

食品中甲醛的稳定碳同位素特征分析及其在甲醛源解析中的应用

Analysis of stable carbon isotope characteristics of formaldehyde in food and its application in source analysis of formaldehyde

韩莉^{1,2} 余婷婷^{1,2} 刘迪^{1,2} 杨青^{1,2} 高芳^{1,2} 王会霞^{1,2}

HAN Li^{1,2} YU Ting-ting^{1,2} LIU Di^{1,2} YANG Qing^{1,2} GAO Fang^{1,2} WANG Hui-xia^{1,2}

(1. 湖北省食品质量与安全监督检验研究院, 湖北 武汉 430075;

2. 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 湖北 武汉 430075)

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan, Hubei 430075, China;

2. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan, Hubei 430075, China)

摘要:采用衍生化—气相色谱—燃烧—同位素质谱法 (Gas Chromatography-Combustion-Isotope Ratio mass Spectrometry, GC/C/IRMS) 对水产品、蔬菜制品、果蔬的甲醛含量和 $\delta^{13}\text{C}$ 值进行了测试。结果表明, 鱿鱼样品中甲醛含量为 0.341 ~ 24.185 mg/kg, $\delta^{13}\text{C}$ 值为 -48.167‰ ~ -24.514‰, 龙头鱼中甲醛含量为 54.555 ~ 121.416 mg/kg, $\delta^{13}\text{C}$ 值为 -45.430‰ ~ -27.468‰; 蔬菜制品中仅干香菇中检出了甲醛, 其含量高达 212.741 mg/kg, $\delta^{13}\text{C}$ 值为 -41.293‰ ~ -20.293‰; 果蔬中甲醛含量较低。水产品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值随贮藏时间的增加逐渐偏负, 香菇的 $\delta^{13}\text{C}$ 值随贮藏时间的增加逐渐偏正。龙头鱼中外源性加标模拟试验结果表明, 利用同位素定量分析模型计算得到的贡献率与理论值偏差低于 15%。

关键词: 稳定同位素分析; 同位素分馏; 衍生化—气相色谱—燃烧—同位素质谱法; 甲醛; 源解析

Abstract: Based on the method of Gas Chromatography-Combustion-Isotope Ratio mass Spectrometry (GC/C/IRMS), the contents of formaldehyde and the $\delta^{13}\text{C}$ value in aquatic products, dried edible fungi, fruits and vegetables were tested and analyzed. The results showed that the mass fraction of formaldehyde in the squid samples was 0.341 ~ 24.185 mg/kg, and the $\delta^{13}\text{C}$ value was -48.167‰ ~ -24.514‰; the mass fraction of dragon fish samples was 54.555 ~ 121.416 mg/kg, and the $\delta^{13}\text{C}$ value was

-45.430‰ ~ -27.468‰. In the dried edible fungi, formaldehyde was detected only in dried *Lentinus edodes* of 212.741 mg/kg, and the $\delta^{13}\text{C}$ value were ranging from -41.293‰ to -20.293‰. Formaldehyde mass fractions were low in fruits and vegetables. The $\delta^{13}\text{C}$ value of aquatic products was gradually negative with the increase of the preservation time, while that of *Lentinus edodes* was gradually positive, possibly caused by different formaldehyde conversion pathways in food. The results showed that the contribution rate calculated by isotope quantitative analysis model was 15% less than its theoretical value.

Keywords: stable isotope analysis; isotope fractionation; Derivatization-Gas Chromatography-Combustion-Isotope Ratio mass spectrometry; formaldehyde; analysis of formaldehyde sources

甲醛 (Formaldehyde, FA) 被广泛用于医疗、卫生和农业等多个行业。甲醛暴露引发的人体健康风险持续被国际关注^[1]。美国环境保护署规定每天摄入的量不超过 0.2 mg/kg 体重^[2]。2008 年, 中国卫生部印发的《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品种名单 (第一批)》(食品整治办[2008]3 号) 的通知中, 明令禁止在食品中以任何形式添加甲醛, 其限量规定为“不得检出”。目前, 由甲醛引起的食品安全事件仍屡见不鲜, 在新近公布的食药安全犯罪典型案例中, 就有 2 起案例是非法使用工业用甲醛^[3]。然而, 监管实践以及研究^[4-6]发现许多食品存在一定量的内源性甲醛; 水发水产品中甲醛平均值为 50.35 mg/kg, 海水鱼类平均值为 8.85 mg/kg, 虾蟹类、贝类、淡水鱼中甲醛含量依次减少^[7]。香菇引发的甲醛问题也引起了人们的广泛关注,

基金项目: 国家重点研发计划 (编号: 2018YFC1602302); 湖北省食品药品监督管理局科研项目 (编号: 201801017)

作者简介: 韩莉 (1990—), 女, 湖北省食品质量与安全监督检验研究院助理工程师, 硕士。E-mail: 447605531@qq.com

收稿日期: 2020-12-09

香菇甲醛是自身酶促反应的代谢产物^[8]。日本农产品中干香菇和鲜香菇的甲醛含量分别为 244,54 mg/kg,这些甲醛都是香菇生长、保鲜和干燥过程中自然产生。果蔬中的甲醛本底可达 0.79~2.52 mg/kg^[9]。小麦粉中甲醛的本底均值为 3.85 mg/kg^[10]。李薇霞等^[6,11]研究发现,奶糖中主要物质奶粉中酪蛋白和乳糖的美拉德反应是奶糖中甲醛生成的主要原因。目前食品中甲醛的检测方法如分光光度法^[12-13]、气相色谱法^[14-15]、液相色谱法^[16-18]和荧光法^[19]等,主要以定量分析为主,难以识别食品中甲醛的来源。

相比“分子”尺度上的含量分析方法,单体稳定同位素分析技术(Compound-specific Stable Isotope Analysis, CSIA)在“原子”尺度上探寻物质的来源和相关的迁移、转化规律,具有更为独特的优点。利用不同来源物质中同位素丰度存在差异的原理,可甄别环境与食品中污染物来源。Marisa 等^[20]指出通过检测葡萄酒中 Pb 的同位素比率可判断铅的污染源是自然污染还是土壤污染;通过测定食品中的¹³C 值可以识别食品中多环芳烃和多氯联苯的来源^[21-22]。

由于甲醛分子具有强极性,在色谱柱上难以保留,测试灵敏度太低,大多数甲醛相关的检测分析都是建立在甲醛衍生化后对甲醛衍生物的分析上^[23-25]。碳同位素组成检测过程中,对于检测灵敏度不够的有机物质,也可以对待测物进行衍生反应,衍生物的同位素组成可经质量作用定律从理论上计算出待测物的碳同位素组成^[26-27]。余应新^[28]利用 GC/C/IRMS 技术,采用 2,4-二硝基苯肼柱衍生化并对衍生物的稳定碳同位素进行测定,间接得到了大气甲醛的稳定同位素组成及特征,且衍生化过程不存在同位素分馏。文章拟验证衍生化—气相色谱—燃烧—同位素比质谱法测定食品中甲醛的稳定碳同位素组成的可行性,并用此方法分析水产品、果蔬、蔬菜制品 3 类典型食品中甲醛的稳定同位素组成及分布特征,通过模拟试验分析内外源甲醛的贡献率,验证甲醛来源定量解析模型的可行性,为建立完善的食品安全溯源制度体系、食品中有毒有害物质的防控及食品安全监管提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲醛水溶液、2,4-二硝基苯肼(DNPH)、盐酸、氯化钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

超纯水为实验室自制一级水;

甲醛 2,4-二硝基苯肼(FA-DNPH)标准品:纯度为 99.8%,美国 CATO 公司;

甲醛水溶液标准品:质量浓度为 10 mg/L,中国 First

Standard 公司;

同位素标准参考物质[乙醇溶液($\delta^{13}\text{C} = -26.72\%$, BCR-660),咖啡因($\delta^{13}\text{C} = -19.357\%$, IAEA-600)];国际原子能机构。

1.2 仪器与设备

气体稳定同位素比值质谱仪:DeltaV 型,美国赛默飞世尔科技公司;

气相色谱仪:Trace GC Ultra 型,美国赛默飞世尔科技公司;

元素分析仪:Flash 2000HT 型,美国赛默飞世尔科技公司;

高效液相色谱仪:e2695 型,美国 Waters 公司;

冷冻离心机:Allegra 64R 型,美国贝克曼公司;

恒温水浴摇床:WNE29 型,德国 memmert 公司;

分析天平:ME204/02 型,梅特勒—托利多仪器有限公司;

超声仪:S180H 型,德国 Elma 公司;

氮吹仪:N-EVAP112 型,美国 Organomation Associates Inc 公司。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理

(1) 样品制备:水产品、蔬菜制品、果蔬样品切碎后研磨成泥或粉末,鱿鱼样品分开内脏和其余肌肉部分,水产品 and 果蔬-20℃密封保存,蔬菜制品干燥密封常温保存。衍生试剂 2,4-二硝基苯肼用色谱纯的乙腈重结晶两次后用高效液相色谱检验其纯度。将过量的纯化后的 DNPH 溶于 24 mL 盐酸,并定容至 100 mL,配制成饱和的 DNPH 衍生溶液。

(2) 甲醛源解析模拟试验:选取龙头鱼中含量较高的样品进行外源性加标模拟试验并测定其甲醛含量及 $\delta^{13}\text{C}$ 值。本底测试:龙头鱼中 4 个平行批次;外源性甲醛加标测试:龙头鱼中 3 个水平的甲醛标准溶液加标,每个水平 2 平行;甲醛标准溶液测试:空白无基质样品中 4 个水平的甲醛标准溶液加标,每个水平 2 平行。甲醛标准品配制成质量浓度为 1.155 6 mg/mL 的标准储备液,龙头鱼中添加 3 个不同浓度水平(添加体积为 30,150,200 μL)的标准储备溶液。

(3) 衍生产物甲醛 2,4-二硝基苯肼含量和 $\delta^{13}\text{C}$ 值测定:准确称取 1~2 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 水,超声提取 30 min,4℃、9 000 r/min 离心 10 min,使样品及油脂和水充分分离,将上清液转移至另一干净离心管,加入 1 mL DNPH 衍生溶液(若样品中 FA 含量过高,可增加衍生溶液的添加量至反应完全),迅速盖上盖子,于 60℃摇床衍生反应 1 h,取出后迅速用流水冷却,过 0.22 μm 滤膜,测定衍生物含量。向衍生后溶液中加入 15 mL 正己烷,翻转摇匀充分萃取,4℃、

4 000 r/min 离心 3 min,取上层正己烷于 50 mL 离心管中,向残留水溶液中再加入 15 mL 正己烷,重复萃取 2~3 次,合并正己烷层,将萃取液置于氮吹仪吹干,用甲醇定容至 1 mL,通过 GC/C/IRMS 测定甲醛 2,4-二硝基苯肼的稳定碳同位素值,以 $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ 值为 -26.72% 的乙醇溶液矫正的 CO_2 为内标,得到相对于箭石化石标准(PDB)的同位素组成。

(4) 衍生剂 2,4-二硝基苯肼的 $\delta^{13}\text{C}$ 值测定:称取处理后的 2,4-二硝基苯肼粉末 0.1~2.0 mg,用锡杯包裹住粉末,置于自动进样盘,通过元素分析—同位素比值质谱法(EA-IRMS)测定 2,4-二硝基苯肼的稳定碳同位素值。以 $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ 值为 -27.771% 的咖啡因矫正的 CO_2 为内标,得到相对于 PDB 的同位素组成。

(5) 甲醛(FA)的 $\delta^{13}\text{C}$ 值测定:5 mL 样品顶空瓶中吸取 1 mL FA 水溶液(37%),加入 2 g 氯化钠,65 °C 反应箱平衡 90 min,用 5 mL 气密性气体进样针抽取 2 mL FA 顶空气体进样,通过 GC/C/IRMS 测定 FA 水溶液中 FA 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,以 $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ 值为 -26.72% 的乙醇溶液矫正的 CO_2 为内标,得到相对于 PDB 的同位素组成。

1.3.2 计算方法

(1) 甲醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值:参照余应新等^[28-29]的方法,按式(1)计算 FA 的稳定碳同位素比值。

$$f_{\text{FA}}\delta^{13}\text{C}_{\text{FA}} + f_{\text{DNPH}}\delta^{13}\text{C}_{\text{DNPH}} = \delta^{13}\text{C}_{\text{FA-DNPH}}, \quad (1)$$

式中:

$f_{\text{FA}}、f_{\text{DNPH}}$ ——FA、DNPH 在衍生物中的碳原子占比($f_{\text{FA}} + f_{\text{DNPH}} = 1$)。

(2) 外源性甲醛添加贡献率:按式(2)计算人为添加甲醛的贡献率,结合式(3)、式(4)得到人为添加贡献率 $X_{\text{anthropogenic}}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 值的关系式。

$$X_{\text{anthropogenic}} = \frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{sample}} - \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{background}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{anthropogenic}} - \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{background}}} \times 100\%, \quad (2)$$

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right) - \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{std}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{std}}} \times 1\,000, \quad (3)$$

$$X_{\text{anthropogenic}} = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{sample}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{background}}}{\delta^{13}\text{C}_{\text{anthropogenic}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{background}}} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

$X_{\text{anthropogenic}}$ ——人为添加甲醛对样品甲醛的贡献率;

$\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{background}}$ ——样品中本底甲醛的稳定碳同位素比率;

$\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{sample}}$ ——样品中甲醛的稳定碳同位素比率;

$\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{anthropogenic}}$ ——人为添加甲醛的稳定碳同位素

比率。

1.4 数据处理

甲醛的稳定碳同位素组成数据由 Isodat Acquisition 采集软件采集,Isodat Workspace 定量分析软件分析数据。甲醛的含量由 Empower 软件采集并分析。数据汇总后通过 Microsoft Office Excel 进行相关计算处理。

2 结果与分析

2.1 液相衍生化过程同位素效应试验结果

由表 1 可知,理论值和测定值最大偏差为 0.344%,可以认为甲醛的衍生化反应符合质量平衡方程。根据 Rieley^[30]提出的同位素效应理论,一个化学反应中同位素是否发生分馏,取决于决定反应速率的那一级反应是否存在与碳原子相连的化学键的断裂和生成。DNPH 在反应过程中没有碳原子参与的化学键断裂与生成,因此甲醛的衍生化反应没有发生碳同位素分馏。

表 1 液相衍生化过程结果表

Table 1 Results of liquid phase derivatization process

$\delta^{13}\text{C}_{\text{FA}}$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{DNPH}}$	$\Delta^{13}\text{C}_{\text{甲醛2,4-二硝基苯肼}}$ 理论值	$\Delta^{13}\text{C}_{\text{甲醛2,4-二硝基苯肼}}$ 测定值	偏差 Δ %
			-29.594	0.328
			-29.101	-0.165
-35.937	-28.154	-29.266	-29.444	0.178
			-29.610	0.344
			-29.590	0.324

2.2 水产品中甲醛含量及其碳同位素组成

由表 2 可知,鱿鱼样品中甲醛含量为 0.341~24.185 mg/kg, $\delta^{13}\text{C}$ 值为 -48.167% ~ -24.514% ,龙头鱼中甲醛含量为 54.555~121.416 mg/kg, $\delta^{13}\text{C}$ 值为 -45.430% ~ -27.468% ;日常监督抽检的淡水鱼中甲醛均为未检出;龙头鱼中的甲醛含量远高于鱿鱼,研究^[31]表明,氧化三甲胺酶(TMAOase)存在于鱿鱼、鳕鱼、甲壳类动物等水产品的内脏组织和肌肉中,这种酶的作用底物是氧化三甲胺(TMAO),可催化使其分解产生二甲胺和甲醛(见图 1)。鱿鱼和龙头鱼中的氧化三甲胺酶对甲醛的生成起主要作用,氧化三甲胺可在酶的作用下分解成甲醛和二甲胺,因此海水鱼中氧化三甲胺及酶的存在是其体内甲醛本底产生的主要原因,不同海水鱼中酶的浓度、生存环境差异使得不同种类和地域的鱼体内产生的甲醛含量不一,甲醛中稳定碳同位素组成也呈种类差异和地域差异;淡水鱼中可能缺乏氧化三甲胺酶,不具备甲

表 2 水产品中甲醛含量及 $\delta^{13}\text{C}$ 值[†]

Table 2 Formaldehyde mass fraction and $\delta^{13}\text{C}$ value in aquatic products

样品	甲醛含量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	甲醛 2,4-二硝基 苯胺 $\delta^{13}\text{C}$ 值/ ‰	甲醛 $\delta^{13}\text{C}$ 值/ ‰
鱿鱼样品 1	24.144	-27.724	-25.144
鱿鱼样品 2	17.529	-31.013	-48.167
鱿鱼样品 3	24.185	-27.634	-24.514
鱿鱼样品 4	20.344	-30.927	-47.565
鱿鱼样品 5	8.046	-29.026	-34.258
鱿鱼样品 6	0.382	/	/
鱿鱼样品 7	1.475	/	/
鱿鱼样品 8	0.989	/	/
鱿鱼样品 9	0.341	/	/
龙头鱼样品 1	114.925	-30.622	-45.430
龙头鱼样品 2	121.416	-30.565	-45.031
龙头鱼样品 3	54.555	-29.362	-36.610
龙头鱼样品 4	92.300	-28.056	-27.468
龙头鱼样品 5	99.486	-29.763	-39.417
龙头鱼样品 6	118.370	-30.124	-41.944
淡水鱼样品 1	未检出	/	/
淡水鱼样品 2	未检出	/	/
淡水鱼样品 3	未检出	/	/
淡水鱼样品 4	未检出	/	/
淡水鱼样品 5	未检出	/	/

[†] 各样品甲醛含量测量值相对标准偏差(RSD)均 $<10\%$,
 $\delta^{13}\text{C}$ 值测量值标准偏差(SD)均 $<0.5\text{‰}$ 。

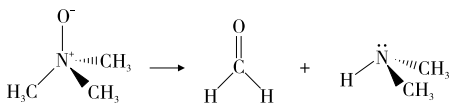


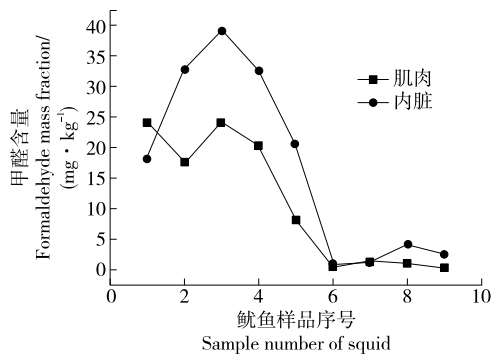
图 1 内源性甲醛生成途径

Figure 1 Formation pathway diagram of endogenous formaldehyde

醛的生成条件,所以一般很少在淡水鱼中检出甲醛。

由图 2 可知,一般鱿鱼样品的内脏部分甲醛含量高于肌肉部分,氧化三甲胺在酶的作用下转化为甲醛过程可能主要在鱿鱼的内脏部分产生,继而代谢至肌肉部分,1 号鱿鱼样品的肌肉部分甲醛含量高于内脏部分,可能是肌肉部分的鱿鱼除了来自于内脏自身代谢,还有一部分来自于外源性甲醛带入。

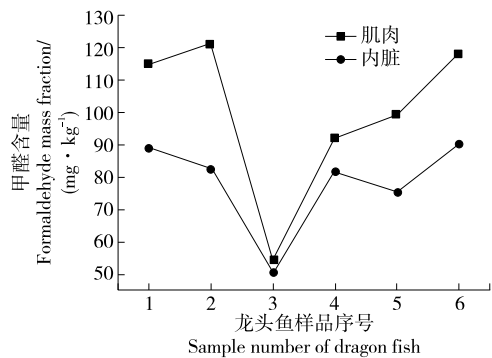
由图 3 可知,龙头鱼中肌肉部分的甲醛含量高于内脏部分。在对龙头鱼进行切分制样过程中发现,龙头鱼的进食方式是直接大量吞食小鱼,内脏中有大量未经消化完全的小鱼残渣,而内脏部分的制样是采取全部内脏混匀均质制样,这些小鱼占内脏的质量比重较高,使得



各样品种甲醛含量测量值的 RSD 均 $<10\%$

图 2 鱿鱼中甲醛含量示意图

Figure 2 Schematic diagram of formaldehyde mass fraction in squid



各样品中甲醛含量测量值的 RSD 均 $<10\%$

图 3 龙头鱼中甲醛含量示意图

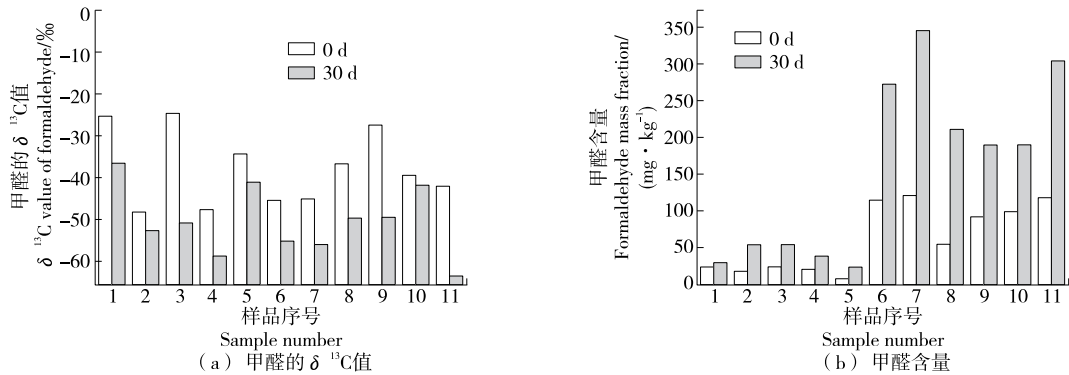
Figure 3 Schematic diagram of formaldehyde mass fraction in dragon fish

内脏部分甲醛含量偏低。

为探究水产品贮藏过程中甲醛含量及稳定碳同位素比值的变化,30 d 后再次对甲醛含量较高的鱿鱼样品 1~5 号和龙头鱼样品 1~6 号进行甲醛含量和 $\delta^{13}\text{C}$ 值测定,结果如图 4 所示。由图 4 可知,鱿鱼和龙头鱼的甲醛含量在 30 d 后均大量提高,其含量最高分别增加了 35.956, 224.416 mg/kg ,且甲醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值也随之逐渐偏负,说明贮藏过程中,鱿鱼和龙头鱼体内的氧化三甲胺在酶的作用下反应活跃,甲醛不断产生,酶促反应中,氧化三甲胺转化而来的甲醛中碳原子偏轻,导致鱿鱼、龙头鱼中甲醛的稳定碳同位素比值逐渐偏负。

2.3 蔬菜制品中甲醛含量及其碳同位素组成

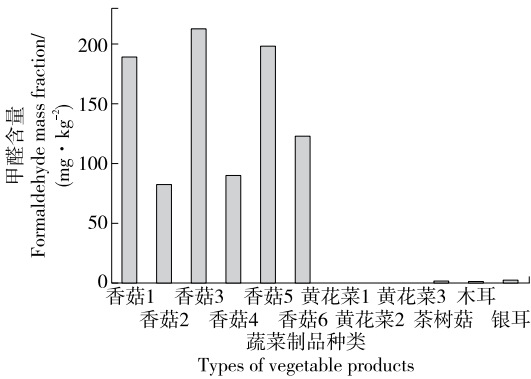
选取日常监督抽检中常有的蔬菜制品类别如干香菇、黄花菜、茶树菇、木耳、银耳进行甲醛含量测定,不同种类蔬菜制品中甲醛含量如图 5 所示。由图 5 可知,干香菇中甲醛含量普遍较高,最高可达 212.741 mg/kg ;黄花菜中甲醛未检出;茶树菇、木耳、银耳中甲醛均有检出,但含量较低,不超过 3 mg/kg 。香菇在生长和贮藏过程



1~5. 鱿鱼样品 6~11. 龙头鱼样品
各样品种甲醛含量测量值 RSD 均 $<10\%$, $\delta^{13}\text{C}$ 值测量值 SD 均 $<0.5\%$

图 4 贮藏过程中甲醛含量及碳同位素比值变化示意图

Figure 4 Schematic diagram of the change of formaldehyde mass fraction and carbon isotope ratio during storage



各样品种甲醛含量测量值 RSD 均 $<10\%$, $\delta^{13}\text{C}$ 值测量值 SD 均 $<0.5\%$

图 5 蔬菜制品中甲醛含量示意图

Figure 5 Schematic diagram of formaldehyde mass fraction in vegetable products

中,香菇体内的 γ -谷氨酰转肽酶和半胱氨酸亚砷裂解酶可将香菇酸(γ -谷氨酰半胱氨酸亚砷)转化成甲醛,因此香菇本体会产生大量的内源性甲醛,并且随着贮藏时间的加长其含量不断增加(见表 3),香菇中甲醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 90 d 后逐渐偏正,可能在 γ -谷氨酰转肽酶和半胱氨酸亚砷裂解酶作用下,香菇酸中更多 ^{13}C 原子转化为甲醛。

2.4 果蔬中甲醛含量及其碳同位素组成

对关注度较高的一些果蔬进行分析,结果如图 6 所示。由图 6 可知,果蔬中检出的甲醛含量较低,苹果中含量最高为 2.478 mg/kg,鲜香菇中甲醛含量较高,高达 38.036 mg/kg,但低于干香菇,因为干香菇中水分少,一般贮藏时间长,甲醛残留量较高。

2.5 食品中甲醛源解析模拟试验及定量源解析模型分析

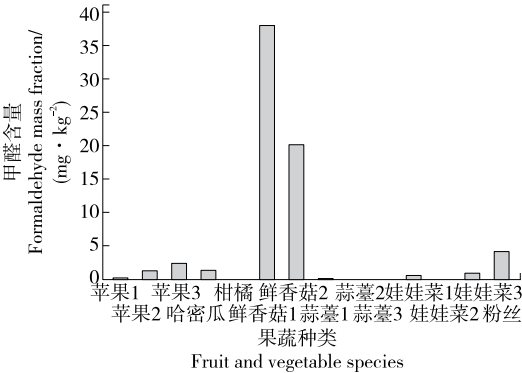
2.5.1 食品中甲醛来源分析模拟批试验及结果 选取龙头鱼中含量较高的样品进行外源性加标模拟试验并测定

表 3 贮藏期香菇干制品甲醛含量变化

Table 3 Changes of formaldehyde mass fraction in dried lentinus edodes products during storage

样品	0 d		90 d	
	甲醛含量/ (mg · kg ⁻¹)	甲醛 $\delta^{13}\text{C}$ / ‰	甲醛含量/ (mg · kg ⁻¹)	甲醛 $\delta^{13}\text{C}$ / ‰
香菇 1	189.149	-36.323	238.124	-20.153
香菇 2	82.907	-28.049	150.222	-19.964
香菇 3	212.741	-37.198	365.218	-22.841
香菇 4	90.335	-34.076	120.364	-26.754
香菇 5	198.124	-41.293	250.314	-28.889
香菇 6	123.012	-20.293	190.140	-13.223

其甲醛含量及 $\delta^{13}\text{C}$ 值,模拟试验结果如表 4 所示。由表 4 可知,龙头鱼中添加 3 个不同浓度水平的标准储备溶液,加标回收率均 $>90\%$,无基质空白中添加 4 个不同浓度水平的标准储备溶液,加标回收率均 $>90\%$,不同浓



各样品甲醛含量测量值 RSD 均 $<10\%$

图 6 果蔬中甲醛含量示意图

Figure 6 Schematic diagram of formaldehyde mass fraction in fruits and vegetables

表 4 龙头鱼中外源性甲醛加标模拟试验结果

Table 4 Simulation test results of exogenous formaldehyde in dragon fish

来源	样品名称	甲醛标准溶液 加标体积/ μL	甲醛含量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	加标回收率/ %	甲醛 $\delta^{13}\text{C}/$ ‰
样品本底甲醛	龙头鱼		195.020 ± 7.582	/	-45.551 ± 0.439
	龙头鱼加标 1 号	30	223.412 ± 10.163	97.27	-40.820 ± 0.054
加标样品甲醛	龙头鱼加标 2 号	150	369.884 ± 17.392	100.41	-36.890 ± 0.475
	龙头鱼加标 3 号	200	404.682 ± 7.820	94.74	-34.328 ± 0.307
外源性甲醛	空白加标 1 号	30	34.351 ± 5.168	99.09	
	空白加标 2 号	100	110.214 ± 2.110	95.37	
	空白加标 3 号	150	160.688 ± 6.548	92.70	-28.289 ± 0.478
	空白加标 4 号	200	210.002 ± 4.998	90.86	

度的空白加标样品中甲醛 $\delta^{13}\text{C}$ 值标准偏差 $< 0.5\%$, 甲醛含量对稳定碳同位素测试的影响较小。外源性甲醛标准品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值比龙头鱼偏正, 向龙头鱼中添加外源甲醛会使龙头鱼样品中甲醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值偏正, 且添加量越大, $\delta^{13}\text{C}$ 值偏正越多。

2.5.2 甲醛来源定量解析模型适用性分析 分别在龙头鱼样品中加入 3 个浓度水平的外源性甲醛, 其外源性甲醛贡献率的理论值、测定值和由式(4)计算得到的计算值如图 7 所示。由图 7 可知, 通过测定浓度得到的外源甲醛贡献率测定值和理论值差异较小, 由定量解析模型分析计算得到的人为添加外源甲醛贡献率计算值比理论贡献率偏大, 甲醛添加量较低时, 计算值与理论值偏差较大; 甲醛添加量较高时, 计算值与理论值相对标准偏差 $< 15\%$ 。总体而言, 通过甲醛来源定量分析模型来分析单一的外源性甲醛添加贡献是可行的, 但是如果实际样品中外源性甲醛来源有多种, 单纯的定量分析模型难以对不同来源的甲醛进行准确的定量计算, 还需综合分析各来源甲醛的稳定碳同位素特征。

3 结论

衍生化—气相色谱—燃烧—同位素质谱法间接测

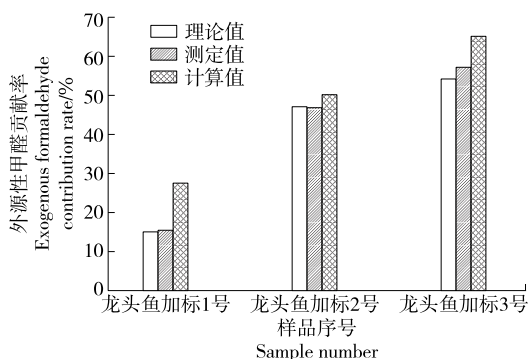


图 7 外源性甲醛贡献率示意图

Figure 7 Schematic diagram of exogenous formaldehyde contribution rate

定食品中甲醛的方法是可行的。水产品中甲醛含量为龙头鱼 $>$ 鱿鱼 $>$ 淡水鱼, 淡水鱼中甲醛未检出, 其含量差异可能与水产品中氧化三甲胺酶存在与否和浓度高低有关, 龙头鱼和鱿鱼中甲醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值均在贮藏 30 d 后越来越负。蔬菜制品中干香菇中甲醛含量较高, 其 $\delta^{13}\text{C}$ 值随贮藏时间的延长逐渐偏正, 与水产品相反。这与香菇和水产品中不同的反应基质和酶有关, 香菇中的酶促反应可能更倾向于将偏正的 ^{13}C 原子转化为甲醛。新鲜果蔬食品中甲醛含量较低, 鲜香菇的甲醛含量较高, 但远低于干香菇, 鲜、干香菇的含量差异可能与水分含量、贮藏条件和时间有关。甲醛标准溶液中甲醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值比龙头鱼偏正, 因此向龙头鱼中添加甲醛标准溶液会使其 $\delta^{13}\text{C}$ 值偏正, 不同加标水平下测得的甲醛 $\delta^{13}\text{C}$ 值及其贡献率符合甲醛来源定量分析模型, 该模型可用于单一来源外源添加甲醛的食品中贡献率的分析计算。若外源性甲醛途径较多, 则需结合多种来源甲醛的稳定碳同位素特征进行综合分析。后期需要建立食品中不同来源甲醛稳定碳同位素组成特征数据库, 为食品中甲醛来源甄别解析提供科学依据。

参考文献

- [1] KIM K H, JAHAN S A, LEE J T. Exposure to formaldehyde and its potential human health hazards[J]. Journal of Environmental Science and Health, Part C, 2011, 29(4): 277-299.
- [2] SITI A A, ZAILINA H, FATIMAH A B. Health risk assesment of adults consuming commercial fish contam inated with formaldehyde[J]. Food and Public Health, 2013, 3(1): 52-58.
- [3] 青岛公布危害食药安全犯罪典型案例[J]. 食品安全导刊, 2018 (11): 78-79.
- [4] 王树庆, 苏蕾. 食品中甲醛的含量与控制[J]. 食品工业科技, 2004(11): 137-138.
- [5] 俞其林, 励建荣. 食品中甲醛的来源与控制[J]. 现代食品科技, 2007(10): 76-78.
- [6] 李薇薇, 朱军莉, 励建荣, 等. 奶糖中内源性甲醛关键形成物质的初步研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 179-181, 328.

- [7] 刘淑玲. 水产品中甲醛的风险评估与限量标准研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009: 27-44.
- [8] 夏苗. 香菇内源性甲醛含量的消长规律及采后调控研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2011: 25-40.
- [9] 李俊, 王辉, 陈中爱, 等. 果蔬中残留甲醛消解动态及其甲醛本底值的研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(12): 337-343.
- [10] 都薇, 杨秀兰, 陆美斌, 等. 小麦粉中甲醛本底值的测定[J]. 食品科学, 2007, 28(4): 270-272.
- [11] 李薇霞. 奶糖中内源性甲醛生成机理研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2011: 9-12.
- [12] TESHIMA N, FERNÁNDEZ S K M, UEDA M, et al. Flow injection spectrophotometric determination of formaldehyde based on its condensation with hydroxylamine and subsequent redox reaction with iron: Ferrozine complex[J]. Talanta, 2011, 84: 1 205-1 208.
- [13] AFKHAM I A, BAGHERI H. Preconcentration of trace amounts of formaldehyde from water, biological and food samples using an efficient nanosized solid phase, and its determination by a novel kinetic method[J]. Microchimica Acta, 2012, 176(1/2): 217-227.
- [14] 汤施展, 黄丽, 陈中祥, 等. 柱前衍生化—气相色谱法测定水产品中的游离甲醛[J]. 中国渔业质量与标准, 2016, 6(2): 51-58.
- [15] 周霞, 李双, 焦丽娟. 顶空气相色谱法测定水发食品中甲醛[J]. 营养与食品卫生, 2018, 45(10): 1 773-1 776.
- [16] 徐继松, 翟少伟, 许璐, 等. 衍生化反相高效液相色谱法检测水产品中的甲醛残留量[J]. 食品工业, 2019, 40(10): 299-303.
- [17] 唐穗平. 柱前衍生高效液相色谱法检测水产品中甲醛的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(7): 2 931-2 936.
- [18] 廖艳华, 周劭桓, 林文斯. 同位素内标法—高效液相色谱—串联质谱法测定海产品中的甲醛含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(19): 7 063-7 068.
- [19] SÁENZ M, ALVARADO J, PENAPEREIRA F, et al. Liquid-phase microextraction with in-drop derivatization combined with micro-volume fluorospectrometry for free and hydrolyzed formaldehyde determination in textile samples [J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 687: 50-55.
- [20] MARISA C, ALMEIDA R. Determination of lead isotope ratios in port wine by inductively coupled plasma mass spectrometry after pretreatment by UV irradiation[J]. Analytica Chimica Acta, 1999(396): 45-53.
- [21] 苑金鹏, 钟宁宁. 稳定碳同位素在污染物源解析中的应用[J]. 环境科学动态, 2003(4): 9-10.
- [22] 彭林, 白志鹏. 应用稳定碳同位素组成特征研究环境空气颗粒物中多环芳烃的来源[J]. 环境科学, 2004, 25(6): 16-20.
- [23] BERANEK J, KUBATOBA A. Evaluation of solid-phase microextraction methods for determination of trace concentration aldehydes in aqueous solution[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1 209(1/2): 44-54.
- [24] BULAT K, YERBOLAT S, JACEK A, et al. GC-MS and GC-NPD determination of formaldehyde dimethylhydrazone in water using SPME[J]. Chromatographia, 2011, 73(1/2): 123-128.
- [25] HO S S, HYUN H L. Simple determination of formaldehyde in fermented foods by HS-SPME-GC/MS[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2012, 47(2): 350-356.
- [26] 余应新, 文晟, 冯艳丽, 等. 亚硫酸氢钠和半胱胺衍生法测定大气甲醛中碳同位素的研究[J]. 化学分析学报, 2006, 34(6): 773-777.
- [27] 孟靖, 张姗姗, 喻文娟, 等. 气相色谱—燃烧—同位素比值质谱法测定枸杞氨基酸 $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$ 值[J]. 分析试验室, 2019, 38(9): 1 080-1 084.
- [28] 余应新, 文晟, 冯艳丽, 等. 大气甲醛稳定碳同位素分析方法研究[J]. 环境科学, 2006, 27(8): 1 495-1 500.
- [29] SHENG Wen, YING Xin-yu, SONG Jun-guo, et al. Improvement of 2, 4-dinitrophenylhydrazine derivatization method for carbon isotope analysis of atmospheric acetone[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2006, 20: 1-5.
- [30] RIELEY G. Derivatization of organic compounds prior to gas chromatographic-combustion-isotope ratio mass spectrometric analysis: Identification of isotope fractionation processes[J]. The Analyst, 1994, 119(5): 915-919.
- [31] GILL T A, PAULSON A T. Localization, characterization and partial purification of TMAO-ase [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 1982, 71(1): 49-56.

信息窗

欧盟修订进口肠衣管理法规

2021年5月20日,欧盟发布(EU)2021/800号委员会条例,修订《进口动物源性食品监控和管理规定》中涉及第三国生产肠衣的进口管理要求。具体内容如下:

(1) 规定第三国从其他第三国进口肠衣原料用于生产出口欧盟的肠衣产品时,应进行补充声明:即出口国主管当局采取了可靠程序措施确保该国采购的原料来源于欧盟批准的国家和企业。

(2) 规定第三国可以向欧盟批准的、允许向欧盟出

口肉及肉制品、胃、膀胱、肠的其他第三国采购原料,用于生产出口欧盟的肠衣。

(3) 规定只有在(EU)2021/404、(EU)2021/405、2011/163/EU号法规附件中列出的第三国方允许行啊欧盟出口肠衣,此外根据(EU)2019/625号法规,第三国的出口企业应在欧盟注册。

该条例自发布之日起生效。

(来源: <http://news.foodmate.net>)