显色时间缩短为 15 min,用来测定水中硼砂含量^[11]。但是用改良甲亚胺 H 酸法快速测定豆奶中硼砂含量还未见报道。笔者通过控制反应过程的 pH 来缩短席夫碱形成时间,当 pH 7.5~7.8 范围,温度 25℃时,甲亚胺 H 酸水解为 8-氨基-1-萘-3,6-二磺酸和水杨醛,然后样品中硼酸与水杨醛缩合形成黄色配合物席夫碱,该配合物在波长 420 nm 处有最大吸光值,该反应过程在 15 min 完成。该方法准确性好,灵敏度高,设备简单,能实现快速准确测定硼砂含量,为豆奶等食品中硼砂快速检测提供了一种新型分析技术,具有严格的理论基础和推广价值。

1 材料与方 法

1.1 材料 被测样品:豆奶,购自长春市超市。主要试剂:乙酰胺、乙二胺四乙酸、抗坏血酸、硼酸、NaOH、碳酸钠、姜黄、无水乙醇、盐酸、乙酸,均为国产分析纯,购自北京化工厂;甲亚胺 H 酸试剂、水杨醛试剂,购自上海笛柏有限公司。主要仪器:UV1700 型分光光度计,日本岛津;FE20 型实验室 pH 计,瑞士梅特勒-托利多集团;电子分析天平,梅特勒-托利多;TL06/09 马弗炉,卡博莱特;JR-TFG-G3 通风厨,利科;SSX8-DK-S12 数控恒温水浴锅,博奥。

1.2 方 法

1.2.1 姜黄素分光光度法(方法 1)。称取样品 3.000 0 g 于瓷坩埚中,加入 4 ml 40 g/L 碳酸钠溶液润湿后,炭化至无烟,转入马弗炉中 550℃灰化 8 h,放置在干燥器中冷却到室温,加入 5 ml 5% HCl 溶解,过滤,将滤液转移至 50 ml 聚丙烯管中,加水至 25 ml。取 1.00 ml 样液于 100 ml 瓷蒸发皿上,加入 3.50 ml 姜黄素草酸溶液,混合均匀后,置于 60℃恒温水浴锅上,蒸干后继续维持 15 min,置于干燥器中冷却,用 95% 乙醇溶解,转移至 50 ml 聚丙烯管中,加 95% 乙醇至 25 ml。其他步骤按 GB/T 8538-2008 姜黄素分光光度法进行样品测定^[12]。

1.2.2 改良甲亚胺 H 酸分光光度法(方法 2)。

1.2.2.1 样品预处理。称取样品 3.000 0 g 于瓷坩埚中,加入 1 mol/L NaOH 调节 pH 为 7.8^[13],炭化至无烟,转入马弗炉中 525℃灰化 8 h,加入 5 ml 5% HCl 溶解,转移至 50 ml 聚丙烯管中,加水至 25 ml,摇匀待测。

1.2.2.2 标准曲线的绘制。2 组分别吸取 0.025 mg/ml 硼酸溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml 于 50 ml 聚丙烯管中,加入水杨醛 10.0 ml 和显色剂 2.0 ml,用 1 mol/L NaOH 调节

基金项目 吉林省卫生厅课题。

作者简介 郑鸿雁(1968-),女,吉林白城人,副教授,硕士,从事功能食品、微生物菌种筛选及发酵工艺研究,E-mail:570148310@qq.com。

收稿日期 2013-07-11

pH为7.8,加入pH7.8乙酸-乙酰胺缓冲溶液2.0 ml,然后加水至25 ml,摇匀。一组置于4℃^[14],另一组置于室温下^[15],均放置15 min后^[16],进行全波长扫描,然后测定吸光值。以硼酸浓度对吸光值绘制标准曲线。

1.2.2.3 样品测定。取样品溶液5.0 ml于50 ml聚丙烯管中,步骤同“1.2.2.2”,加水至25 ml,摇匀,室温下放置15 min后,在420 nm处测定吸光值。试样中硼砂含量按下式计算:

$$C = 1.54 \times 5 \times \frac{A \times V_1}{M}$$

式中,C,样品中硼砂含量(mg/kg);A,标准曲线读取的硼酸浓度($\mu\text{g/ml}$);M,样品质量(g); V_1 ,样品处理液的总体积(ml);1.54,硼酸与硼砂的转换系数。

2 结果与分析

2.1 检测波长的确定 在pH7.8时,甲亚胺H酸水解为8-氨基-1-萘-3,6-二磺酸和水杨醛,样品中硼酸与水杨醛缩合形成席夫碱。对其进行全波长扫描,结果表明,在波长420 nm处有最高吸收峰,所以该试验测定波长选择420 nm。

2.2 温度的确定 该试验探究冰水浴(4℃)和室温(25℃)下对配合物吸光值的影响。结果表明,随着温度降低,吸光值升高。但在试验操作中发现,冰水浴后,比色皿壁会凝结水气,导致吸光值不稳定。因此,反应温度应与测定温度

保持一致。所以该试验选择室温下测定吸光值。

图1表明,随着显色时间延长,吸光值升高,在显色时间15 min时,吸光值达到最大,为0.3,且吸光值2 h内不变。

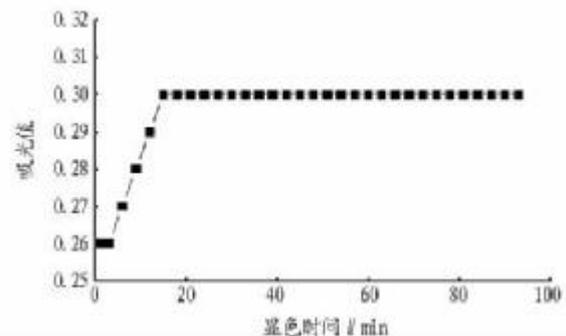


图1 室温下显色时间对测定的影响

2.3 姜黄素分光光度法(方法1)

2.3.1 硼酸标准曲线。试验表明,标准溶液在0~0.5 mg/ml范围内与吸光值有良好的线性关系。其回归方程为: $y = 0.0307x + 0.0023$,相关系数 $r = 0.9991$,检出限为3.57 mg/kg。

2.3.2 精密度试验。由表1可知,样品测定平均值为27.38~29.03 mg/kg,RSD在2.56%~3.44%,表明此法具有较好的精密度。

表1 精密度试验结果

样品	测定次数//mg/kg							平均值 mg/kg	相对偏差	RSD %
	1	2	3	4	5	6	7			
1	27.90	28.90	29.34	29.97	29.88	27.65	28.44	29.03	0.86	2.97
2	27.45	26.13	28.09	27.49	28.01	27.88	26.90	27.42	0.70	2.56
3	26.00	26.56	27.32	28.19	27.94	26.99	28.65	27.38	0.94	3.44

2.3.3 回收率试验。由表2可以看出,样品平均回收率为96.91%~98.15%,满足试验分析要求。

表2 回收率试验结果

样品	加标前测定值	加标后测定值	加标量	平均回收率
	$\mu\text{g/份样品}$	$\mu\text{g/份样品}$	$\mu\text{g/份样品}$	%
1	28.92	77.46	50	98.15
2	27.56	75.90	50	97.86
3	27.38	74.99	50	96.91

2.4 改良甲亚胺H酸分光光度法(方法2)

2.4.1 硼酸标准曲线。试验表明,标准溶液在0~0.5

mg/ml范围内与吸光值有良好的线性关系,其回归方程为 $y = 0.0311x + 0.0010$,相关系数 $r = 0.9991$,检出限为1.83 mg/kg。

2.4.2 精密度试验。表3显示了不同食品中硼含量不一样,这是因为植物对土壤中硼吸收能力不同^[17]。其中样品1平均硼含量最高,为28.79 mg/kg;样品2平均硼含量最低,为27.68 mg/kg。RSD为2.61%~2.92%。此方法比姜黄素分光光度法测定结果更精确,表明该方法具有良好的精密度。

2.4.3 回收率试验。表4表明,在添加量50 μg 时,样品1

表3 精密度试验结果

样品	测定次数//mg/kg							平均值 mg/kg	相对偏差	RSD %
	1	2	3	4	5	6	7			
1	27.53	28.99	29.37	29.89	28.91	27.88	28.99	28.79	0.78	2.70
2	27.58	26.37	28.90	27.27	28.34	27.88	27.45	27.68	0.81	2.92
3	26.70	26.98	27.56	28.47	27.90	27.79	28.68	27.73	0.72	2.61

回收率达到最大,为99.58%。这种趋势与姜黄素分光光度法测定的相一致。但是此方法测定的样品回收率普遍高于姜黄素分光光度法,这可能是因为采用姜黄素分光光度法时浓缩不彻底,样品没有被充分蒸干,硼砂没有完全参加反应,

因此回收率偏低。该方法回收率范围在97.04%~99.58%,表明此测定硼砂方法具有良好的准确性,适用于豆奶中硼砂含量的测定。

表 4 回收率试验结果

样品	加标前测定值	加标后测定值	加标量	平均回收率
	μg/份样品	μg/份样品	μg/份样品	%
1	29.12	78.79	50	99.58
2	27.78	76.98	50	98.97
3	27.73	75.43	50	97.04

2.5 统计学分析 对 3 种食品分别用上述 2 种方法进行硼砂含量测定, $|t| = 1.800 < t_{0.05}(6) = 2.447$, 故 $P > 0.05$, 说明 2 种方法差异无显著性。

2.6 方法应用 采用改良的甲亚胺 H 酸分光光度法进行样品中硼砂含量的测定。由表 5 可以看出, 豆奶中硼含量普遍较高, 这是因为豆类植物更易富集土壤中的硼^[18], 这与国外相关报道相一致。样品 13 硼砂含量最高, 为 30.65 mg/kg; 样品 9 硼砂含量最低, 为 27.52 mg/kg。按试验方法测定, *RSD* 在 1.53% ~ 3.69%, 表明此测定硼砂方法具有良好的准确性, 适用于日常食品中硼砂含量的测定。

表 5 豆奶中硼砂含量

样品	测定次数//mg/kg			平均值 mg/kg	相对偏差	<i>RSD</i> %
	1	2	3			
1	26.97	27.79	28.84	27.81	1.03	3.69
2	27.46	28.94	29.36	28.59	1.00	3.49
3	26.90	27.56	28.29	27.58	0.70	2.52
4	27.79	28.90	29.30	28.66	0.78	2.73
5	28.46	28.70	27.23	28.13	0.79	2.80
6	27.77	28.73	29.49	28.66	0.86	3.01
7	27.33	28.94	27.80	28.02	0.83	2.95
8	28.44	28.76	27.33	28.51	0.98	3.27
9	28.30	27.42	26.83	27.52	0.74	2.69
10	28.44	29.30	30.31	29.35	0.94	3.19
11	29.79	28.67	30.23	29.56	0.80	2.72
12	29.65	30.23	30.56	30.15	0.46	1.53
13	30.22	30.31	31.43	30.65	0.67	2.20
14	29.55	29.79	30.72	30.02	0.62	2.06

3 结论

试验中分别采用改良甲亚胺 H 酸和姜黄素分光光度法对样品进行硼砂测定, 经统计学分析, 差异无显著性。2 种方

(上接第 11152 页)

后又升高; 单宁主发酵期间呈上升趋势由 4.50 g/L 上升至 6.19 g/L, 陈酿期间略有降低, 陈酿 180 d 后单宁含量稳定在 5.58 g/L; 总酚在主发酵期间呈缓慢下降趋势, 由 1.15 g/L 下降至 0.92 g/L, 陈酿 180 d 后总酚含量为 0.88 g/L; 花青素在发酵前 2 d 迅速下降, 由 258.7 g/L 下降至 109.8 g/L, 第 3 天起下降速度变慢, 主发酵结束时含量为 45.9 g/L, 陈酿期间花青素含量呈缓慢下降趋势, 陈酿 180 d 后花青素含量为 28.60 g/L。

参考文献

- [1] 肖培根. 新编中药志: 第二卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [2] 孙长清, 邵小明, 王黎明, 等. 悬钩子属植物的开发利用概述[J]. 广西

法的精密度与准确度均能满足试验要求。但改良甲亚胺 H 酸分光光度法可以免去繁琐的浓缩步骤, 缩短显色时间。该试验利用样品中硼酸和甲亚胺 H 酸缩合成席夫碱的机理, 其在波长 420 nm 处有最大吸光值以检测食品中硼砂的含量。该方法回收率为 97.04% ~ 99.58%, 最低检出限浓度 1.83 mg/kg。结果表明, 改良甲亚胺 H 酸分光光度法比姜黄素分光光度法操作简便, 易掌握, 精密度更好, 准确度更高, 是测定食品中硼砂较为理想、简便的方法。

参考文献

- [1] TURKEZ H, GEYIKOGLU F, TATAR A, et al. Effects of some boron compounds on peripheral human blood[J]. Z Naturforsch, 2007, 62: 889 - 896.
- [2] 李紫薇, 陶冠红, 高红艳. 流动注射分光光度法测定食品中的微量硼[J]. 食品研究与开发, 2008(05): 99 - 101.
- [3] SCANDALIOS J G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses[J]. Braz J Med Biol Res, 2005, 38: 995 - 1014.
- [4] O' DRISCOLL M. Borates: the Turk of the town[J]. Industrial Miner, 2001, 402: 30 - 45.
- [5] 洪祥奇. 食品中硼砂的定性分析方法[J]. 现代预防医学, 2007(15): 145.
- [6] 巢强国, 周泽林, 葛宇, 等. 中华人民共和国国家标准, GB/T 21918 - 2008. 食品中硼酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 21918 - 2008 食品中硼酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [8] 张晓凤, 项锦欣, 申世梅, 等. 硼砂检测方法[J]. 重庆工学院学报: 自然科学版, 2008(9): 100 - 103.
- [9] 樊宏, 朱匡纪, 曹丽军, 等. 冷冻食品中硼酸及硼砂的直接比色测定方法探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2009(9): 56 - 57.
- [10] 董学芝, 席会平, 胡卫平, 等. 荧光淬灭法测定食品中的硼砂残留量[J]. 分析实验室, 2008, 27(4): 84 - 86.
- [11] HARP D L. Modifications to the azomethine-Hmethod for determining boron in water [J]. Analytica Chimica Acta, 1997, 346: 373 - 379.
- [12] 丁秀英, 胡克强, 钟冠山, 等. 中华人民共和国国家标准, GB2717 - 2003 酱油卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [13] 陈艳, 李红光. 食品中硼砂的反相高效液相色谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2007, 24(12): 994.
- [14] 郑彬, 郑红梅. 分光光度法测定食品中硼砂[J]. 现代预防医学, 2004, 3(3): 446.
- [15] 黄丽, 刘成梅, 罗舜菁, 等. 硼砂的危害及检测方法研究进展[J]. 江西食品工业, 2011(2): 46 - 48.
- [16] 郝凤桐. 食品中为什么不能加硼砂[J]. 饮食科学, 2011(10): 10.
- [17] 祖辛. 姜黄比色法检测硼砂方法失效原因的分析与探讨[J]. 计量与测试技术, 2010, 37(7): 17 - 19.
- [18] 张晓凤, 项锦欣, 申世梅, 等. 硼砂检测方法[J]. 重庆工学院学报, 2008, 22(9): 94 - 97.

植物, 2004, 2(6): 578 - 582.

- [3] 刘春菊, 宣景宏, 孟宪军. 树莓的营养价值及开发前景[J]. 北方果树, 2004(S1): 57 - 58.
- [4] 李亚东, 吴林, 张志东. 我国树莓产业化发展的探讨[J]. 中国食物与营养, 2001(6): 13 - 15.
- [5] 刘建华, 张志军, 李淑芳. 黑莓中功效成分的开发浅论[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 370 - 373.
- [6] 马维成, 高学玲, 葛自兵. 黑莓果酒酿造工艺研究[J]. 安徽农业大学学报, 2010, 37(3): 483 - 487.
- [7] 路新华, 鲁小明. 果酒及饮料中单宁含量测定[J]. 中国卫生检验杂志, 1997, 7(5): 307.
- [8] 李静, 晁继云, 王孝娣, 等. Folin-Ciocalteus 法测定葡萄和葡萄酒中的总多酚[J]. 中国南方果树, 2007, 36(6): 86 - 87.
- [9] 杨兆艳. pH 示差法测定桑椹红色素中花青素含量的研究[J]. 食品科技, 2007(4): 219 - 221.