

宠物咬胶用漂白牛皮中过氧化氢残留量测定及分解研究

李 鹏*

(青岛农业大学食品科学与工程学院, 青岛 266109)

摘要: **目的** 探究不同温度、过氧化氢酶浓度、反应时间等对牛皮中过氧化氢分解速率的影响规律, 以此指导生产中如何控制狗咬胶中过氧化氢残留量超标的问题。 **方法** 以生产宠物狗咬胶的漂白牛皮为原料, 通过采用不同温度(30~70 °C)的水和不同浓度(3%~5%)的过氧化氢酶溶液进行处理, 对处理后的过氧化氢残留量进行测定。 **结果** 采用 50 °C 温水浸泡漂白牛皮可以较快地去除其中残留的过氧化氢; 或者采用浓度为 3% 的过氧化氢酶溶液, 40~50 °C, 浸泡 30 min 左右可以更快地去除过氧化氢。根据处理条件的不同, 通过试验拟合出方程可以比较准确地计算去除漂白牛皮样品中残留过氧化氢所需要的大体时间。 **结论** 通过热处理或者过氧化氢酶溶液处理, 能够有效降低漂白牛皮中残留的过氧化氢含量, 使最终产品符合要求。

关键词: 漂白牛皮; 宠物咬胶; 过氧化氢; 过氧化氢酶

Determination and removal of residual hydrogen peroxide in bleached cow skin for pet chew

LI Peng*

(College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of different temperatures, catalase concentrations and reaction time on the decomposition rate of hydrogen peroxide in bleached cow skin, in order to guide the production how to control the residual hydrogen peroxide in pet chew. **Methods** The residues of hydrogen peroxide in bleached cow skin as raw material were tested by different treatments, including 30~70 °C warm water treatment and 3%~5% catalase treatment. **Results** After soaking with 50 °C warm water, residual hydrogen peroxide in the bleached cow skin could be quickly removed. In addition, when adopting catalase solution treatment, the optimum enzyme concentration was 3%, at temperature of 40~50 °C for about 30 minutes. According to the different treatment conditions, it was more accurate to calculate the general time required to remove the residual hydrogen peroxide in the sample of bleached cow skin. **Conclusion** It can effectively reduce the residual hydrogen peroxide content in bleached cow skin by heat treatment and catalase solution, which can make the final product meet the requirements.

KEY WORDS: bleached cow skin; pet chew; hydrogen peroxide; catalase

基金项目: 青岛农业大学高层次人才基金项目(6631115050)

Fund: Supported by the Advanced Talents Foundation of QAU (6631115050)

*通讯作者: 李鹏, 博士, 主要研究方向为畜产品加工与质量控制研究。E-mail: lipengqd@126.com

*Corresponding author: LI Peng, PhD, College of Food Science and Technology, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China. E-mail: lipengqd@126.com

1 引 言

过氧化氢(H_2O_2), 又名双氧水, 是一种强氧化剂, 具有消毒、杀菌、防腐、漂白等功能, 在工业及医疗领域被广泛使用^[1]。近些年来, 过氧化氢在食品工业中的应用越来越广泛, 如干制海产品、冻品, 水发食品, 肉制品以及宠物食品^[2-4]。我国食品添加剂使用标准 GB 2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》^[5]中规定, 食品级过氧化氢可以在食品生产中作为加工助剂使用, 但在制成成品前必须进行清除处理, 使过氧化氢的残留量严格控制在一定的标准范围内。食品中残留过量的过氧化氢对人体健康有极大的危害, 因此, 过氧化氢在食品工业中的应用要严格控制, 确保使用安全^[6]。

随着我国人们生活水平的提高, 越来越多的宠物走进千家万户, 宠物也逐渐成为一个家庭的重要组成部分, 带给人们更多的欢乐和陪伴。狗是家庭宠物中最为常见的一种, 但由于很多人喂养宠物时还是采取传统的喂养方式, 许多宠物出现了口腔难闻等问题, 影响了人与宠物的互动和宠物的健康^[7,8]。咬胶是一种可以清洁宠物口腔的零食产品, 宠物通过咀嚼咬胶类产品, 可以清除宠物牙齿上的污垢, 从而起到清新口气的作用^[9]。其中一种以牛皮为原料的狗咬胶非常受宠物狗的喜欢, 具有非常大的市场前景。但在以牛皮为原料进行生产时, 为了达到咬胶外形美观和防腐的目的, 在牛皮清洗漂白和加工过程中会加入过量的过氧化氢进行处理, 咬胶中如果含有过量过氧化氢残留, 不但会危及宠物的健康, 还会给我国这类产品的出口贸易带来损失^[4]。目前, 我国出口日本及欧美等国的咬胶类产品都需要检测过氧化氢残留, 因此这类产品中过氧化氢残留的测定以及控制具有重要意义。但目前没有关于宠物咬胶类产品中过氧化氢含量及控制的研究报道。因此, 本文研究用于宠物咬胶产品中过氧化氢残留量的测定方法, 探究温度、过氧化氢酶对过氧化氢分解速率的影响规律, 以期高效快速地去除了过氧化氢残留, 更好地运用于实际生产加工中提供参考依据。

2 材料与方 法

2.1 原料与试剂

湿漂白牛皮原料(青岛某宠物食品有限公司); 30%双氧水溶液(0.3 g/mL, 上海翊圣生物科技有限公司); 碘化钾(KI)溶液(0.2 g/mL, 上海玉博生物科技有限公司); 硫酸溶液(0.2 mol/L, 深圳市江龙化工有限公司); 过氧化氢酶(上海宝曼生物科技有限公司)。

2.2 仪器与设备

GA5003 型电子天平(上海天平仪器厂); HH-S 型恒温水浴锅(金坛市恒丰仪器厂); UV-1200 紫外可见分光光度

计(尤尼柯(上海)仪器有限公司)。

2.3 试验方法

2.3.1 标准曲线的绘制及样品中过氧化氢的测定

参考范冬梅等^[10]的方法, 略加修改。

标准曲线的绘制: 准备 9 个 50 mL 的容量瓶, 使用移液管分别加入浓度为 0.06%双氧水溶液 0.25、0.5、0.75、1.0、1.25、1.5、1.75、2.0 mL, 其中留一容量瓶为空白样瓶; 使用移液管分别加入 200 μ L 的 0.2 g/mL 的 KI 溶液摇匀; 再分别加入 250 μ L 的 0.2 mol/L 硫酸溶液摇匀, 室温反应 10 min 后加水定容到 50 mL。参考杜淑红等^[11]的方法, 用分光光度计分别在 460 nm 波长处进行吸光值测定, 绘制出标准曲线。

样品的处理: 称取 6 份刚经漂白处理的湿牛皮, 每份 5 g, 剪碎后置于烧杯中, 每份加入 25 mL 蒸馏水, 分别浸泡 0、1、2、3、4、5 h, 测定其过氧化氢残留量, 得到最佳过氧化氢浸出时间。

漂白湿牛皮中过氧化氢含量的测定: 分别将最佳过氧化氢浸出时间下的溶液, 用干净纱布过滤, 过滤出的溶液转移到 50 mL 的容量瓶中, 使用移液管加入 200 μ L 的 0.2 g/mL 的 KI 溶液、250 μ L 的 0.2 mol/L 硫酸溶液摇匀, 室温反应 10 min 后加水定容到 50 mL。在最佳波长下测定出样品的吸光度值, 并通过标准曲线计算出漂白湿牛皮中过氧化氢的残留量。

2.3.2 不同因素对过氧化氢分解速率的影响

(1)不同温度对过氧化氢分解速率的影响

称取 9 份漂白湿牛皮, 每份 5 g, 放于小烧杯中, 每份加入 25 mL 水, 分别编号 1~9 号, 放置于 30 $^{\circ}$ C 水浴锅中水浴, 每 30 min 取出 1 份, 用干净的纱布进行过滤, 然后通过分光光度计测定滤液的吸光度值, 重复 3 次。同上处理, 再分别将装有湿牛皮的小烧杯放置于 50、70 $^{\circ}$ C 的水浴锅中进行水浴, 测量其吸光度值, 从标准曲线上求得对应的过氧化氢含量。

(2)不同浓度过氧化氢酶对过氧化氢分解的影响

将漂白湿牛皮剪成小块, 称重, 分别放入 2%、3%、4%的过氧化氢酶溶液中, 每隔 10 min 取出 2 g 牛皮, 加 10 mL 水浸泡 3 h, 用干净的纱布进行过滤, 将得到的溶液转移到 50 mL 的容量瓶中, 加水定容至 50 mL 容量瓶中, 然后通过分光光度计测定滤液的吸光度值, 从标准曲线上求得对应的过氧化氢含量。

3 结果与分析

3.1 标准曲线的绘制

图 1 是波长为 460 nm 时测定的过氧化氢标准曲线, 标准方程为 $Y=0.004X+0.005$, $r^2=0.997$; r^2 越接近 1, 则标准曲线越准确。因此本研究选择在 460 nm 波长下进行测定分析。这与安莎等^[12]的研究结果基本一致。

表 1 不同浸出时间时湿牛皮中过氧化氢浸出量
Table 1 The amount of hydrogen peroxide leaching of wet cow skin in different time

浸泡时间(h)	0	1	2	3	4	5
吸光度	0.217	0.264	0.292	0.326	0.312	0.305
浓度(mg/kg)	503	615	680	762	729	712

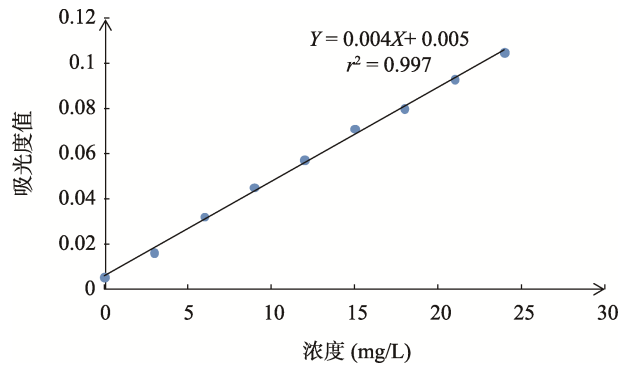


图 1 460 nm 波长下过氧化氢含量的标准曲线
Fig. 1 Standard curve of hydrogen peroxide content at the wavelength of 460 nm

3.2 样品中过氧化氢的最佳浸出时间

不同浸出时间对湿牛皮中过氧化氢浸出含量的影响如表 1 所示。由表 1 可知, 湿牛皮中过氧化氢残留量较高, 随着浸泡时间的增加溶液中过氧化氢浸出量也增多, 湿牛皮在浸泡 3 h 后, 过氧化氢浸出量达到最大值, 而后随时间增加过氧化氢含量基本稳定, 略有下降趋势, 可能是在放置过程中过氧化氢本身见光易分解的性质。因此, 在后续实验中, 湿牛皮的最佳浸出时间设定为 3 h。

3.3 不同因素对过氧化氢分解速率的影响

3.3.1 不同温度对湿牛皮中过氧化氢分解速率的影响

热处理对食品中过氧化氢残留的分解具有很大作用, 选择合适的处理温度能够影响其分解速率和产品品质^[13]。由图 2 可知, 在一定温度下, 漂白牛皮中过氧化氢的分解速率随着时间的增加先快后慢, 在处理的前 2 h, 过氧化氢的分解速率较快, 随后越来越缓慢。不同温度对湿牛皮中过氧化氢分解速率也不同, 随着处理温度的升高过氧化氢的分解速率加快, 50 °C 时的分解速率显著高于 ($P < 0.05$) 30 °C 时的反应速率; 但 50 °C 和 70 °C 的分解速率差异不显著 ($P > 0.05$), 而且在 70 °C 条件下处理所得到的样品质构和颜色都发生明显变化, 可接受性变差。因此, 出于经济性和感官特性综合考虑, 选择 50 °C 为最佳处理温度。

根据图 3 可知, 在 50 °C 温度下, 根据湿牛皮浸出液中过氧化氢含量随时间的变化拟合出如下方程: $Y = 6.9562X^3 - 63.443X^2 + 223.71X + 0.76768$ 。X 为反应时间(h),

Y 是在 50 °C 时随着时间的增加湿牛皮浸出液中过氧化氢的含量(即相当于湿牛皮中过氧化氢的减少量)。目前许多企业在实际生产中, 将漂白湿牛皮中过氧化氢含量控制在 50 mg/kg 以下时, 则视为合格, 因此, 将样品中过氧化氢的含量减去 50 mg/kg 代入方程式可得, 在 50 °C 下进行浸泡处理多长时间能够达到生产要求。

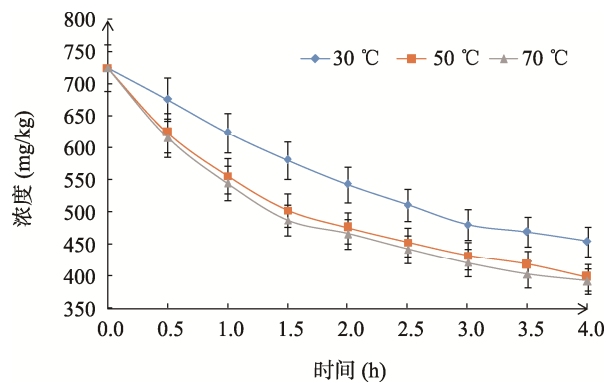


图 2 不同温度对湿牛皮中过氧化氢分解速率的影响($n=3$)
Fig. 2 Effect of different temperatures on the decomposition rate of hydrogen peroxide in wet cow skin ($n=3$)

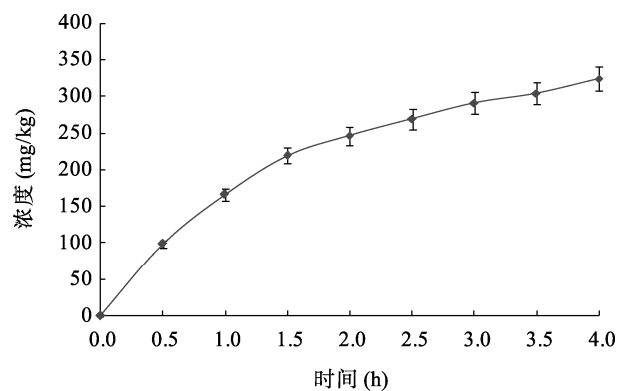


图 3 50 °C 时湿牛皮浸出液中过氧化氢含量随时间的变化($n=3$)
Fig. 3 Changes of hydrogen peroxide in wet cow skin with the time at 50 °C ($n=3$)

3.3.2 过氧化氢酶对湿牛皮中过氧化氢分解速率的影响

过氧化氢酶对过氧化氢有很强的分解作用, 在试验时要合理控制检测时间点, 否则容易错过过氧化氢酶的最快分解时间^[14,15]。因此, 本研究选择了每 10 min 检测 1 次样品中过氧化氢的含量。

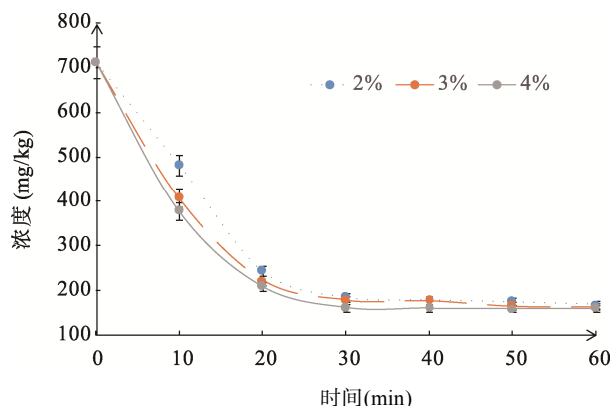
图 4 过氧化氢酶对湿牛皮中过氧化氢分解速率的影响分析($n=3$)

Fig. 4 Effect of catalase on the decomposition rate of hydrogen peroxide in wet skin ($n=3$)

由图 4 可以看出, 3 种不同浓度的过氧化氢酶溶液对过氧化氢都有十分明显的分解作用。前 20 min 内, 样品中过氧化氢的含量急剧下降; 20 min 后, 过氧化氢含量趋于平缓。但可看出, 随着过氧化氢酶浓度的增加, 湿牛皮中过氧化氢的分解速率加快, 酶浓度为 4% 的过氧化氢酶溶液的效果比 2% 和 3% 的过氧化氢酶溶液的效果更为明显。但 4% 的酶溶液与 3% 的酶溶液相比, 差别不大, 因此, 出于经济效益的角度, 用 3% 的过氧化氢酶溶液处理样品更为合适。

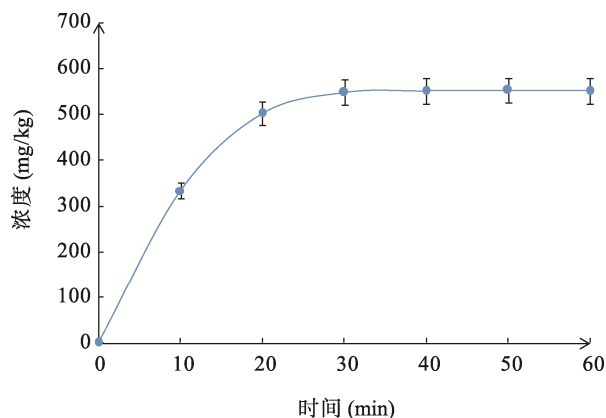
图 5 3% 的过氧化氢酶溶液处理湿牛皮时过氧化氢含量的变化 ($n=3$)

Fig. 5 Changes of hydrogen peroxide in wet cow skin treated with 3% enzyme solution ($n=3$)

根据图 5 所示, 3% 的过氧化氢酶溶液对漂白湿牛皮处理时过氧化氢含量的变化拟合方程为: $Y=0.00789X^3-1.0196X^2+42.01X+2.9524$ 。若达到湿牛皮中过氧化氢含量低于 50 mg/kg 的标准, 可以用样品中现有的过氧化氢含量减去要达到的标准含量, 代入方程, 可以得到用 3% 的酶溶液处理湿牛皮时, 需用多长时间才能达到产

品要求。

4 结 论

4.1 分光光度法测定牛皮中过氧化氢含量

漂白牛皮作为一种制作宠物咬胶的原材料, 在宠物食品中被广泛应用, 产品中过量的过氧化氢存在会引起宠物的一些疾病, 不利于宠物的健康, 因此, 对宠物食品原料进行检测也存在着重要的意义。分光光度法是一种快速检测过氧化氢含量的一种方法, 它具有经济性、准确性和可操作性, 可以被用来检测宠物咬胶类产品中过氧化氢残留量的测定。

4.2 温度对漂白牛皮中过氧化氢分解的影响

温度对漂白湿牛皮中过氧化氢分解有明显的的作用。随着温度的增高, 过氧化氢分解的速率逐渐增加, 综合考虑, 对于漂白牛皮的最佳热处理温度为 50 °C。

4.3 过氧化氢酶对漂白牛皮中过氧化氢分解的影响

3% 过氧化氢酶溶液, 反应温度 40~50 °C, 浸泡 30 min 左右, 能够很好地对漂白湿牛皮中残留的过氧化氢进行分解。

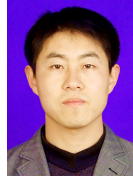
参考文献

- [1] 谢莉, 窦燕峰, 郭会灿, 等. 食品中过氧化氢残留快速检测试纸的研制[J]. 现代食品科技, 2011, 27(9): 1160-1162.
Xie L, Dou YF, Guo HC, et al. Preparation of a fast paper for hydrogen peroxide in food [J]. Mod Food Sci Technol, 2011, 27(9): 1160-1162.
- [2] 邹响, 张德新. 荧光分析法测定水发食品中过氧化氢残留量[J]. 公共卫生与预防医学, 2009, 20(6): 64-65.
Zhou Y, Zhang DX. Determination of hydrogen peroxide in water-soaked foodstuffs by fluorescence analysis [J]. J Public Health Prev Med, 2009, 20(6): 64-65.
- [3] 梁显菊, 文静. 食品级过氧化氢在动物性食品中的应用[J]. 肉类研究, 2008, 4: 65-70.
Liang XJ, Wen J. The application of food-grade hydrogen peroxide in animal food [J]. Meat Res, 2008, 4: 65-70.
- [4] 魏云计, 冯民, 朱臻怡, 等. 宠物食品中氨基脲的测定和来源分析[J]. 饲料研究, 2015, (6): 65-67.
Wei YJ, Feng M, Zhu ZY, et al. Determination and source analysis of amino urea in pet food [J]. Feed Res, 2015, (6): 65-67.
- [5] GB 2760-2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].
GB 2760-2014 National food safety standard-Standard for uses of food additives [S].
- [6] 孙佳, 毛燕, 李刚, 等. 应用亲水作用液相色谱法测定食品中过氧化氢[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(6): 1873-1879.
Sun J, Mao Y, Li G, et al. Application of hydrophilic interaction liquid chromatography to determine hydrogen peroxide in food [J]. J Food Saf Qual, 2013, 4(6): 1873-1879.
- [7] 马保臣, 刘锡武, 于涛, 等. 世界宠物食品概况及中国宠物食品发展的思考[J]. 饲料工业, 2007, 28(15): 55-57.

- Ma BC, Liu XW, Yu T, *et al.* A survey of world pet food and the development of pet food in China [J]. *Feed Ind*, 2007, 28(15): 55-57.
- [8] 李玫, 高俊岭, 喻述武. 中外宠物食品市场现状及前景[J]. *饲料广角*, 2005, 18(2): 31-24.
- Li M, Gao JL, Yu SW. Current situation and prospect of domestic and foreign pet food market [J]. *Feed China*, 2005, 18(2): 31-24.
- [9] Anthony L. Easily-digestible pet chew that promotes oral health and prevents malodorous breath in animals, and method of making thereof: US, 007, 662, 414B1 [P]. 2010-02-16.
- [10] 范冬梅, 王莉. 分光光度法测定牛百叶中过氧化氢的含量[J]. *山西大学学报*, 2008, 30(1): 162-166.
- Fan DM, Wang L. Determination of the content of hydrogen peroxide in cattle by spectrophotometry [J]. *J Shanxi Univ*, 2008, 30(1): 162-166.
- [11] 杜淑红, 陈剑杰. 分光光度法测定海蜇中过氧化氢的含量[J]. *广东微量元素科学*, 2012, 19(11): 9-11.
- Du SH, Chen JJ. Determination of hydrogen peroxide in seaweed by spectrophotometry [J]. *Guangdong Trace Elem Sci*, 2012, 19(11): 9-11.
- [12] 安莎, 谢锋, 李荣华, 等. 泡椒凤爪中残留过氧化氢检测结果分析[J]. *贵州科学*, 2014, 32(3): 94-96.
- An S, Xie F, Li RH, *et al.* Analysis on hydrogen peroxide residues in chicken feet with pickled pepper [J]. *Guizhou Sci*, 2014, 32(3): 94-96.
- [13] 罗联钰. 即食海蜇工业化生产工艺的初步研究[J]. *食品科技*, 2016, (1): 89-93.
- Luo LY. Preliminary study on industrialized production process of instant *Rhopilema esculentum* [J]. *Food Sci Technol*, 2016, (1): 89-93.
- [14] 李晓霞, 申丽华, 漆红兰. 毛细管固定过氧化物酶流动注射化学发光法测定过氧化氢的研究[J]. *分析测试学报*, 2008, 27(4): 419-422.
- Li XX, Shen HL, Qi HL. Determination of hydrogen peroxide on a peroxidase-immobilized capillary column by flow-injection chemiluminescence [J]. *J Instrum Anal*, 2008, 27(4): 419-422.
- [15] 王岚, 吴建国. 过氧化氢酶去除漂染同浴工艺中残留过氧化氢的研究[J]. *上海纺织科技*, 2015, 43(7): 30-33.
- Wang L, Wu JG. Study on removal of residual hydrogen peroxide in the process of one step dyeing and bleaching with catalase [J]. *Shanghai Text Sci Technol*, 2015, 43(7): 30-33.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



李鹏, 博士, 讲师, 主要研究方向为畜产品加工与质量控制研究。
E-mail: lipengqd@126.com

“农兽药残留研究”专题征稿函

食用农产品中农药、兽药残留问题是国内外广泛关注的课题。本刊特组织“农兽药残留研究”专题, 征集的稿件主要围绕农兽药残留标准制定与风险评估、农兽药的代谢与迁移转化、农兽药残留样品前处理方法、农兽药残留检测技术与应用、农兽药残留现场检测技术、农兽药残留市场监测与结果分析等或者您认为与本专题相关有意义的领域。该专题主编拟由中国农业大学潘灿平教授担任, 该专题计划在2018年4月出版。

本刊主编吴永宁研究员与专题主编潘灿平教授特邀请有关食品领域研究人员为本专题撰写稿件, 综述、研究论文和研究简报均可。请在2018年2月底前通过网站或E-mail投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

投稿方式(注明专题):

网站: www.chinafoodj.com

Email: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部