

均检出了(-)-茛菪碱,但均未检出东茛菪碱与消旋山茛菪碱。样品叶子(湿)、叶子(干)、花(干)和果实(干)中(-)-茛菪碱浓度分别为660.86、2 676.62、1 334.28和2 763.62 mg/kg。

3 小结

本研究采用液液萃取-气相色谱-质谱联用法分析测定曼陀罗中3种生物碱,试验结果表明曼陀罗中(-)-茛菪碱含量由高到低依次为果实、叶子和花。对于实际样品分析,该方法操作简单、灵敏度高、提取效果好,从而实现了快速、准确测定曼陀罗中茛菪碱的含量。

实验技术与方法

高效液相色谱法同时测定面粉及面粉改良剂中的曲酸和噻二唑

简龙海,钟吉强,王欣美,郑荣,刘畅,王柯
(上海市食品药品检验所,上海 201203)

摘要:目的 建立高效液相色谱法(HPLC)同时测定面粉及面粉改良剂中的曲酸和噻二唑。方法 色谱柱 Atlantis C₁₈(4.6 mm × 15 cm, 5 μm),流动相组成为乙腈-0.1%磷酸溶液,梯度洗脱,流速1.0 ml/min,进样体积1 μl,曲酸和噻二唑的检测波长分别为269和300 nm。样品以乙腈提取,提取液经离心、滤过后供HPLC分析。结果 曲酸、噻二唑均在0.5~20 μg/ml范围内线性关系良好,平均加标回收率为84.2%~92.4%,RSD为1.1%~6.9%(n=6),检出限(LOD)分别为2.0和0.7 mg/kg。结论 该方法可用于面粉和面粉改良剂中曲酸和噻二唑的测定。

关键词:曲酸;噻二唑;面粉;面粉改良剂;高效液相色谱法

中图分类号:R155.52;TS201.6 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)04-0354-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.04.013

Simultaneous determination of kojic acid and 2-mercapto-5-methyl-1, 3, 4-thiadiazole in flour and flour improver

JIAN Long-hai, ZHONG Ji-qiang, WANG Xin-mei, ZHENG Rong, LIU Chang, WANG Ke
(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of kojic acid and 2-mercapto-5-methyl-1, 3, 4-thiadiazole (MMTD) in flour and flour improver by HPLC. **Methods** Separation was achieved on an Atlantis C₁₈ column (4.6 mm × 15 cm, 5 μm) with the mobile phase of acetonitrile and 0.1% phosphoric acid solution. Gradient elution was used with the flow rate of 1.0 ml/min. The injection volume was 1 μl and the detection wavelength was 269 nm for kojic acid and 300 nm for MMTD. Kojic acid and MMTD in samples were extracted by acetonitrile. After centrifugation and filtering, sample solutions were analyzed by HPLC. **Results** Kojic acid and MMTD both showed good linearity in the range of 0.5-20 μg/ml. The average recoveries were in the range of 84.2%-92.4% (RSD 1.1%-6.9%, n=6). Limit of detection (LOD) of kojic acid and MMTD were 2.0 and 0.7 mg/kg, respectively. **Conclusion** The method can be used

收稿日期:2013-09-27

作者简介:简龙海 男 主管药师 研究方向为食品、药品、化妆品分析 E-mail:jianjlh@hotmail.com

通讯作者:王柯 男 主任药师 研究方向为食品、药品、化妆品分析 E-mail:wksifdc@163.com

参考文献

- [1] 孙亚飞,徐海娇.植物之美[M].吉林:吉林出版集团有限责任公司,2010:82-83.
- [2] 杨玉林,温忆敏,芮振荣,等.气相色谱-质谱联用技术分析毒样品中四种生物碱[J].中国卫生检验杂志,2004,14(3):272-273.
- [3] 邢慧敏,耿振新,刘静,等.一起有曼陀罗引起食物中毒的调查分析[J].职业与健康,2001,17(9):52.
- [4] 中华人民共和国卫生部药典委员会编.中华人民共和国药典(一部)[M].1版.北京:化学工业出版社,2000:219.
- [5] 于霖江,杨德柱,胡淑贤.反相高效液相色谱法测定洋金花中东茛菪碱的含量[J].中成药,1992,14(8):35.
- [6] 何执静,何执宁,王金凤.高效液相色谱法测定洋金花药材中东茛菪碱的含量[J].药物分析杂志,1999,19(3):174-176.
- [7] 褚建新,谢瑜,卓晓聪.东茛菪碱的GC/MS检验[J].法医学杂志,2006,22(4):285-287.

for the determination of kojic acid and MMTD in flour and flour improver.

Key words: Kojic acid; 2-mercapto-5-methyl-1,3,4-thiadiazole; flour; flour improver; high performance liquid chromatography

曲酸化学名称为 5-羟基-2-羟甲基-1,4-吡喃酮,由曲霉属真菌和青霉属真菌产生,具有一定的抑菌能力和抗氧化性,曾广泛应用于食品中^[1-2],但近期研究发现,曲酸在高剂量下长期使用可能具有毒性^[2-3],日本在 2003 年禁止其用于食品及化妆品中^[4]。噻二唑(MMTD)化学名称为 2-巯基-5-甲基-1,3,4-噻二唑,是生产头孢菌素类抗生素的重要中间体,具有一定的抑菌能力^[5-6],但研究发现,MMTD 对斑马鱼的胚胎具有一定毒性^[7]。

关于曲酸和 MMTD 的测定方法有高效液相色谱法(HPLC)^[8-13]和液相色谱-质谱法(LC-MS)^[14-15]等,但与面粉及面粉改良剂有关的报道较少^[12,14],其中顾慧莹等^[12]建立了 HPLC 法测定面粉中的曲酸,但该方法灵敏度低,检测限高达 100 mg/kg;黄娟等^[14]建立了 LC-MS 法测定面制品中的曲酸,灵敏度高,定量限为 0.1 mg/kg,但样品前处理需氮吹、复溶等步骤,操作时间长。本研究建立了 HPLC 法同时测定面粉及面粉改良剂中的曲酸和 MMTD,样品采用乙腈直接提取,方法灵敏度较高,可满足市场监管需要。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样品来源

样品采自上海市超市中 14 批面粉(包子专用粉、小笼包专用粉、精制粉、超级小麦粉、馒头粉、油条专用粉、饺子粉等)和 11 批面粉改良剂(膨松剂、干酵母、泡打粉、复配增稠乳化剂、醋酸酯淀粉、小苏打等)。

1.1.2 仪器与试剂

高效液相色谱仪(Agilent 1260 Infinity 型,配备二极管阵列检测器)、超声波清洗器、超纯水器。乙腈、甲醇、甲酸(均为色谱级),磷酸(优级纯),曲酸(纯度 >98.0%,批号 67CSA-CM,东京化成工业株式会社),MMTD(纯度 99%,批号 F9477A,英国 A Johnson Matthey)。

1.2 方 法

1.2.1 样品处理

取样品,混匀(必要时研细),称取 1 g(精确至 0.01 g),置于 50 ml 具塞塑料离心管中,精确加入乙腈 10 ml,密塞,涡旋振荡 1 min,置冰浴中超声处理 15 min,取出,放置至室温,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。

1.2.2 色谱条件

色谱柱 Atlantis C₁₈(4.6 mm × 15 cm, 5 μm),柱温 25 ℃,流动相为梯度洗脱,梯度程序见表 1,流速 1.0 ml/min,进样量 1 μl,曲酸和 MMTD 的检测波长分别为 269 和 300 nm。

表 1 流动相梯度程序

时间/min	0.1% 磷酸/%	乙腈/%
0	92	8
5	92	8
12	50	50
15	20	80
16	92	8
21	92	8

1.2.3 标准曲线的制备

分别称取曲酸和 MMTD 标准品各 10 mg,置同 1 个 100 ml 量瓶中,加甲醇 10 ml,振摇使溶解,用乙腈定容至刻度,摇匀,制成浓度为 100 μg/ml 的混合溶液,作为混合标准储备液。分别吸取上述混合标准储备液 1 和 2 ml,置于 2 个 10 ml 量瓶中,用乙腈定容至刻度,摇匀,制成浓度分别为 10、20 μg/ml 的混合标准溶液。分别吸取 10 μg/ml 的混合标准溶液 1 和 5 ml,置于 2 个 10 ml 量瓶中,用乙腈定容至刻度,摇匀,制成浓度分别为 1.0、5.0 μg/ml 的混合标准溶液。再吸取 5.0 μg/ml 的混合标准溶液 1 ml,置 10 ml 量瓶中,用乙腈定容至刻度,摇匀,制成浓度为 0.5 μg/ml 的混合标准溶液。分别吸取浓度为 0.5、1.0、5.0、10 和 20 μg/ml 的混合标准溶液,注入液相色谱仪,照 1.2.2 方法测定,记录峰面积。以峰面积为纵坐标(y),以浓度为横坐标(x),拟合线性方程,计算相关系数(r)。

2 结 果

2.1 色谱图及光谱图

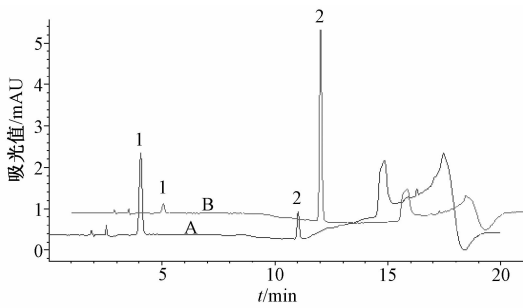
在标准溶液色谱图中,曲酸峰和 MMTD 峰的分度良好,峰形对称,空白无干扰,其色谱图及光谱图分别见图 1~3。理论板数以曲酸峰计为 4 883,以 MMTD 峰计为 57 702。

2.2 标准曲线

曲酸线性方程为 $y = 3.493x - 0.01788$ ($r = 0.9999$),MMTD 线性方程为 $y = 6.551x - 0.1880$ ($r = 0.9999$)。结果表明曲酸、MMTD 在 0.5 ~ 20 μg/ml 范围内线性关系均良好。

2.3 方法精密性及加标回收率

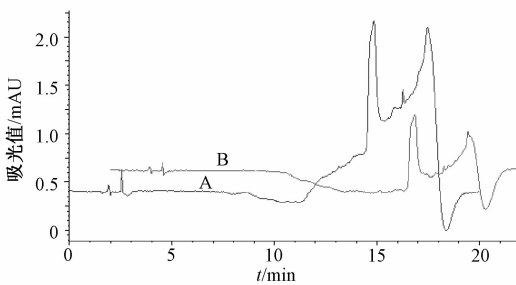
称取不含曲酸和 MMTD 的空白样品 1 g(精确



注:A. 269 nm, B. 300 nm; 1. 曲酸, 2. MMTD

图1 曲酸和 MMTD 混合标准溶液(5 µg/ml) 高效液相色谱图

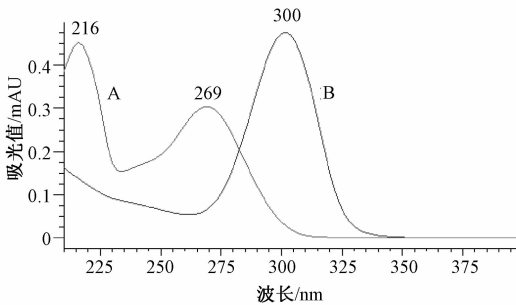
Figure 1 HPLC chromatograms of kojic acid and MMTD standard solution



注:A. 269 nm, B. 300 nm

图2 空白样品溶液高效液相色谱图

Figure 2 HPLC chromatograms of blank sample solution



注:A. 曲酸, B. MMTD

图3 曲酸和 MMTD 的光谱扫描图

Figure 3 Spectrograms of kojic acid and MMTD standard solution

至 0.01 g), 置于 50 ml 塑料离心管中, 分别加入浓度为 5、10、100 µg/ml 的混合标准品溶液各 1 ml (添加水平分别为 5、10、100 mg/kg), 再加入乙腈 9 ml, 混匀, 余同 1.2.1 中“超声处理 15 min”起同法操作。另外称取空白样品 1 g (精确至 0.01 g), 置于 50 ml 塑料离心管中, 加入曲酸、MMTD 标准品各 10 mg (添加水平为 10 000 mg/kg), 再加入乙腈 10 ml, 混匀, 余同 1.2.1 中“超声处理 15 min”起同法操作。每个添加水平平行测定 6 次, 计算回收率及其 RSD, 结果见表 2、3。

表 2 曲酸加标回收率结果 (n = 6)

添加水平 / (mg/kg)	平均测定值 / (mg/kg)	平均回收率 / %	RSD / %
5	4.56	91.2	6.9
10	8.55	85.5	5.5
100	86.70	86.7	3.8
10 000	8 422.00	84.2	1.1

表 3 MMTD 加标回收率结果 (n = 6)

添加水平 / (mg/kg)	平均测定值 / (mg/kg)	平均回收率 / %	RSD / %
5	4.62	92.4	5.4
10	8.78	87.8	4.8
100	89.40	89.4	2.8
10 000	8 814.00	88.1	1.3

2.4 检出限

称取空白样品 1 g (精确至 0.01 g), 置于 50 ml 塑料离心管中, 分别加入 0.5 µg/ml 的混合标准溶液 1、2、3、4、5 ml, 使曲酸、MMTD 的添加水平分别为 0.5、1、1.5、2、2.5 mg/kg, 再分别加入乙腈 9、8、7、6、5 ml, 混匀, 余同 1.2.1 中“超声处理 15 min”起同法操作。计算曲酸、MMTD 的信噪比, 以 3 倍信噪比作为方法检出限, 结果曲酸、MMTD 的 LOD 分别为 2.0、0.7 mg/kg。

2.5 样品测定

取 14 批面粉样品及 11 批面粉改良剂样品按上述方法测定, 结果在 25 批样品中均未检出 MMTD, 但在 1 批增稠乳化剂中检出含曲酸 22 000 mg/kg。

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

曲酸、MMTD 均易溶于水、甲醇, 在乙腈中的溶解度稍差。分别以水、甲醇、乙腈作为提取溶剂进行前处理, 结果水提取液的色谱图中干扰峰较多, 专属性不强; 某些样品 (例如增稠乳化剂) 加水后产生溶胀现象, 溶液较黏稠, 无法过滤。以甲醇提取时, 空白样品色谱图中在曲酸保留时间附近有一干扰峰; 由于曲酸保留时间短, 该干扰峰难以通过调节流动相予以消除。以乙腈提取时, 空白样品无干扰峰, 提取液易过滤, 提取回收率 > 80%。故选择乙腈作为提取溶剂。

3.2 提取时间的选择

取空白样品, 加入曲酸和 MMTD 各 10 mg, 精确加入乙腈 10 ml, 分别超声处理 15、30、45 min, 取出, 离心, 取上清液滤过后注入液相色谱仪进行测定。结果曲酸和 MMTD 的提取回收率均为 84.4% 和 88.2%。结果表明超声处理 15 ~ 45 min 的提取效果相当, 为减少分析时间, 选择 15 min 作

为提取时间。

3.3 流动相的选择

曲酸极性较强,在反相色谱柱上保留不强,相反,MMTD的保留较强,故本试验采用梯度洗脱。若流动相为乙腈-水系统时,曲酸、MMTD的峰形均较宽,曲酸峰形拖尾,MMTD峰形前延。将流动相改为乙腈-0.1%磷酸系统后,曲酸、MMTD均峰形对称,MMTD的保留时间延长,表明酸性流动相有利于曲酸、MMTD的色谱保留。

3.4 进样体积的选择

进样体积为1 μl时,曲酸、MMTD均峰形良好。进样体积≥2 μl时,曲酸峰分裂,但MMTD峰形良好。将1.2.1中供试品溶液用水稀释1倍后,吸取2 μl进样测定,结果曲酸峰的峰形对称,无分裂现象,但进样体积为5 μl时曲酸峰仍分裂。曲酸峰分裂的原因是由于供试品溶液的溶剂(乙腈)与曲酸出峰时的流动相组成(仅含8%乙腈)相差太大,进样体积大时,两种溶剂在短时间内不能完全互溶,故造成峰分裂。将供试品溶液用水稀释1倍后有助于进样溶剂与流动相的互溶,但增加了分析步骤。为缩短分析时间,将进样体积定为1 μl。

3.5 测定波长的选择

光谱扫描表明,曲酸分别在216、269 nm波长处有最大吸收,MMTD在300 nm波长处有最大吸收。为增强检测方法的专属性和灵敏度,选择269和300 nm作为测定波长。

参考文献

- [1] 陶文沂,孙微,许正宏,等.曲酸在食品中的应用[J].中国食品添加剂,2000(2):26-31.
- [2] 李学如,王艳,孟涛.食品中曲酸安全性评价研究进展[J].食品与发酵工业,2005,31(12):79-83.
- [3] 陈永红,邹志飞,王岚,等.曲酸对动物的毒性研究及安全性评价[J].食品科学,2007,28(9):536-540.
- [4] 我国关于加强出口日本食品化妆品中曲酸检验有关问题的通知[J].食品与发酵工业,2003,29(9):55.
- [5] 何江.噻二唑类化合物杀菌活性的研究进展[J].广州化工,2011,39(14):1-3.
- [6] 葛成林,欧阳贵平,贺宝安,等.含1,3,4-噻二唑的噻吩类化合物的合成与杀菌活性研究[J].精细化工中间体,2012,42(6):17-21.
- [7] ZHANG J P, MENG J, LI Y P, et al. Investigation of the toxic functional group of cephalosporins by zebrafish embryo toxicity test[J]. Arch Pharm Chem Life Sci, 2010(10):553-560.
- [8] 聂西度,谢华林,谭文莉,等.食品中曲酸的色谱分析[J].食品科学,2005,26(7):205-207.
- [9] 赵珊,李业鹏,赵海燕,等.离子对高效液相色谱法分析米曲霉发酵液中的曲酸[J].卫生研究,2003,32(4):384-385.
- [10] 柳松.高效液相色谱法同时测定化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁、熊果苷和曲酸[J].色谱,2004,22(6):660.
- [11] 葛宝坤,周荣,高建会,等.高效液相色谱法快速测定化妆品中的防晒剂曲酸[J].中国卫生检验杂志,2005,15(12):1462-1463.
- [12] 顾慧莹,张颖,赵丽莉.高效液相色谱法测定面粉中的曲酸[J].农业机械,2013,3(9):65-66.
- [13] 哈晴,表亚因,张亚莉,等.头孢唑林钠中杂质噻二唑的分离与分析[J].河北大学学报:自然科学版,2009,29(6):614-617.
- [14] 黄娟,刘艳,丁涛,等.高效液相色谱-串联质谱法测定食品中曲酸[J].色谱,2012,30(6):578-583.
- [15] 温泉,孔佳,顾蓓丽.液质联用测定食品中微量曲酸的研究[J].现代食品科技,2010,26(7):1028-1030.

实验技术与方法

气相色谱-三重四极杆质谱法测定果汁中邻苯二甲酸酯含量

姚铭栋

(安阳市疾病预防控制中心,河南 安阳 455000)

摘要:目的 建立一种同时测定果汁中16种邻苯二甲酸酯的气相色谱-三重四极杆质谱(GC-MS/MS)方法,了解安阳市内销售的果汁中邻苯二甲酸酯含量的现状。方法 样品经正己烷提取,固相萃取玻璃小柱净化,萃取液经氮吹浓缩后,以GC-MS/MS测定,外标法定量。结果 16种邻苯二甲酸酯在24 min内流出并完全分离,在5~5 000 μg/L范围内相关系数 r^2 均>0.99,在3个水平的加标试验中,RSD为0.1%~6.1%,样品加标回收率为78%~106%,定性检出限为0.1~0.5 μg/L。结论 该方法通过优化气相色谱条件,使16种邻苯二甲酸酯得到较好分离;选取丰度高的特征离子、最佳的碰撞能量,用GC-MS/MS检测特征离子的二级离子,可减少干扰,避免假阳性的出现,提高灵敏度。该方法操作简单、准确度和精密度高,适用于果汁中邻苯二甲酸酯的检测和确证。

关键词:邻苯二甲酸酯;固相萃取;气相色谱-三重四极杆质谱;果汁;塑化剂;食品污染物;食品安全

中图分类号:R155;TQ414.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2014)04-0357-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.04.014