

仲丁胺的防腐作用及其残留检测方法

纪淑娟, 何晓晗, 冯 辉

(沈阳农业大学食品学院, 沈阳 110161)

中图分类号: S482.2⁺94 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2005)04-0086-02

仲丁胺(2-aminobutane, 简称 2-AB)又名 2-氨基丁烷, 是一种保护性杀菌剂, 对多种真菌有抗菌活性可用作蒜薹、青椒、柑橘、葡萄的贮藏期防腐保鲜剂^[1,2]。2-AB 首先在欧洲得到广泛应用, 我国自 1976 年开始应用。国内外尚未见 2-AB 致癌和诱变作用的报道, 但是, 美国已将其对人体健康的危害等级定为三级, 并对其应用范围和最大允许残留量作了规定。已有诸多学者对其在果品和蔬菜中残留量的检测技术进行了研究。为指导仲丁胺防腐保鲜剂的合理应用, 现介绍其防腐作用、毒理学评价及其残留量检测技术研究进展情况。

1 仲丁胺的防腐作用

仲丁胺是一种具有氨臭味的无色易挥发液体, 能与水和多种有机溶剂混溶。1962 年, 美国 Eckert 博士首次发现 2-AB 处理对柑橘由 *Penicillium digitatum* 引起的腐烂有较好的控制作用。1963 年, Eckert 等人进一步研究了 21 种挥发性低级脂肪胺对柑橘由 *Penicillium digitatum* 引起的腐烂的控制作用, 发现 2-AB 的防腐效果最好。1964 年 Eckert 等人用 2-AB 的磷酸盐对 31 种病原微生物, 包括半知菌类、子囊菌和藻状菌纲的真菌以及细菌进行了抑菌实验, 发现其中 7 种病原真菌对 2-AB 磷酸盐敏感, 2-AB 浓度为 50~100 μg/ml (微克/毫升) 时, 即可阻止菌丝生长达 50%; 5 种真菌比较敏感, 2-AB 浓度为 250 μg/ml (微克/毫升) 时, 可阻止菌丝生长达 50%; 细菌对 2-AB 磷酸盐不敏感。同时, 还发现 2-AB 盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐、醋酸盐、丙酸盐和柠檬酸盐的效果无明显差异。结合防腐试验确认应用 2-AB 中性盐可以有效地控制 8 种病原真菌引起的果蔬采后腐烂。这 8 种病原真菌包括① *Penicillium digitatum* (指状青霉, 柑橘绿霉); ② *Penicillium expansum* (扩张青霉, 苹果青霉); ③ *Penicillium italicum* (意大利青霉, 柑橘青霉), 上述三种青霉属的真菌, 主要危害柑橘、苹果、梨、葡萄等, 引起青绿霉病; ④ *Monilina fructicola*, 属于串孢盘菌属真菌, 核果褐腐菌, 主要危害

桃、李等核果类水果, 引起果实褐腐; ⑤ *Glomerella cingulata*, 属于小丛壳属真菌, 炭疽病菌, 主要危害柑橘、苹果、梨、山楂、桃、葡萄、柿和番茄等果实, 产生褐色腐烂斑; ⑥ *Gloeosporium musarum*, 盘长孢属真菌, 主要危害香蕉, 引起炭疽病; ⑦ *Phomopsis citri*, 拟茎点属真菌, 主要危害柑橘, 引起果实褐色蒂腐; ⑧ *Thielaviopsis Paradoxa*, 拟黑根霉属真菌, 危害香蕉和菠萝, 分别引起果柄腐烂和黑腐。此外, Scoft (1967) 报道, 0.05%~2% 的 2-AB 浸果能完全控制 *Gloeosporium musarum* 对香蕉的危害。McDonnell (1971) 报道, 5 mg/ml (毫克/毫升) 2-AB 可有效控制 *Nectria* (丛赤壳属真菌) 引起的苹果采后腐烂。Graham (1970) 报道, 用 2-AB 熏蒸马铃薯, 对 *Helminthosporium Solani* (长蠕孢霉属真菌) 引起的银粗皮病也有很好的效果^[2]。可见, 仲丁胺对多种真菌具有抗菌活性, 可以用来处理果品蔬菜, 防止因真菌侵染造成的产品腐烂变质。1975 年, 联合国粮农组织 (FAO) 和世界卫生组织 (WHO) 推荐将 2-AB 应用于柑橘的采后防腐保鲜, 并指出对控制苹果、梨、桃及香蕉的采后病害同样有效。

2 仲丁胺的毒理学评价

1967 年, Eli 用含有不同剂量 2-AB 的饲料喂养哺乳期的奶牛, 然后检测它们的粪便、血液、牛奶、尿、肝脏、肾脏、脂肪和肌肉中 2-AB 残留量, 发现这些组织中的 2-AB 含量与饲料中 2-AB 的添加量有剂量关系, 2-AB 可以被吸收到牛奶和尿液里, 但在牛奶中的残留量很低。虽然实验组的瘦肉中 2-AB 残留量并没有明显高于对照组, 但是在肾脏和肝脏中有明显的 2-AB 残留。2-AB 易于被吸收, 并且大部分都随尿液排出, 结果见表 1。

表 1 哺乳期奶牛 2-AB 饲喂实验结果 I

| 检测部位 | 残留量 (mg/kg) | 饲料中 2-AB 的添加量 (mg/kg) | | | | | |
|------|-------------|-----------------------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|
| | | 0 | 2 | 5 | 10 | 20 | 100 |
| 牛奶 | 平均 | 0.02 | 0.02 | 0.04 | 0.04 | 0.09 | 1.46 |
| | 范围 | 0.00~0.32 | 0.01~0.04 | 0.01~0.07 | 0.01~0.15 | 0.05~0.11 | 0.65~2.58 |
| 肾脏 | 平均 | 0.01 | 0.06 | | 0.23 | | |
| | 范围 | 0.01~0.021 | 0.05~0.10 | | 0.18~0.30 | | 0.43~2.61 |
| 肝脏 | 平均 | 0.02 | 0.01 | | 0.10 | | |
| | 范围 | 0.01~0.031 | 0.01~0.02 | | 0.04~0.14 | | 0.15~0.19 |
| 瘦肉 | 平均 | 0.02 | 0.01 | | 0.03 | | |
| | 范围 | 0.01~0.05 | 0.01~0.01 | | 0.01~0.06 | | 0.05~0.07 |
| 脂肪 | 平均 | 0.01 | 0.01 | | 0.01 | | |
| | 范围 | 0.00~0.03 | | | | | 0.01~0.03 |
| 尿液 | 平均 | 0.28 | | | 3.60 | | 72 |
| | 范围 | 0.01~1.96 | | | 0.03~15.20 | | 16~179 |
| 血液 | 平均 | 0.06 | | | 0.02 | | 0.58 |
| | 范围 | 0.01~0.63 | | | 0.01~0.04 | | 0.07~3 |
| 粪便 | 平均 | 0.04 | | | 0.11 | | 0.23 |
| | 范围 | 0.01~0.85 | | | 0.01~0.84 | | 0.04~0.81 |

1968 年, Eli 又设计了另一组实验, 以 2-AB 处理过的柑橘制成干饲料, 定量喂给哺乳期奶牛, 测定牛奶、肌肉、肝脏、脂肪和肾脏中 2-AB 含量。7 头 Holstein 奶牛中有 3 头作为

第一作者简介: 纪淑娟, 女, 1960 年生,

1984 年毕业于沈阳农业大学园艺系, 现任沈阳农业大学食品学院教授, 是食品质量控制研究方向学术带头人, 主要从事食品质量控制教学与科研工作, 先后主持省部级科研课题 7 项, 参加了国家自然科学基金和国家科技攻关等多项国家级课题研究工作, 在国内外学术刊物上发表论文 30 多篇, 主编和参编著作 4 部。

收稿日期: 2005-03-14



对照, 4 头定期接受含有剂量为 16 mg/kg(毫克/公斤)2-AB 的饲料, 饲喂期为 7 d(天), 实验结果见表 2。该结果进一步证明了 2-AB 主要残留于肾脏中, 肝脏中也有一定残留。

表 2 哺乳期奶牛 2-AB 饲喂实验结果 II

| 组织 | 残留量范围(mg/kg) | 残留量平均值(mg/kg) |
|----|--------------|---------------|
| 肌肉 | 0.036~0.064 | 0.050 |
| 脂肪 | 0.001~0.028 | 0.018 |
| 肝脏 | 0.148~0.198 | 0.179 |
| 肾脏 | 0.960~2.680 | 1.560 |
| 血液 | 0.012~0.057 | 0.040 |

在制定 ADI 之前, 美国进行了一系列动物试验, 结果表明在以下水平内不会发生毒理学反应: 鼠: 35 mg/kg(毫克/公斤)体重(63 mg(毫克)醋酸盐/kg(公斤)体重)。狗: 69 mg/kg(毫克/公斤)体重(125 mg(毫克)醋酸盐/kg(公斤)体重)。

由于缺乏人体的临床实验结果, 在 1975 年的 FAO 和 WHO 联合会议上, 人体 ADI 值暂时定为 0.2 mg/kg(毫克/公斤)体重, 同时规定了在柑橘和柑橘制品中 2-AB 的最大残留量为: 干制柑橘果肉及糖蜜为 50 mg/kg(毫克/公斤), 柑橘果实为 30 mg/kg(毫克/公斤), 柑橘果汁为 0.5 mg/kg(毫克/公斤)。美国将仲丁胺列入农药范畴, 规定其在食品中的残留限量为柑橘类果实(采用过含仲丁胺类保鲜剂)30 mg/kg(毫克/公斤)、牛肾 3 mg/kg(毫克/公斤)、乳和肉及牛副产品(除牛肾)0.75 mg/kg(毫克/公斤)、柑橘糖浆 50 mg/kg(毫克/公斤), 干制柑橘果肉 50 mg/kg(毫克/公斤)。关于 2-AB 有无三致(致癌、致畸、致突变)危险, 还需作进一步的代谢实验。我国自 1976 年河北农业大学首次合成含 2-AB 的防腐保鲜剂以来, 全国许多单位相继开展了相关研究, 已经证明, 2-AB 对贮藏期间果蔬产品的防腐保鲜作用。GB2760-1996(~2002)食品添加剂使用卫生标准规定仲丁胺残留标准为: 柑橘(果肉)0.005 mg/kg, 荔枝(果肉)0.009 mg/kg, 苹果(果肉)0.001 mg/kg, 蒜薹和青椒 3 mg/kg(毫克/公斤)^[3]。

3 仲丁胺残留量检测方法

仲丁胺保鲜剂的应用, 可以延长果蔬产品的贮藏期。采用适宜的检测方法监测果蔬产品中仲丁胺的残留量, 对保证仲丁胺保鲜剂安全使用十分必要。

目前, 2-AB 残留量检测方法主要有以下几种。

3.1 气相色谱法(GC)

应用气相色谱法检测 2-AB 残留量, 最早是由 McIntire(1953)提出的。之后经过 Kolbezen(1962)和 Day(1966, 1968)的三次改进得以完善。这种方法的原理是: 利用水蒸汽蒸馏, 将 2-AB 从样品中分离出来, 用四氯化碳洗涤后以 2, 4-二硝基氟苯(2, 4-dinitrofluorobenzene, 简称 DNFB)衍生, 生成衍生产物 N-仲丁基-2, 4-二硝基苯胺(N-butyl-2, 4-dinitroaniline, 简称 BDNA), 经薄层分离后, 再经气相色谱仪测定, 根据保留时间和峰面积进行定性和定量分析。该方法的回收率为 80%~100%, 检测限为 0.1 mg/kg(毫克/公斤)。Hoshika Y 等用该方法分析了包括仲丁胺异构体在内的 13 种低级脂肪酸, 得到很好的分离分析效果。Petro-TurzaM 等用气相色谱法检测了马铃薯及其产品中仲丁胺残留量, 均得到较好的分析效果。

1985 年, 杨文熙等提出了直接气相色谱法检测低级脂肪

胺。但由于载体对胺的吸收作用以及胺在柱内可能产生的分解, 检出峰有拖尾现象, 准确度较差, 测定误差较大, 有待改进。

3.2 薄层扫描法(TLS)

1985 年, 甄增立提出用 2, 4-二硝基氟苯(2, 4-dinitrofluorobenzene, 简称 DNFB)衍生薄层扫描法, 检测蒜薹中 2-AB 残留量。该方法样品前处理、衍生反应及薄层分离沿用了 Day 等人的方法, 但直接采用薄层扫描仪进行定量测定。崔同应用自行合成的对酞内酰胺苯磺酰氯(Phisyl-Cl)为衍生剂衍生 2-AB, 取得了满意的结果。该类方法在薄层分离后直接采用薄层色谱仪进行定量测定, 避免了薄层分离后的解吸处理, 简化了检测程序, 减少了待测成分的损失。该法的回收率一般在 90%以上。

3.3 高效液相色谱法(HPLC)

由于 2-AB 没有合适的生色基团用于最终检测, 目前应用的高效液相色谱技术多采用柱前衍生法。所用衍生剂一般具有较强的紫外吸收基团或发射荧光基团, 可以与 2-AB 的 -NH₂ 基反应生成相应的衍生物。用于 2-AB 检测的衍生剂有丹磺酰氯、荧光胺和对酞内酰胺苯磺酰氯^[4]。丹磺酰氯(Dansyl chloride)是 5-甲氨基萘-1-磺酰氯的简称, 是一种强荧光剂, 能专一性地与 2-AB 的 -NH₂ 基反应生成丹磺酰一胺, 后者水解生成的丹磺酰一氨基酸可发射很强的荧光, 用荧光检测器检测。丹磺酰氯衍生试剂的衍生产物稳定, 于暗处 4℃保存一个月损失率不超过 10%, 检测灵敏度也较高, 最低检出限可达 0.2 mg/kg(毫克/公斤)。但衍生反应所需时间较长, 一般需要 1 h(小时)左右。荧光胺只能与伯胺反应, 因此, 该衍生试剂比丹磺酰氯更具选择性, 且衍生反应迅速, 衍生所需时间较丹磺酰氯法短, 最低检出限为 0.1 mg/kg(毫克/公斤), 平均回收率为 99%。崔同等研究了对酞内酰胺苯磺酰氯(Phisyl-Cl)的合成及其性质, 以及它与胺类化合物的衍生反应^[7]。证明该法测定结果的线性范围接近丹磺酰氯衍生法, 而且衍生时间短, 只需普通的紫外检测器即可, 最低检出限为 0.17 mg/kg(毫克/公斤), 平均回收率为 91.3%。但该法中的衍生试剂目前尚未形成商品化试剂。与气相色谱法相比, 该类方法简化了检测程序, 且重现性好, 最大缺点是衍生试剂丹磺酰氯和荧光胺不易获得, 且价格昂贵。

参考文献:

[1] 陈治远. 仲丁胺系列保鲜剂的研究与应用[J]. 山西果树, 1995, (4): 13~14.
[2] 叶凤阁, 张忠源. 仲丁胺抑菌作用及其机理[J]. 北方园艺, 1991, (2): 15~18.
[3] 凌关庭, 唐述潮, 陶民强. 食品添加剂手册[J]. 化学工业出版社, 2003, 1127.
[4] 崔同, 乞永艳. 对酞内酰胺苯磺酰氯衍生法薄层扫描测定仲丁胺残留量[J]. 中国食品添加剂, 1997, (1): 1~5.
[5] Yasuto Tsuruta Yuuko Date and Kazuy Kohashi. Phthalimidy-*t*-benzenesulphonyl chlorides as fluorescence labelling reagents for amino acids in high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography, 1990, 502: 178~183.
[6] 丁雅韵, 谢孟峡, 邓志威. 丹磺酰氯作为氨基酸柱前衍生试剂衍生条件的研究[J]. 北京师范大学学报, 2001, 37(4): 526.
[7] 崔同, 傅承光. 对酞内酰胺苯磺酰氯柱前衍生 HPLC 法测定仲丁胺残留量[J]. 分析测试学报, 1995(b), 14(5): 53~55.