

参 考 文 献

- [1] Kyriakidis et al: Preparation of fatty acid methyl esters from olive oil and other vegetable oil using Aqueous hydrochloric acid—Methanol, *J. Analyst*, 738—741, 108, 1983.
- [2] 王光华等: 食用油中脂肪酸含量的气相色谱分析, *分析化学*, 15(10): 936—937, 1987.
- [3] 无锡轻工业学院译: 食品分析的气相色谱法, 轻工业出版社, 238—240, 1987.
- [4] 郑鹏然等: 食品卫生工作手册, 人民卫生出版社, 472—473, 1985.
- [5] 张文德: 香油掺假检验—Halphen 试验方法的改进, *中国油脂*, (2): 31—33, 1988.

表 6. 二种方法测定食用油掺棉籽油含量比较

生产单位	芝麻油含棉籽油(%)		样品编号*	花生油含棉籽油(%)	
	气相色谱法	化学法		气相色谱法	化学法
广东南海九江酱油厂	73.2	70	1	33.8	28.4
河北省南和县果四调料厂	75	78	2	52.3	54
河北省南和县果四调料厂	66.5	70	3	52	43.4
南宁市粮油食品厂仓库	62.3	62.5	4	53	55.5
河北省南和县果四调料厂	63.7	70	5	52	44.5
河北省任县刘力纯真食品厂	89.2	89	6	29.8	31.3
国营湖南岳阳市酱厂	70.8	78	7	26.2	23.4
河北省任县华南食品厂	86.4	87.5	8	53	56.5
河北省任县刘力纯真食品厂	80	95	9	40	40
湛江食品调料总厂	10	10	10	33	30
河北省巨鹿粮食局调味厂	75	60	-	-	-
河北省南和县果四调料厂	54.9	63	-	-	-
河北省平乡县粮食厂	52.8	54.9	-	-	-
广东湛江食品调味总厂	68	72.6	-	-	-
南宁市兴宁区食用油经营部	71.7	63	-	-	-

$n=15, t=0.87, t < t_{(0.05)}, P > 0.05$ $n=10, t=0.31, t < t_{(0.05)}, P > 0.05$

* 花生油采集南宁地区粮仓油库

高效液相色谱法测定蜂蜜中 四环素族残留量

北京市蜂产品研究所 张存洁 曾纪琰

摘 要

本文研究了应有高效液相色谱法同时测定蜂蜜中的四环素族(TCs)残留量,其中包括四环素(TC)土霉素(OTC)和金霉素(CTC)。样品首先经 0.1M Na₂EDTA—McIlvaine 缓冲液(pH4.0)提取,然后经 D4006 型树脂柱净化及富集,最后,TCs 残留物用流动相溶解并定容,进行 HPLC 法分析。色谱柱为 Micropak CN—10(300×4mm),在波长 367nm 处检测,流动相为 0.005M Na₂HPO₄:CH₃CN(75:25)(pH2.5)流速 0.7ml/min,柱温 30℃OTC,TC 和 CTC 的最小检出量分别为 1.41,1.17 和 3.85μg,样品分析的 CV% 为 2.16,2.69 和 3.86,回收率为 93.0—90.2,97.2—84.9 及 88.3—66.1%。本法简单,快速,灵敏度和精密度均较高。

为防止蜜蜂幼虫腐臭等疾病的发生,在饲养过程中,蜂农往往添加四环素族抗生素(TCs),但有时使用不当,在蜂产品中造成药品残留,这为蜂蜜的食用及药用带来一定危害,有些进口蜂蜜的国家要求蜂蜜中抗生素残留量不得超过 0.5ppm^[1],因此建立一个简单快速测定蜂蜜中四环素类抗生素残留量的方法,成为当前急需解决的课题。

目前食品中抗生素的测定方法主要是微生物法,它灵敏度低,无特异性,不能定性,且操作繁琐,测定周期长,尤其是此法不适于蜂产品中TCs的测定,因蜂产品(如蜂蜜,王浆等,)本身具有一定的抗生素活性^[2]。近年来以高效液相色谱法测定蜂蜜及其它食品中的TCs残留量,国外已有报道^[3-5],但他们多采用 sep-paKC₁₈及 COOH 样品预处理小柱进行净化及富集,这种小柱主要靠进口,价格较贵,不适合大量样品的分析检测。本文用国产试剂,主要是国产 D₄₀₀₆型树脂代替 C₁₈小柱,满意地达到净化分离的目的,从而建立了一个应用面较广,简单快速测定TCs残留量的高效液相色谱法。

实验部分

一、仪器与药品

Varian5000LC 系统,UV-100 型紫外可见分光检测器,A4500 型数据处理微机系统;四环素,土霉素和金霉素对照品均购于卫生部药品及生物制品检定所,D₄₀₀₆型树脂为天津大学化工厂产品,乙腈为光谱纯(中科院上海脑研究所),甲醇、Na₂EDTA,Na₂HPO₄·12H₂O,柠檬酸,磷酸均为分析纯。

二、液相色谱条件

色谱柱:CN-10(Micropak·300×4mm)

流动相:乙腈-0.005M Na₂HPO₄(25:75)

流速:0.7ml/min 柱温:29℃

检测波长:λ=367nm

检测灵敏度:0.005auFs。

三、测定方法

1. 对照品溶液的制备:精密称取 TC,OTC

对照品分别为 10.46mg,18.9mg,用 0.01N 盐酸溶解并定容至 50ml,另精密称取 OTC29.48mg 用水溶解定容至 50ml,将以上二溶液按 1:1 混合,混合液稀释 10 倍作为 HPLC 标准工作液,其中 TC:10.46μg/ml,OTC:18.91μg/ml,CTC:29.48μg/ml

2. 0.1M Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液配。

按 pH4.6 的 McIlvaine 缓冲系统配制,其中加入 0.1M Na₂EDTA 后 pH 为 4.0

3. D₄₀₀₆型树脂柱的制备

D₄₀₀₆型树脂过筛后,选取 20-40 目树脂,用甲醇浸泡一夜,弃去甲醇,用水充分洗涤,装入 300×10mm 玻璃柱内,依次用甲醇,蒸馏水,5%Na₂EDTA 溶液和蒸馏水各 50ml 冲洗后备用,用后经以上步骤处理再生,可反复使用多次。

4. 样品处理

称取 20g 蜜样,用 50ml 0.1M Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液(pH4.0)溶解。减压过滤,滤液通过 D₄₀₀₆树脂柱,先用 100ml 蒸馏水冲洗,然后用 50ml 80%甲醇洗脱,收集洗脱液,在 50-55℃水浴中减压浓缩至干,用流动相移出定容至 2ml 备用。

结果与讨论

一、流动相的选择

在腈基柱上用含有少量磷酸盐缓冲液的乙腈-水体系作为流动相,通过调节其 pH 值及乙腈-0.005M Na₂HPO₄溶液的配比,三种四环素 OTC,TC 和 CTC 在 9min 内可获得比较满意的分离(见图 1)。实验发现,流动相的 pH 对 TCs 保留时间和分离度影响极大,以乙腈-0.005M Na₂HPO₄(25:75)为流动相,pH 未调节之前,三种 TCs 几乎不能分离,而用 2M H₃PO₄调节 pH 后,随着 pH 的降低,保留时间延长,三种 TCs 的分离度增大,流动相 pH 调至 2.7-15 时,TCs 可得到完全分离,在 pH2.5 时,进一步对比乙腈-缓冲液 30:70,25:75 和 20:80 不同配比的洗脱效果,发现随乙腈比例的增大,保留

时间缩短,选用 25 : 75 配比的流动相分离效果 最佳。

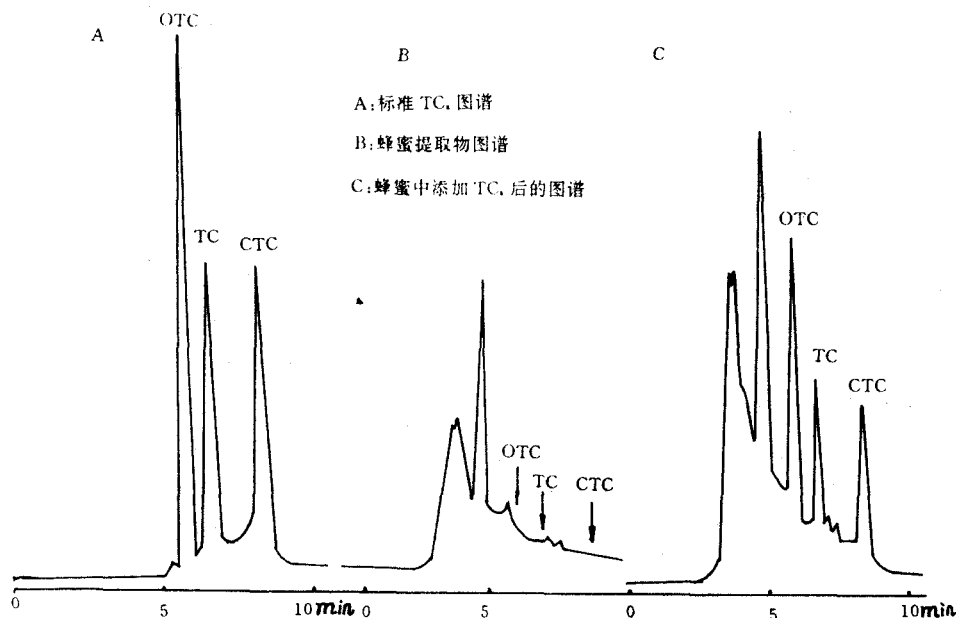


图 1. TCs 的 HPLC 图谱

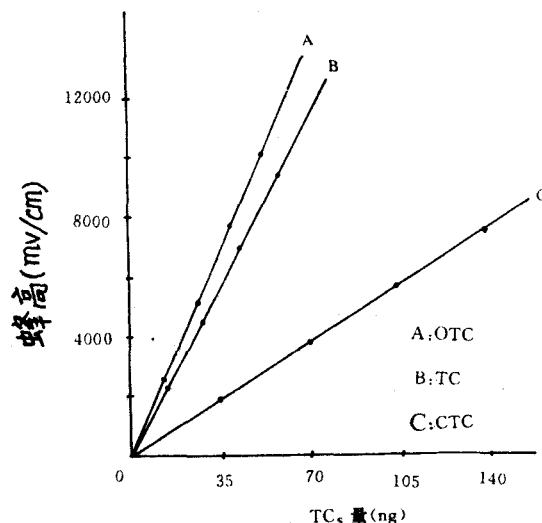


图 2. TCs 标准曲线

二、检测波长的选择

虽然 TCs 在波长 260nm 及 370nm 处各有一个吸收极大峰^[6],但我们发现在 260nm 处检

测样品时,干扰峰较多,而在 367nm 处可大大减少杂质峰的干扰,因此选用 367nm 作为最佳检测波长。

三、样品处理柱—D₄₀₀₆树脂柱的选择。

《蜂蜜及其制品》一书中介绍用 Amberlit XAD—2 树脂柱净化分离样品四环素族^[1],而最近几年国外报道用 sep—pakC₁₈样品预处理小柱净化样品⁽³⁻⁶⁾,sep—pakC₁₈样品预处理小柱及 AmberliteXAD—2 树脂,均为进口产品,价格贵又不易购得,因此我们设想用与 XAD—2 树脂性质相当的国产 D₄₀₀₆型树脂替代。一定量标准 TCs 经过 D₄₀₀₆柱处理后的回收率可达 87—97%,样品添加回收率也较高(见表 I),更主要的是经 D₄₀₀₆柱处理的样品进行 HPLC 分析时,杂质峰对 TCs 的干扰很小[见图 1]效果与 C₁₈小柱处理的样品相当^[4]。

四、OTC、TC 和 CTC 的标准曲线

OTC、TC 和 CTC 的不同量与相应峰高关系见图 2. 结果显示三者在所测重量范围内(OTC: 13—51ng, TC: 14—60ng, CTC: 35—140ng)重量均与峰高成正比,对重量 X (ng)和峰高 Y (mv/

cm)进行一元线性回归处理,求得回归方程式,并在信噪比为2:1时求出各抗生素的检测下限(见表1)。

五、回收率和重复性实验

1. 回收率实验

按前述实验条件,加入已知量的TCs进行以下三种回收率测定,结果见表I

(1)一定量的标准TCs经过D₄₀₀₆柱处理后的回收率。

(2)在20g蜂蜜中添加高浓度已知量TCs(OTC: 9.13ppm, TC: 5.72ppm, CTC: 14.299ppm)测其回收率

(3)在20g蜂蜜中添加低浓度TCs(OTC: 0.94ppm, TC: 0.53ppm, CTC: 1.5ppm)测其回收率。

表1. 标准回归方程及检测下限

TCs	回归方程式	相关系数	检测下限(ng)
OTC	$Y=209x-90$	0.9999	1.41
TC	$Y=156x+1.5$	0.9999	1.17
CTC	$Y=55x-134$	0.9998	3.85

表2. OTC,TC及CTC的回收率

TCs	样品含量(μg)	加入量(μg)	检测量(μg)	回收率(%)
标准品通过D ₄₀₀₆ 柱				
OTC		77.49	75.45	97.4
TC		64.55	61.93	95.9
CTC		211.6	184.4	87.2
20g蜜中添加高浓度TCs				
OTC	0.00	182.6	164.7	90.2
TC	0.00	114.4	111.2	97.2
CTC	0.00	285.7	252.2	88.3
20g蜜中添加低浓度TCs				
OTC	0.82	18.49	18.41	93.0
TC	0.41	10.50	9.32	84.9
CTC	0.00	30.00	19.83	66.1

n=3

每组n=3,结果表明,回收率随着TCs加入量的减少而降低,但最低也超过65%。尤其TCs标准品通过D₄₀₀₆柱的回收率均在87%以上,已基本达到有关文献报道的TCs(25μg)标准品通过Sep-PakC₁₈样品预处理小柱的回收。

表3. 重复性实验测定结果

TCs	组别	1	2	3	4	5	平均值	标准偏差	变异系数(%)
OTC	样品含量(μg)	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82			
	加入量(μg)	18.90	18.90	18.90	18.90	18.90			
	测定值(μg)	18.49	18.49	17.87	18.90	18.28			
	回收率(%)	93.5	93.5	90.2	95.6	92.0	93.0	2.00	2.16
OTC	样品含量(μg)	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41			
	加入量(μg)	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50			
	测定值(μg)	9.24	9.45	9.03	9.66	9.24			
	回收率(%)	84.1	86.1	82.1	88.1	84.1	84.9	2.28	2.69
CTC	样品含量(μg)	0	0	0	0	0			
	加入量(μg)	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00			
	测定值(μg)	20.37	20.00	18.75	20.63	19.38			
	回收率(%)	67.9	66.7	62.5	68.8	64.6	66.1	2.55	3.86

率(88—100%)^[4]但与文献报道所不同的是OTC和TC通过D₄₀₀₆柱的回收率高于C₁₈的,而CTC通过D₄₀₀₆的回收率低于C₁₈的,我们实验的样品添加回收率在66—93%范围也已达到或超过有关资料报道^[6,7],完全可以满足色谱分析要求。

2. 重复性实验

由于实际样品中四环素族含量极低,且不太可能在同一样品同时存在OTC,TC及CTC,因此我们在蜂蜜样品中人工加入少量抗生素,进行回收率的重复性实验。在20g蜜中添加TCs(相当于OTC: 0.94ppm, TC: 0.53ppm, CTC: 1.5ppm)重复5次,外加一个空白,计算OTC、TC及CTC的平均回收率,标准偏差和变异系数,结果见表3。

由上述结果可知,蜂蜜样品用pH4.0的0.1M Na₂EDTA—McIlvaive缓冲液提取,经D₄₀₀₆树脂柱净化浓缩后,在腈基柱上,以pH2.5的磷酸盐缓冲液-乙腈(75:25)做流动相,在波长367nm处,可以同时检测OTC、TC及CTC,方法简单、快速,具有良好的精密度和

回收率。只需3小时便可完成4个样品的分析,且用国产D₄₀₀₆树脂净化处理样品,大大降低了检测成本,为检测食品及医药品中抗生素含量开辟了一条新路。

参考文献

- [1]上海进出口商品检验局情报资料室主编:蜂蜜及其制品,上海师范大学印刷厂,上海,1988。
[2] OKa H, et al: Improvement of chemical Analysis of Antibiotics

X 1., J. Chromatogr., 389:416—426, 1987.

- [3] OKa H, et al: Improvement of Chemical Analysis of Antibiotics
X 1., J. Chromatogr., 400:253—261, 1987。
[4] OKa H, et al: Improvement of Chemical Analysis of Antibiotics
X 1., J. Chromatogr., 325:265—274, 1985
[5]米田丰等:高速液体クロマトグラフィーによる食肉口のテトラサイクリン系抗生物質の定量,食品衛生学杂志(日),30(1):42—47, 1989
[6]李明元主编:高效液相色谱法及其在食品分析中的应用,北京大学出版社,北京,1988。

食物中铝含量的分析

昆明医学院 王 韵
华西医科大学 鲁长豪 肖志芳

本文测定了37种常见食物中铝的含量,粗略估计出中国饮食中铝的日摄入量,并对我国在日常饮食中摄入的铝量是否会构成对人体的危害作出了初步的评价。

铝是地壳里最常见的金属,约占地球表面积总量的8%。近几年的研究证明:铝的摄入量过多与老年痴呆症等一些疾病有关^[1-3],为此铝与人体健康的关系越来越引起人们的重视。我国居民在日常饮食中铝的日摄入量究竟多少?人体正常摄入的铝是否会造成对健康的影响?本文对以上问题作一初步评价。

材料与方法

一、样品来源

37种食品均从成都市各市场、商店购进。

二、分析方法

采用恒温平台石墨炉原子吸收法测定各种食物中的铝含量。

(一)仪器及条件:瓦里安 Spectr AA—40P 原子吸收分光光度计, GTA—96 石墨炉, 铝空心阴极灯, 涂层石墨管和恒温平台, 波长 237.5nm, 狭缝宽度 1.0nm, 灯电流 10mA, 进样体积 10μl, 5μl*, 氩气流速 3L/min, 原子化阶段

停气。氘灯校正背景, 测量方式面积积分。升温程序见表1。

(二)试剂

混合消化液:5:1 硝酸-高氯酸。

硝酸镁溶液:10%(M/V)水溶液。

稀释液:取硝酸镁溶液和硝酸 25ml 和 1.5ml 用水稀释至 50ml。

铝标准溶液(1mg/ml):临用前用稀释液配成试验所需浓度。

配制试剂及实验用水均为亚沸蒸馏水。

表1. 升温程序

步骤	作用	温度(℃)	升温时间(s)	保持时间(s)
1	干燥	300	25;30*	5;10*
2	灰化	1000	15;20*	5
3	原子化	2500	0.8	3
4	除渣	2600	2	1

* 液体样品直接进样时的参数

(三)样品前处理

干样品(米、面、黄豆、茶叶等)用粉碎机打成粉末状。新鲜样品(鱼、肉、蛋、蔬菜、水果等)除去非可食部分,用水冲去泥沙并晾干后,用匀浆机打成匀浆。熟食样品(米饭、面条、油条)和果脯、榨菜等,用匀浆机打成匀浆。准确称取各类均匀食物样品一定量(视食物品种而定)于