

在葡萄糖血琼脂平板上该菌落扁平、灰白,呈弥散状,大小不等,边缘不规则,周围有溶血环;菌体纤细,杆状,芽胞为梭状,位于偏端,偶尔游离,新培养的幼龄菌体为革兰氏阳性。

该菌在增菌产毒培养液中培养 5 d 能产生 > 64 000 LD₅₀/mL 的 B 型肉毒毒素。

将该菌的单个菌落接种增菌培养液做芽胞耐热试验。结果表明该 B 型肉毒梭菌(B-020115)的芽胞能耐受 6 h 的煮沸(兰州地区的沸点为 94)。

3 讨论与小结

3.1 本文报告了一起因食用自制豆瓣酱引起的食物中毒,经流行病学调查和实验检验,自豆瓣酱中检出 B 型肉毒毒素和 B 型肉毒梭菌,并分离到它的纯一菌株,证明为一起 B 型肉毒中毒。按照肉毒梭菌诊断标准及处理原则给予 B 型肉毒抗毒素治疗。^[3]

3.2 此次中毒食品为自制豆瓣酱,与国内多个报告相符。其自制过程正适合肉毒梭菌繁殖产毒需要。因污染的黄豆即使在煮烂后其中的肉毒梭菌芽胞也不可能被全部杀灭(见结果 2.3),芽胞在营养丰富的介质中,适宜的温度下(火墙上),又经密封、发酵(等于厌氧培养),迅速生长繁殖并产毒。该中毒食

品中的毒素含量 1 600 LD₅₀/mL,毒力较高。虽估计 2 个入院病人吃进毒素甚多,但由于 B 型肉毒毒素与神经系统的亲和力较弱,^[4]故本次发病进程较慢,症状不十分严重。然而也未能从他(她)们的血清中检出肉毒毒素(用抗毒血清前采血测试),可能与发病已近 10 d,早已停食中毒食品有关。

3.3 我们建议在早期型别不明的情况下应联合使用 A、B、E 3 型肉毒抗毒素,待型别确定后再采用对型抗毒素治疗。不能因为新疆地区发生 A 型肉毒中毒较多而忽略了 B 型肉毒中毒的可能,以便为患者得到有效治疗争取时间。

参考文献:

- [1] 夏宏器,吴季高,黄愿峰.肉毒中毒[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,1982.3—4.
- [2] GB 4789.12—94.食品卫生微生物学检验——肉毒梭菌及肉毒毒素检验[S].
- [3] WS/T 83—1996.肉毒梭菌食物中毒诊断标准及处理原则[S].
- [4] 王萌椿.一起豆豉引起的肉毒中毒及其实验诊断[J].中华流行病学杂志,1992,13(1):53.

[收稿日期:2002-05-06]

中图分类号:R15;R378.8⁺3 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2002)06-0019-02

杏仁露中氰化物测定方法的研究

徐向阳 翟凤兰

(朝阳市卫生防疫站,辽宁 朝阳 122000)

杏仁为我国北方特产之一。近几年,以杏仁为原料制做的杏仁露由于其冷、热饮皆宜,已成为男女老少喜爱的饮料。氢氰酸与醛酮类相结合以氰甙形态存在于蔷薇科(如李、桃、杏等)植物的果仁中。杏仁中含有苦杏仁甙,这种甙类本身无毒,但与其共存的酶或胃酸可将甙类水解后释放出氢氰酸,以致中毒。因此在 GB 16322—1996 植物蛋白饮料卫生标准中规定的杏仁露中氰化物的标准为 0.05 mg/L,^[1]检验方法按 GB/T 5009.48—1996 规定执行。^[2]在 GB/T 5009.48 和 GB/T 5009.36 中测定氰化物的方法均采用异烟酸-吡唑啉酮分光光度法。在实际工作中我们发现测定杏仁露类试样时在加入显色剂后都出现不同程度的白色浑浊,严重干扰实验测定。经实验发现是杏仁露中的苯甲醛与吡唑啉酮作用产生了白色浑浊。通过实验,我们将显色剂更换为异

烟酸-巴比妥酸,消除了苯甲醛的干扰。此方法的最低检测量为 0.1 μg,校正曲线相关系数为 $r = 0.9991$,高、中、低 3 种浓度回收率为 92.9%~95.4%,相对标准偏差(RSD)分别为 4.4%、4.7%、9.2%。

1 材料与方法

1.1 原理

试样中氰化物经水蒸汽蒸馏后被碱溶液吸收,与氯胺 T 生成氯化氰,然后与异烟酸-巴比妥酸反应生成紫蓝色化合物,于 600 nm 波长处比色定量。

1.2 仪器

水蒸汽蒸馏装置。50 mL、25 mL 具塞比色管。721 型分光光度计。

1.3 试剂

氰化物标准使用液(1 μg/mL)、0.5 g/L 甲基橙指示剂、200 g/L 酒石酸溶液、100 g/L 乙酸锌溶液、0.5 mol/L 氢氧化钠溶液、0.5 mol/L 乙酸溶液、1 g/L 酚酞指示剂、136 g/L 磷酸二氢钾溶液、0.025 mol/L 氢氧化钠溶液、10 g/L 氯胺 T 溶液(现用现配)。

异烟酸-巴比妥酸溶液 称取 2.0 g 异烟酸和 1.0 g 巴比妥酸,溶于 60 ~ 70 的 12 g/L 氢氧化钠溶液 100 mL 中。冰箱中可保存 1 个月。

1.4 方法

试样处理 取 50 mL 杏仁露试样,向其中加入 5 mL 乙酸锌溶液,2 滴甲基橙指示剂,从分液漏斗向其中加入 10 mL 酒石酸溶液,通入水蒸汽进行蒸馏,收集于预先装有 5 mL 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液的 50 mL 比色管中,收集至 50 mL 刻度。

吸取 10 mL 蒸馏吸收液,置于 25 mL 具塞比色管中。

另取 25 mL 具塞比色管 7 支,分别加入氰化物标准使用液 0、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL,各加 0.025 mol/L 氢氧化钠溶液至 10 mL。

向试样及标准管中各加 1 滴酚酞指示剂,用乙酸溶液调至红色刚好消失。向各管中各加入 3 mL 磷酸二氢钾溶液和 0.25 mL 氯胺 T 溶液,混匀。放置 2 min 后,向各管中加入 5 mL 异烟酸-巴比妥酸溶液。25 显色 15 min。

于波长 600 nm 下,用 3 cm 比色皿,以 0 管调节零点,测定试样和标准系列溶液的吸光度。

绘制校正曲线,在曲线上查出试样管中氰化物的含量。

计算公式

$$p(\text{mg/L}) = \frac{m \times 50 \times 1000}{50 \times 10 \times 1000}$$

m —— 试样氰化物含量(μg)

2 结果和讨论

2.1 校正曲线和回归方程 校正曲线在 0~1 μg 范围内线性关系良好,回归方程 $y = 0.22x - 0.004$,相关系数 $c = 0.9991$ 。最低检测量为 0.1 μg,若取 50 mL 试样测定,最低检测浓度为 0.01 mg/L。

2.2 方法的精密度和准确度试验 分别做 0.02、0.05、0.10 mg/L 3 种浓度的加标回收试验,每种浓度平行测定 6 次,结果见表 1。

表 1 精密度和准确度测定结果 mg/L

加入浓度	平均回收浓度	平均回收率 %	相对标准偏差 RSD %
0.020	0.0186	93.0	9.2
0.050	0.0477	95.4	4.7
0.100	0.0929	92.9	4.4

2.3 试样检测 对朝阳市内市场上销售的 8 种品牌的杏仁露,分别用异烟酸-吡唑啉酮法和异烟酸-巴比妥酸法测定氰化物,结果见表 2。

表 2 两种方法测定杏仁露中氰化物结果

编号	吡唑啉酮法	巴比妥酸法吸光度
1	浑浊	0.010
2	浑浊	0.008
3	浑浊	0.010
4	浑浊	0.006
5	浑浊	0.010
6	浑浊	0.005
7	浑浊	0.013
8	浑浊	0.011

2.4 用杏仁露蒸馏后的处理液和用纯品苯甲醛配成的浓度为 0.05 g/L 的溶液,分别与配成和异烟酸-吡唑啉酮法实验用的浓度相同的氯胺 T、异烟酸、吡唑啉酮 3 种试剂,按照实验的加入量进行混合,结果见表 3。

表 3 各种试剂混合后结果

	氯胺 T	异烟酸	吡唑啉酮
杏仁露试样处理溶液	澄清	澄清	浑浊
0.05 g/L 苯甲醛溶液	澄清	澄清	浑浊

实验结果证明,只有苯甲醛与吡唑啉酮产生白色浑浊,而且浑浊只在中性和酸性条件下产生。异烟酸-吡唑啉酮是测定氰化物的最终显色剂,苯甲醛与吡唑啉酮产生白色浑浊时,一方面溶液浑浊影响比色,另一方面也影响了氯化氰与异烟酸-吡唑啉酮生成蓝色,因此异烟酸-吡唑啉酮分光光度法不适用于测定杏仁露中氰化物。测定氰化物的化学方法现在常用的主要有异烟酸-吡唑啉酮法、吡啶-吡唑啉酮法、异烟酸-巴比妥酸法等。^[3]吡唑啉酮用巴比妥酸替换,取得满意的实验结果。显色时间也由 30 min 缩短到 15 min。

2.5 又用苦杏仁和脱苦杏仁的试样处理液,采用异烟酸-吡唑啉酮法进行氰化物的测定。脱苦杏仁(氰化物浓度为 0.31 mg/kg)、苦杏仁(浓度为 21.4 mg/kg)在选择适当量测定时都可以观察到白色浑浊,所以杏仁中本身也含有苯甲醛。苯甲醛,又名苦杏仁油,普通品为无色至淡黄色液体,沸点 179,有苦杏仁味,微溶于水,能与水蒸汽一同挥发。正是因为它能与水蒸气一同挥发的特性,在试样处理时,无论采用直接蒸馏法还是水蒸汽蒸馏法都无法消除干扰。苯甲醛是具有苦杏仁味道的食品添加剂,杏仁露的生产厂家用它来增加杏仁的香味。人为加入是苯甲醛存在的主要原因。另外杏仁中苦杏仁甙是

由戊胆二糖、氢氰酸、苯甲醛组成,^[4]它在水解产生氢氰酸的同时,也产生苯甲醛。因此杏仁中固有的和人为加入的苯甲醛,由于含量高低的不同,造成出现浑浊的时间快慢(即刻至放置一段时间后)、程度(白色至浅黄色)有所不同的现象。

2.6 因为杏仁露在直接加热沸腾时产生大量泡沫,所以采用水蒸汽蒸馏的方式进行试样处理。为了得到较好的回收率,水蒸汽蒸馏装置是关键。我们将酒石酸配成溶液,通过长颈分液漏斗加入到杏仁露中,减少了操作过程中的泄漏。酒石酸溶液在温度低时析出结晶,使用时可稍微加热溶解。

参考文献:

- [1] GB 16322—1996. 植物蛋白饮料卫生标准[S].
- [2] GB/T 5009.48—1996 蒸馏酒及配制酒卫生标准分析方法[S].
- [3] 陈亚妍. 生活饮用水检验规范注解[M]. 重庆:科学技术文献出版社,2001,59.
- [4] 张洪祥,白竟玉,高鹤娟等译. 实用食品卫生[M]. 北京:北京大学出版社,1992,126.

[收稿日期:2002-03-06]

中图分类号:R15;O657.32 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2002)06-0020-03

广而告知

卫生部食检所 北京中卫食品卫生科技公司 经营服务项目

分析仪器和样品前处理设备:

微机极谱仪,微机溶出分析仪,蛋白质测定恒温消化仪,各种物质中金属元素测定前处理设备“数字程控恒温消解仪”,同时可用于微波消解仪消解后消化管中多余酸的赶除

速测产品:

食品安全快速检测箱,食品中心温度计,便携式食品专用激光测温仪,食品酸度计,便携式甲醇速测仪,便携式农药残留速测仪,农药残留速测卡,农药残留测定浸提液,食品中亚硝酸盐速测盒,食品中甲醛速测试剂包,碘盐含碘量速测液,鼠药敌鼠、安妥检测试纸,食用油酸败速测卡,食用油中桐油、大麻油、巴豆油、矿物油鉴别试液,游离性余氯速测盒,消毒液有效氯速测卡,餐饮用具大肠菌群检测纸片,霉菌、酵母菌快检纸片,菌落总数检测纸片,金黄色葡萄球菌检测纸片

标准品:农药、金属和非金属元素标准溶液、多种标准品

软件:理化检验数据统计软件,检验报告打印模板软件,色谱工作站

有需要者可与我们联系。

地址:北京市朝阳区潘家园南里7号

卫生部食检所中卫公司

邮编:100021

电话:010-67731470,67791293

传真:010-67731470

联系人:王林 孙景旺

E-mail:zongwei@95777.com

网址:http://www.bjzw.com.cn