

动植物油脂中丙二醛测定方法的优化

赵永锋, 吴玉杰*, 甘国栋, 吕春秋, 欧玉玲

(广西出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 南宁 530021)

摘要: **目的** 对 GB/T 5009.181-2003 和 GB/T 8937-2006 中食用动植物油脂中丙二醛的测定方法进行优化。**方法** 样品采用三氯乙酸混合溶液经 50 °C 恒温水浴震荡提取, 与硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)作用生成粉红色化合物, 在 532 nm 处采用分光光度计法测定。**结果** 丙二醛在 0~2.5 mg/L 范围内线性关系良好, $r=0.9995$, 方法检出限为 0.1 mg/kg, 回收率在 88.0%~100.0%之间, 日内精密度和日间精密度小于 6.09 %。**结论** 该方法扩大了检测范围, 操作简便准确, 灵敏度高, 可适用于动植物油脂中丙二醛的测定。**关键词:** 动物油脂; 植物油脂; 丙二醛; 测定方法; 优化

Amendment of method for determination of propyldialdehyde in animal and vegetable oils

ZHAO Yong-Feng, WU Yu-Jie*, GAN Guo-Dong, LV Chun-Qiu, OU Yu-Ling

(Technology Center of Guangxi Entry-Exit Inspection & Quarantine Bureau, Nanning 530021, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the method of GB/T 5009.181-2003 and GB/T 8937-2006 for determination of propyldialdehyde in animal and vegetable oils. **Methods** Samples were extracted with trichloroacetic acid solvent at 50 °C by constant temperature water bath oscillators, the filtered solution was derivated by thiobarbituric acid for spectrophotometric test at a wavelength of 532 nm. **Results** Propyldialdehyde had a good linearity in the range of 0~2.5 mg/L with the correlation coefficient of 0.9995. The limit of detection was 0.1 mg/kg, and the recovery was in the range of 88.0%~100.0% with inter-day precision and within-day precision less than 6.09%. **Conclusion** The improved method expands the scope of tests, which is more simple, rapid, accurate, and suitable for the determination of propyldialdehyde in animal and vegetable oils.

KEY WORDS: animal oil; vegetable oils; propyldialdehyde; determination method; optimization

1 引言

丙二醛是动植物体内自由基作用于脂质发生过氧化反应的产物, 会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合, 具有细胞毒性, 同时有潜在的致癌性^[1,2]。因此, 我国对食用动物油脂中丙二醛有限量规定^[3], 同时规定了猪油中丙二醛的测定方法^[4], 但对于其他动物和植物油脂尚未

建立相关的标准检测方法。

国家标准 GB/T 5009.181-2003^[4]和 GB/T 8937-2006^[5]附录 A 方法中丙二醛的检验方法是针对猪油样品采用分光光度法, 但由于该法操作比较繁琐, 而且适用范围窄, 不适用于日常大批量检测。本研究在参考国内外相关文献的基础上^[6-11], 对原国家标准测定方法中样品前处理和计算做了优化和改进, 使丙二醛的测定更为简便、准确。

基金项目: 2012 食品安全国家标准制修订计划项目(spaq-2012-66)、广西重大专项资金资助(桂科重 14121003-4-3)

Fund: National Food Safety Standard for Revision Project of 2012(spaq-2012-66)and the Guangxi Key Project (14121003-4-3)

*通讯作者: 吴玉杰, 博士, 高级工程师, 主要从事食品安全研究。E-mail: wyjhappy_2001@163.com

*Corresponding author: WU Yu-Jie, PhD, Technology Center of Guangxi Entry-Exit Inspection & Quarantine Bureau, Nanning 530021, China. E-mail: wyjhappy_2001@163.com

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Lambda 35 分光光度计(美国 PE 公司); SHA-EB 水浴恒温振荡器(中国城西丽华仪器厂);

丙二醛标准品: 1,1,3,3-四乙氧基丙烷, 纯度≥97%, 分析纯, 阿拉丁);

三氯乙酸、乙二胺四乙酸二钠(分析纯,西陇化工); 硫代巴比妥酸(生化试剂, 国药集团); 盐酸(分析纯, 国药集团); 实验室用水为纯净水。

2.2 实验方法

2.2.1 溶液配制

7.5%三氯乙酸混合液: 准确称取三氯乙酸 37.5 g 及乙二胺四乙酸二钠 0.5 g, 用水溶解, 稀释至 500 mL;

0.02 mol/L 硫代巴比妥酸(TBA)水溶液: 准确称取硫代巴比妥酸 0.288 g 溶于水中, 并稀释至 100 mL(如 TBA 不易溶解, 可加热至全溶澄清, 然后稀释至 100 mL); 100 μg/mL 丙二醛标准溶液: 准确称取 1,1,3,3-四乙氧基丙烷 0.315 g, 用 95%乙醇溶解后稀释至 1000 mL, 置冰箱保存;

1 μg/mL 丙二醛标准溶液: 精确移取上述储备液 1.00 mL 用 7.5%三氯乙酸混合液稀释至 100 mL。

2.2.2 样品前处理

准确称取混合均匀的试样 5.00 g 于 100 mL 具塞三角瓶中, 准确移取三氯乙酸混合液 50.00 mL, 摇匀, 加塞密封, 置于恒温振荡器上 50 ℃, 150 r/min 恒温振荡提取 30 min, 取出冷却至室温, 用双层定量慢速滤纸过滤, 弃去初滤液, 续滤液备用。

2.2.3 样品的测定

准确吸取 1.00~5.00 mL 上述试样处理液于 10 mL 具塞比色管中,补加三氯乙酸混合液至 5 mL。另准确吸取 5 mL 丙二醛标准系列溶液分别置于 10 mL 具塞比色管中。然后加入 5.00 mL 硫代巴比妥酸(TBA)水溶液, 盖塞, 摇匀, 于恒温水浴锅内 90 ℃保温 40 min,, 取出冷却, 用 1 cm 比色皿, 以零管调节零点, 于 532 nm 处测定吸光值, 以丙二醛质量为横坐标, 吸光值为纵坐标, 绘制标准曲线。

3 结果与讨论

3.1 试样提取条件的优化

试样加三氯乙酸混合液置于恒温振荡器上 50 ℃, 150 r/min 恒温振荡提取 30min, 取出, 冷却至室温, 用双层定

量慢速滤纸过滤, 滤液备用。考虑到动物油脂及食用棕榈油的熔点较高, 在 30~40 ℃范围, 油脂需要在液体状态下震荡才能提取得完全, 但又不能用太高温, 因为温度升高会加速油脂酸败从而产生丙二醛^[12], 影响测定结果, 经试验选用 50 ℃较为合适。试样震荡提取后用双层定量慢速滤纸过滤, 滤液澄清透明, 与文献^[13]一致, 简化了原标准中用双层滤纸过滤, 离心沉淀并用氯仿处理。

3.2 检测波长的选择

原标准中波长选择在 538 nm, 灵敏度较低, 以 3.0 μg 含量的丙二醛进行试验, 结果在 532 nm 处吸光度最高(见表 1), 与文献^[14]一致,故选用波长 532 nm 进行测定。

表 1 波长选择
Table 1 Selection of wavelength

编号	波长(nm)	吸光度
1	530	0.609
2	532	0.621
3	538	0.547

3.3 三氯乙酸对显色的影响

原标准中标准管与样品管条件不一致, 前者溶液介质时水, 后者是三氯乙酸, 以 3 μg 含量的丙二醛溶液试验, 二者显色不一致, 前者慢, 后者快(见表 2), 所以配制标准使用溶液应采用三氯乙酸定容, 使标准管与样品管一致。

表 2 不同介质标准溶液的显色结果(吸光度)(n=6)
Table 2 Color results of standard solutions in different mediums (absorbance)(n=6)

显色温度与时间	25 ℃, 6 h	90 ℃, 40 min
用水配制	0.08	0.615
用三氯乙酸配制	0.184	0.714

3.4 料液比对 TBA 值的影响

料液比对 TBA 值的影响见表 3。料液比影响三氯乙酸对样品中丙二醛的提取效果, 由表 3 可以看出, 料液比对 TBA 值影响较大, 随着料液比的增加, TBA 值迅速增大, 在料液比为 1:10 时 TBA 值达到最大, 然后逐渐趋于稳定, 因此选择料液比为 1:10 最合适, 即称取 5.00 g 样品准确加入 50 mL 三氯乙酸溶液提取。

表 3 料液比对 TBA 值的影响(n=6)
Table 3 Effect of material liquid ratio on TBA (n=6)

料液比	1:6	1:7	1:8	1:9	1:10	1:11	1:12
TBA 值(mg/kg)	0.26	0.31	0.35	0.40	0.43	0.41	0.41

3.5 回收率试验

对常见的几种动植物油脂进行加标回收试验, 结果见表 4。由表 4 可知, 回收率在 88.0%~100.0%之间。

3.6 精密度试验

选用大豆油和动植物调和油各做 6 个平行样品, 计算日内相对标准偏差(RSD%), 结果均小于 10%, 详见表 5。同时做日间精密度试验(即标准品、油样品、样品加标 10 μg、样品加标 20 μg) 4 个不同浓度样品平行每 d 测 1 次, 共测 5 d, 结果见表 6。

3.7 标准曲线及方法检出限

制备 20 份试剂空白, 上机测定, 根据检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ)的计算方法 $LOD=3 s/b$ 和 $LOQ=10 sd/b$ (b 为工作曲线斜率), 以仪器响应值的 3 倍和 10 倍标准偏差除以工作曲线斜率, 再以 5.00 g 取样量定容至 50 mL, 计算方法检出限和定量限。丙二醛标准溶液浓度在 0~0.5 μg/mL 呈线性, 相关系数为 0.9995, 回归方程为 $Y=0.2136X-0.0026$, 检出限为 0.1 mg/kg。

4 结 论

本研究对国家标准 GB 5009.181-2003 进行了优化和改进, 扩大了方法的适用范围, 由原来的猪油扩至动植物油脂; 简化了提取步骤, 原法需将猪油 70 °C 融化称量, 在震摇 0.5 h 期间要不断在 70 °C 水浴加热保持融溶状态, 而本试验方法采用 50 °C 恒温震荡提取, 能够保证固体食用油脂样品在提取时一直保持融溶状态, 操作简单; 原方法采用三氯乙酸震荡提取, 双层滤纸二次过滤, 离心及氯仿处理, 本试验结果证明用双层慢性定量滤纸过滤一次即可, 不需离心和氯仿处理。对波长和料液比以及标准溶液的配制做了改进, 改进后的方法简便、易于准确掌握, 灵敏度更高, 精密度为 1.55%~6.09%, 平均回收率为 94.03%。但本方法也有不足之处, 即不能测定提取液为浑浊或有颜色浸出的样品, 只能测定无颜色干扰的样品^[15], 对于有颜色干扰或提取液为浑浊样品可以采用高效液相色谱法测定。

表 4 几种动植物油脂的加标回收率($n=6$)
Table 4 Recovery rates of several varieties of animal and vegetable oil ($n=6$)

样品名称	本底值(μg)	加标量(μg)	测定值(μg)	回收率(%)
橄榄油	0.45	0.25	0.68	92.0
		0.75	1.15	93.3
		2.50	2.92	98.8
一级花生油	0.10	0.25	0.32	88.0
		0.75	0.81	94.7
		2.50	2.50	96.0
一级大豆油	0.20	0.25	0.43	92.0
		0.75	0.90	93.3
		2.50	2.56	94.4
玉米油	0.06	0.25	0.30	96.0
		0.75	0.74	90.7
		2.50	2.42	94.4
食用调和油	0.30	0.25	0.53	88.0
		0.75	1.00	93.3
		2.50	2.72	96.8
深海鱼油调和油	0.93	0.25	1.18	100.0
		0.75	1.61	90.7
		2.50	3.42	99.6
动植物调和油	0.44	0.25	0.68	96.0
		0.75	1.16	96.0
		2.50	2.83	95.6
食用猪油	1.10	0.25	1.33	92.0
		0.75	1.78	90.7
		2.50	3.46	94.4

表 5 日内精密度试验
Table 5 Within-day precision test

样品名称	测定值(mg/kg)						平均值	RSD%
	1	2	3	4	5	6		
大豆油	0.112	0.112	0.108	0.125	0.116	0.122	0.116	5.60
动植物调和油	0.935	0.948	0.932	0.965	0.926	0.952	0.943	1.55

表 6 日间精密度试验($n=2$)
Table 6 Inter-day precision test ($n=2$)

样品名称	丙二醛平均含量(μg)	偏差(μg)	RSD%
标准品 5 μg	4.76	0.29	6.09
油样	2.19	0.13	5.94
油样+标 10 μg	11.82	0.37	3.13
油样+标 20 μg	20.66	0.46	2.22

参考文献

- [1] 姚仕彬, 叶元土, 蔡春芳, 等. 丙二醛对离体草鱼肠道黏膜细胞的损伤作用[J]. 水生生物学报, 2015, 8: 133–141
Yao SB, YeYT, Cai CF, *et al.* Effect of MDA used for culturing the primary intestinal epithelial cells of ctepharyngodon idella [J]. Acta Hydrobiol Sinca, 2015, 8: 133–141.
- [2] 杨春燕, 厉重先, 荣瑞芬. 植物油脂的氧化酸败机制及其预防研究[J]. 农产品加工·学刊, 2010, (12): 85–87.
Yang CY, Li ZX, Rong RF. Mechanism and prevention of oxidation in plant oils [J]. Acad Period Farm Prod Process, 2010, (12): 85–87.
- [3] GB 10146-2005 食用动物油脂卫生标准[S].
GB 10146-2005 Hygienic standard for edible animal fats [S].
- [4] GB/T 5009.181-2003 猪油中丙二醛的测定[S].
GB/T 5009.181-2003 Determination of propyldialdehyde in lard [S].
- [5] GB/T 8937-2006 食用猪油[S].
GB/T 8937-2006 Edible lard [S].
- [6] Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular surperoxide dismutase in biology and medicine [J]. Free Radic Biol Med, 2003, 35(3): 236–256.
- [7] 许长成, 邹琦, 程炳嵩. 硫代巴比妥酸(TBA)法检测脂质过氧化水平的探讨[J]. 植物生理学通讯, 1989, (6): 58–60.
Xu CC, zhou Q, Chen BS. Study on thiobarbituric acid (TBA) method for determination of lipid peroxidation [J]. Plant Phys Commun, 1989, (6): 58–60.
- [8] 叶司原, 赵良. 荧光光度法在检测花生油中丙二醛的应用[J]. 第二军医大学学报, 1995, 16(6): 583–585.
Ye SY, Zhao L. Spectrophotometric method for the determination of propyldialdehyde in peanut oil [J]. Acad J Second Military Med Univ, 1995, 16(6): 583–585.
- [9] 梁达文, 张浩谋, 黄志毅. 饲用油脂的丙二醛检测方法探讨[J]. 广东饲料, 2011, 20(4): 26–38.
Liang WD, Zhang HM, Huang ZY. Discussion of method for the determination of propyldialdehyde in feed oil [J]. Guangdong Feed, 2011, 20(4): 26–38.
- [10] 张荣华, 赵士权, 林明珠, 等. 腌腊肉制品中丙二醛测定方法的探讨[J]. 中国食品卫生杂志, 2001, (4): 16–17.
Zhang RH, Zhao SQ, Lin MZ, *et al.* Discussion of method for the determination of propyldialdehyde in curing meat products [J]. Chin J Food Hyg, 2001, (4): 16–17.
- [11] 任雪梅, 王文特, 田洪芸, 等. 比色法测定鸭油中的丙二醛[J]. 山东农业科学, 2014, 46(1): 119–121.
Ren XM, Wang WT, Tian HY, *et al.* Determination of malondialdehyde content in duck oil by colorimetry [J]. Shandong Agirc Sci, 2014, 46(1): 119–121.
- [12] 许龙福. 猪油中丙二醛萃取比色检测法的改进[J]. 肉品卫生, 1993, (7): 5–8.
Xu LF. Method improvement of the determination of propyldialdehyde in lard [J]. Meat Hyg, 1993, (7): 5–8.
- [13] 崔宝印. 食用油中丙二醛类物质的光度测定法[J]. 解放军预防医学杂志, 1990, 8(2): 151–154.
Cui BY. Spectrophotometric method for propyldialdehyde in edible oils [J]. J Prev Med Chin PLA, 1990, 8(2): 151–154.
- [14] 高俊, 陈季旺, 周琦, 等. 挂面中丙二醛含量测定方法的研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(3): 115–120.
Gao J, Chen J, Zhou Q, *et al.* Study of malondialdehyde determination methods in dry noodles [J]. J Chin Cere Oils Associat 2012, 27(3): 115–120.
- [15] 何正锋, 胡潇. 铝处理对 2 个桉树无性系幼苗丙二醛含量的影响[J]. 防护林科技, 2016, (2): 20–29.
He ZF, Hu X. Effect of aluminum treatment on MDA content of two eucalyptus clones [J]. Protect Forest Sci Technol, 2016, (2): 20–29.

(责任编辑: 姚菲)

作者简介

赵永锋, 高级工程师, 主要研究方向
为食品检测质量与安全。
E-mail: 403076647@qq.com

吴玉杰, 博士, 高级工程师, 主要研究
方向为食品安全研究。
E-mail: wyjhappy_2001@163.com