

流动注射分光光度法测定鱼肉及其制品中挥发酚残留量

Determination of the residual volatile phenols in fish meat and its products by the flow injection spectrophotometric

程银棋^{1,2} 郑欣³ 柳迪^{1,2} 冯灏^{1,2}

CHENG Yin-qi^{1,2} ZHENG Xin³ LIU Di^{1,2} FENG Hao^{1,2}

朱影^{1,2} 彭青枝^{1,2} 周陶鸿^{1,2}

ZHU Ying^{1,2} PENG Qing-zhi^{1,2} ZHOU Tao-hong^{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; 3. 武汉市华测检测技术有限公司, 湖北 武汉 430223)

(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; 3. Wuhan Center Testing International Co., Ltd., Wuhan, Hubei 430223, China)

摘要:利用流动注射分析技术,在线蒸馏、提取,显色,建立一种快速测定鱼肉及其制品中挥发酚残留量的连续流动分析方法。结果表明:建立的检测方法线性范围是0.00~40.00 μg/L,相关系数 $r=0.999\ 9$,方法检出限为0.030 mg/kg,RSD范围为0.952%~6.543% ($n=11$),样品加标回收率为72.000%~90.827%,与标准方法比较,该方法具有准确、高效、简便、环保等优势。

关键词:鱼肉;鱼肉制品;挥发酚;流动注射分光光度法;连续流动分析;快速测定

Abstract: Using flow injection analysis technology, online distillation, extraction, and color development, a continuous flow analysis method for rapid determination of volatile phenol residues in fish meat and its products was established. The results showed that the linear range of the established detection method was 0.00~40.00 μg/L, with the correlation coefficient $r=0.999\ 9$, the detection limit of the method is 0.030 mg/kg, with the RSD ranging from 0.952% to 6.543% ($n=11$). The standard recovery rate was 72.000%~90.827%. Compared with the standard method, this method had the advantages of accuracy, efficiency, simplicity, and environmental protection, and was suitable for the promotion and application of testing institutions and production enterprises.

Keywords: fish meat; fish products; volatile phenols; flow injection spectrophotometric; a continuous flow analysis; the rapid determination

酚类化合物是一种芳香族羟基化合物。根据沸点差异,通常分为挥发酚($<230\ ^\circ\text{C}$)和不挥发酚($\geq 230\ ^\circ\text{C}$)。挥发酚是水产品常规监测项目,参考中国水产研究院^[1]建议鱼中挥发酚残留量标准 $\leq 0.2\ \text{mg/kg}$ 。据文献^[2]记载有生活在中下层水中的鱼(如:青鱼、鲤鱼等)挥发酚残留量很高。水产品中过量的酚能影响水产品血液中的各项酶活性,酚能通过改变链接蛋白位置来对人体肠道上皮细胞的功能产生阻碍作用^[3],酚还能抑制肠道乳酸菌的活性^[4]。此外,还有酚类化合物对人及哺乳动物有促癌作用的报道^[5]。目前,中国已有测定鱼肉中挥发酚含量的标准方法(GB 5009.231—2016《食品安全国家标准水产品中挥发酚残留量测定》),但无论是在蒸馏还是萃取、比色过程中都存在诸多影响挥发酚检测准确性的因素。

连续流动分析仪是近年来迅速发展起来自动化程度高,环境污染小、人为误差低的自动生化分析仪^[6]。其原理是样品或标准溶液通过一个采样器被蠕动泵吸出流过整个系统,同时反应所需要的试剂也通过泵自动加入,与样品或标准溶液混合反应,并在最后流经检测器时完成对目标物的检测和信号记录以及分析过程。根据检测方式的不同分为流动注射分光光度法、流动注射原子光谱法、

作者简介:程银棋(1989—),女,湖北省食品质量与安全监督检验研究院中级工程师,硕士。E-mail:cyq026@126.com

收稿日期:2020-05-07

流动注射电化学分析法、流动注射荧光及化学发光法等^[7-10]。该方法消耗的试剂量以及样品的取样量(以微升为计量单位)较挥发酚含量标准检测方法(GB 5009.231—2016)用量少,节约成本,废液少,环境污染小^[11-12]。

研究拟采用连续流动分析仪建立鱼肉及其制品中挥发酚残留量快速检测的流动注射分光光度法,并与 GB 5009.231—2016《食品安全国家标准 水产品中挥发酚残留量测定》法进行方法学上比较,以期检测机构及生产企业提供检测技术指导及应用。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 材料

鲜鱼及鱼制品:湖北省食品质量安全监督检验研究院日常监督抽检及风险监测的抽检样品。

1.1.2 仪器

电子分析天平:ME204 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

全自动连续流动分析仪:San⁺⁺ 型,荷兰 SKalar 公司;

超声波双频清洗机:SB25-12DTS 型,宁波新芝生物科技有限公司;

均质器:B-400 型,瑞士 Buchi 实验室仪器公司;

超纯水器:PURELAB Chorus 1 型,英国 ELGA 公司。

1.1.3 试剂

氯化铵、氨水、NaOH、铁氰化钾、硫酸、硫酸铜:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

4-氨基安替比林:德国 Sigma 公司;

苯酚标准储备溶液:浓度为 1 000 mg/L,北京坛墨质检科技有限公司;

超纯水:电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$,实验室自制。

1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液的配制

(1) 标准中间液:吸取 1 mL 1 000 mg/L 苯酚标准溶液于 100 mL 容量瓶中,用 0.01 mol/L NaOH 溶液定容至刻度,混匀,即为 10.00 mg/L 苯酚标准中间液。

(2) 标准使用液:吸取 10 mL 10.00 mg/L 苯酚标准中间液于 100 mL 容量瓶中,0.01 mol/L NaOH 溶液定容至刻度,混匀,待用,即为 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 酚标准使用液。

(3) 标准系列工作液:分别吸取 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 酚标准使用液 0.00, 0.20, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 4.00 mL 置于 100 mL 容量瓶中,用 0.01 mol/L NaOH 溶液定容至刻度,混匀,待用,即为 0.00~40.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 标准系列液浓度,临用配制。

1.2.2 样品前处理 鲜鱼去鳞、内脏、骨及刺,清洗后粉碎机粉碎,均质器匀浆后装于密封袋,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 封口保

存,待测。鱼肉制品直接粉碎均匀,待测。前处理方法参照文献^[13]稍作改变:称取粉碎后的样品 4 g(精确至 0.001 g)于 100 mL 容量瓶中,加入 75 mL 100 g/L NaOH 溶液,超声 10 min,滴入 3 滴甲基橙指示剂,然后加入 9.2 mol/L 硫酸至溶液呈橙红色,加入 100 g/L 硫酸铜溶液 5 mL,加蒸馏水定容至刻度,混匀,过滤,收集滤液,过 0.45 μm 微孔水系滤膜,待上机。

1.2.3 样品测定方法 接通电源,依次打开软件工作站、数据转换器、自动进样器等设备,迅速将取样器冲洗管及 3 条试剂管放入纯水中,清洗 5 min,后将取样器冲洗管放入 0.01 mol/L NaOH 溶液中,3 条试剂管分别放入对应试剂瓶(试剂瓶 A:0.4 mg/mL 4-氨基安替比林;试剂瓶 B:1 mg/mL 铁氰化钾;试剂瓶 C:10%磷酸溶液)中,运行 10 min,将装满标准系列工作液及样品待测液的进样小杯置于样品盘正确位置,后标准系列工作液与样品待测液通过采样器被蠕动泵吸出流出整个系统,并吸入空气将流体不断地输送,样品待测液与标准系列工作液与试剂 C 混合后在线水蒸气蒸馏(加热器温度 135 $^{\circ}\text{C}$),后馏出液流出,依次与试剂 A、试剂 B 混合,混合液在混合圈中充分混合并反应,再经检测器检测,在 500 nm 滤光片下测定。

全自动连续流动分析仪控制参数:波长 500 nm,进样针清洗时间 60 s,到达阀时间 63 s,加热器温度 145 $^{\circ}\text{C}$,注射时间 97 s,进样时间 60 s,冲洗时间 100 s。

1.2.4 样品挥发酚残留量计算 以浓度为横坐标,响应值峰高为纵坐标,绘制标准曲线。用与绘制标准曲线相同的仪器条件,测定空白与样品待测液的强度,按照线性方程求出相应质量浓度,再按式(1)计算样品中挥发酚残留量。样品均称取 4.000 g,提取后定容至 100 mL 容量瓶中。

$$X = \frac{(A - A_0 - a) \times v}{k \times m \times 1000}, \quad (1)$$

式中:

A_0 ——空白溶液峰高响应值,cm;

A ——样品待测液测得的峰高响应值,cm;

v ——样品定容体积,mL;

a ——标准曲线截距;

k ——标准曲线斜率;

m ——鱼肉样品质量,g;

X ——样品中挥发酚残留量(以苯酚计)的含量,mg/kg。

1.2.5 数据统计分析 采用 SPSS 12.0 软件。

2 结果与讨论

2.1 方法线性及检出限

试验方法在 0.00~40.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内线性方程为 $Y=1.002X-0.152$,相关系数 $R^2=0.9999$,标准曲线峰

形图如图 1 所示。表明连续流动化学分析仪测定挥发酚(以苯酚计)质量浓度在 0.00~40.00 μg/L 范围内线性良好,可以满足鱼肉及其制品中挥发酚残留量的检测需求。

按照 1.2 试验步骤进行 11 次空白试验,经计算得批内标准偏差 S_d 为 0.398,以 $3S_d$ 所对应样品中挥发酚(以苯酚计)含量为检出限。计算得出挥发酚(以苯酚计)

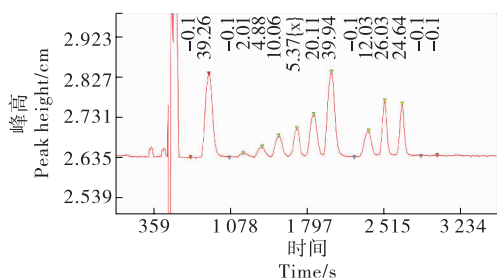


图 1 标准曲线峰形图

Figure 1 Peak curve of standard curve

检出限为 0.030 mg/kg,低于 GB 5009.231—2016《食品安全国家标准 水产品中挥发酚残留量测定》标准规定的检出限 0.05 mg/kg 要求,说明流动注射分光光度法检出限低、方法可靠。

2.2 精密度及回收率

分别取代表性海水鱼(带鱼、大黄鱼)、淡水鱼(草鱼、鲫鱼)、鱼肉制品(鱼丸、鱼糕)4 g,按照 1.2 步骤进行样品前处理及测定,6 次重复试验测得精密度结果见表 1。由表 1 可知:连续流动分析仪测定 6 种鱼肉及其制品中的挥发酚残留量精密度为 0.952%~6.543%,低于 GB 5009.231—2016《食品安全国家标准 水产品中挥发酚残留量测定》规定的≤10%的精密度要求。

分别取代表性海水鱼(带鱼、大黄鱼)、淡水鱼(草鱼、鲫鱼)、鱼肉制品(鱼丸、鱼糕)4 g,按照 1.2 步骤的样品前处理及方法测定要求,进行低、中、高 3 水平(0.05,0.10,0.50 mg/kg)加标回收率试验。由表 2 可知,连续流动分

表 1 精密度测定

Table 1 Determination of the precision

样品	测定值/(mg·kg ⁻¹)						标准偏差	平均值	RSD/%
	1	2	3	4	5	6			
草鱼	0.437 4	0.412 9	0.384 7	0.418 9	0.407 3	0.374 6	0.023 0	0.351 3	6.543
鲫鱼	0.387 4	0.397 4	0.407 3	0.401 5	0.399 6	0.401 3	0.006 6	0.343 0	1.924
大黄鱼	0.400 1	0.389 6	0.397 4	0.405 7	0.418 9	0.404 7	0.009 8	0.346 6	2.832
带鱼	0.401 2	0.389 7	0.409 7	0.404 9	0.405 7	3.853 0	0.009 7	0.343 7	2.827
鱼丸	0.399 2	0.399 6	0.401 4	0.395 3	0.404 1	0.403 7	0.003 3	0.343 8	0.952
鱼糕	0.396 9	0.399 1	0.399 4	0.389 6	0.397 6	0.401 7	0.004 2	0.341 2	1.219

表 2 回收率测定

Table 2 Determination of the recovery rate

样品	0.05 mg/kg			0.10 mg/kg						
	测得值/ (mg·kg ⁻¹)	平均值/ (mg·kg ⁻¹)	回收率/ %	测得值/ (mg·kg ⁻¹)	平均值/ (mg·kg ⁻¹)	回收率/ %				
草鱼	0.038	0.039	0.035	0.037	74.667	0.825	0.814	0.798	0.812	81.233
鲫鱼	0.041	0.035	0.032	0.036	72.000	0.901	0.897	0.782	0.860	86.000
大黄鱼	0.035	0.039	0.039	0.038	75.333	0.843	0.806	0.892	0.847	84.700
带鱼	0.034	0.039	0.038	0.037	74.000	0.789	0.806	0.748	0.781	78.100
鱼丸	0.042	0.040	0.044	0.042	84.000	0.869	0.829	0.895	0.864	86.433
鱼糕	0.041	0.042	0.038	0.040	80.667	0.873	0.914	0.834	0.874	87.367

样品	0.50 mg/kg				
	测得值/ (mg·kg ⁻¹)	平均值/ (mg·kg ⁻¹)	回收率/ %		
草鱼	4.014	3.996	4.028	4.013	80.253
鲫鱼	3.998	4.011	3.596	3.868	77.367
大黄鱼	4.104	4.005	3.895	4.001	80.027
带鱼	4.031	3.992	3.752	3.925	78.500
鱼丸	4.002	4.512	4.628	4.381	87.613
鱼糕	4.098	4.903	4.623	4.541	90.827

析仪测定 6 种鱼肉及其制品中的挥发酚残留(以苯酚计)加标回收率为 72.000%~90.827%,符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中规定的检测方法确认的回收率技术指标的要求,说明该方法测定鱼肉及其制品中的挥发酚残留(以苯酚计)加标回收率较好。

2.3 方法验证

2.3.1 检测结果比对 采用 GB 5009.231—2016《食品安全国家标准 水产品中挥发酚残留量测定》与试验方法对含一定含量的挥发酚(以苯酚计)样品测定,检测结果如表 3 所示,试验方法测定 6 种样品的峰形图如图 2 所示。由表 3 可知,试验方法与标准方法重现性较好,仪器比对差异为 2.0%~8.4%。另外,淡水鱼挥发酚残留量比海水鱼低,可能是海水被石油等污染导致挥发酚残留量较高,海水鱼较淡水鱼生活在更下层,污染较为严重,挥发酚残留量浓度较高,与文献[14—16]报道一致。

2.3.2 测试效率比对 从检测样品数、试剂用量、废液产生量及测试时间四方面进行比较,结果如表 4 所示。由表 4 可知,试验方法比标准方法试剂用量节省 93%以上、样品测定用时节省 65%、测试效率提升 3 倍。由于试验方法所用样品待测液不足 1.5 mL,大大减少了分析过程中与显色剂等试剂污染,废液产生量减少 56.5%。此外,试验方法考虑了水蒸汽蒸馏过程的挥发酚残留量损失情况,标准系列工作液于同样仪器条件下,经过蒸馏提取,得到的线性方程使得样品待测液中挥发酚残留量浓度更准确,这一点较标准方法更精确。

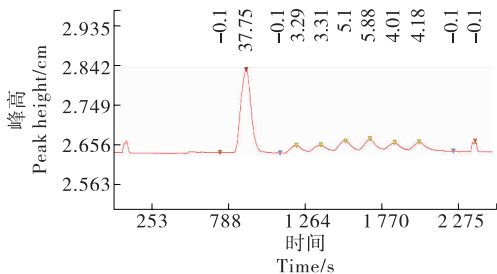


图 2 样品峰形图

Figure 2 The sample peak shape diagram

表 3 连续流动分析法与标准方法比对

Table 3 Comparison between a continuous flow analysis method and a national standard method

样品	连续流动分析法/(mg·kg ⁻¹)	标准方法/(mg·kg ⁻¹)	平均值/(mg·kg ⁻¹)	RSD/%
草鱼	0.107	0.103	0.105	3.8
鲫鱼	0.092	0.088	0.090	4.4
大黄鱼	0.144	0.133	0.139	7.9
带鱼	0.149	0.137	0.143	8.4
鱼丸	0.097	0.093	0.095	4.2
鱼糕	0.101	0.099	0.100	2.0

表 4 测试效率比较

Table 4 Comparison of the test efficiency

方法	每小时处理样品数	每个样本所用试剂用量/mL	每个样本所产废液量/mL
试验方法	50	<0.1	115
标准方法	5	1.5	265

3 结论

试验选择有代表性的淡水鱼、海水鱼及其鱼肉制品为研究对象,通过在线水蒸汽蒸馏提取,探究了流动注射分光光度法测定挥发酚残留量(以苯酚计),在仪器优化条件下,挥发酚残留量(以苯酚计)浓度在 0.00~40.00 μg/L 的范围内遵循比尔定律,有良好的线性关系,相关系数为 0.999 9,方法检出限、精密度均低于 GB 5009.231—2016《食品安全国家标准 水产品中挥发酚残留量测定》规定的检出限 0.05 mg/kg、精密度≤10%的要求;加标回收率符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中规定的检测方法确认的指标要求;流动注射分光光度法比标准方法试剂用量节省 93%以上,样品测定用时节省 65%,废液产生量减少 56.5%,测试效率提升 3 倍。试验证明,建立的方法具有检出限低、高效、环保及大批量样品检验的优势,适用于检测机构及生产企业推广应用。

参考文献

- [1] 中国水产科学研究院环保室. 2000 年中国渔业环境预测[R]. 北京: 中国水产科学研究院环保室, 1989: 6-30.
- [2] 王红梅. 挥发酚对鲫生理指标的影响及其检测与降解研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011: 19-20.
- [3] 杨利娟. 流动注射分析法测定挥发酚考核样探讨[J]. 广东化工, 2019, 46(21): 129-130.
- [4] 夏文盛. SKALAR 连续流动分析仪测定地表水中的挥发酚[J]. 环境与发展, 2020, 32(1): 172-173.
- [5] 黄贤伟. 流动注射在线蒸馏法测定水中挥发酚[J]. 能源与环境, 2019(4): 93-94.
- [6] 战培荣, 王海涛, 陈中祥, 等. 鱼体中挥发酚的提取与残留分析[J]. 农业环境科学学报, 2008(2): 801-804.
- [7] 罗宏德, 葛振平, 尹杰, 等. 流动注射—光度法测定地表水中挥发酚[J]. 理化检验, 2007, 43(10): 841-843.
- [8] 桂婷婷, 朱兆中, 王慧, 等. 全自动流动注射法测定餐(饮)具表面残留阴离子合成洗涤剂[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(2): 148-150.
- [9] SOUSA F M, FERREIRA R J R, SÁ S V M, et al. Novel analytical approach to assess the profile of volatile phenols in Portuguese red wines[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2020, 26(1): 90-100.

(下转第 86 页)

罐体流场和温度场进行计算对比。结果表明:送风管中合理布置环形挡风圈导流板,在小幅度提高流阻的前提下能够增加球罐内部气流向罐内四周流动,整个球罐温度场和速度场的气流均匀性得到有效改善,茶叶做青温度均匀及增加通风对流能有效提升茶叶品质,有利于茶叶摇青工艺。

(3) 球罐型 360°茶叶摇青机风管加装导流板,球罐内部不同点的实测最高温度与最低温度相差 2 K,球罐内气流分布均匀,与模拟仿真结果相吻合。在相同做青工艺参数(吹风时间、摇青时间、晾青时间、做青次数)下,新机型茶叶做青品质明显优于传统滚筒式摇青机,茶叶品质提升了一个等级。

(4) 球罐型 360°茶叶摇青机送风管结构还有待优化,如进一步优化风管中第 2 块导风圈的尺寸以及与第 3 块导风圈轴向距离,可以改善此区域送风管周边的流场。此外,在送风管内外部加倾斜式的导风板,可改善罐体内气流流动,避免顶部气流冲向罐底部。

参考文献

[1] 金心怡,郭雅玲,孙云,等. 摇青不同机械力对青叶理化变化及乌龙茶品质的影响[J]. 福建农业大学学报, 2003, 32(2): 201-204.
 [2] 刘宝顺,占仕权,刘欣,等. 武夷岩茶制茶环境与品质[J]. 农产品加工, 2016(11): 54-56.
 [3] 王赞,郭雅玲. 做青工艺对乌龙茶特征香气成分影响的研究

进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(5): 1 603-1 609.
 [4] 黄意生. 武夷岩茶现代做青技术研究[J]. 福建茶叶, 2015, 37(1): 11-14.
 [5] 黄志政,刘安兴,杨林海. 武夷岩茶机械做青技术探讨[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2019(4): 19-23.
 [6] 周子维,游芳宁,刘彬彬,等. 摇青机械力对乌龙茶脂肪族类香气形成的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(13): 52-59.
 [7] 郝志龙,陈济斌,金心怡,等. 乌龙茶振动做青设备研制与做青环境调控性能试验[J]. 农业工程学报, 2013, 29(10): 269-275.
 [8] KNOPP T, AALRUTZ T, SCHWAMBORN D. A grid and flow adaptive wall-function method for RANS turbulence modelling[J]. Journal of Computational Physics, 2005, 220(1): 19-40.
 [9] 于洋,李若兰,夏治新,等. 热风式枸杞烘干机烘干室结构优化及流场分析[J]. 农机化研究, 2019(9): 214-221.
 [10] 张立贤,刘庆鑫. 烟风道布置低温省煤器流场均匀性分析[J]. 东北电力大学学报, 2020, 40(3): 88-92.
 [11] 虞文俊,吴瑞梅,李红,等. 基于 Fluent-EDEM 耦合的茶叶红外杀青机滚筒内流场数值模拟[J]. 食品与机械, 2019, 35(8): 104-120.
 [12] ROMERO V M, CEREZO E, GARCIA M I, et al. Simulation and validation of vanilla drying process in an indirect solar dryer prototype using CFD fluent program[J]. Energy Procedia, 2014, 57: 1 651-1 658.
 [13] 施兆鹏. 茶叶审评与检验: 第 4 版[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 85-89.

(上接第 52 页)

[10] MCKAY M, BAUER F F, PANZERI V, et al. Perceptual interactions and characterisation of odour quality of binary mixtures of volatile phenols and 2-isobutyl-3-methoxypyrazine in a red wine matrix[J]. Journal of Wine Research, 2020, 31(1): 49-66.
 [11] 张敏,甘瑛琳,吴恩宁,等. 连续流动注射分析法同时测定水中挥发酚、氧化物及阴离子合成洗涤剂[J]. 医学动物防制, 2020, 36(4): 404-407.
 [12] 陈慧玲,毛丽莎,许欣欣,等. 间隔流动分析法同时检测生活饮用水中的挥发酚类和氧化物[J]. 食品安全质量检测学

报, 2019, 10(20): 6 997-7 000.
 [13] 柴丽月,钟惠英,柳海,等. 宁波市水产品中挥发酚含量分析[J]. 中国渔业质量与标准, 2015, 5(1): 61-65.
 [14] 王红梅,李小定,熊善柏,等. 直接蒸馏/4-氨基安替比林法检测淡水鱼体内挥发酚的含量[J]. 食品科学, 2011, 32(4): 196-199.
 [15] 林凯,罗若荣,陈裕华,等. 间隔流动注射分析仪测定鱼中挥发酚的实验研究[J]. 职业与健康, 2009, 25(9): 925-926.
 [16] 罗若荣,林凯,陈方舟,等. 深圳市不同鱼体中挥发酚污染及评价[J]. 中国公共卫生, 2008(6): 689-690.

(上接第 70 页)

[10] SUN Zhi-li, WANG Qi-fan, SU Dan-dan, et al. Comparative analysis of thermodynamic performance of CO₂ cascade refrigeration system assisted with expander and mechanical subcooling[J]. International Journal of Energy Research, 2019, 43(14): 7 891-7 907.
 [11] MASSUCHETTO L H P, DO NASCIMENTO R B C, DE CARVALHO SM R, et al. Thermodynamic performance evaluation of a cascade refrigeration system with mixed refrigerants: R744/R1270, R744/R717 and R744/RE170[J].

International Journal of Refrigeration, 2019, 106: 201-212.
 [12] ROY R, MANDAL B K. Energetic and exergetic performance comparison of cascade refrigeration system using R170/R161 and R41/R404A as refrigerant pairs[J]. Heat and Mass Transfer, 2019, 55(3): 723-731.
 [13] 刘寒,谢晶,王金锋. R404A/R23 复叠式超低温制冷系统试验[J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 111-115, 121.
 [14] 董晓强,李坤,刘玉婷,等. 氨制冷机房氨气泄漏扩散的数值模拟[J]. 制冷学报, 2017, 38(6): 12-19.