

【化学测定方法】

龙眼及其制品中氯酸盐残留的测定

潘丙珍¹, 奚星林¹, 梁建嘉²

(1. 广东出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 广州 510623; 2. 广东药学院, 广州 510006)

【摘要】 目的: 建立用离子色谱/电导检测法测定龙眼及其制品中氯酸盐残留的分析方法。方法: 样品经纯水超声提取, 离心 10 min, AB-8 大孔吸附树脂净化处理, 经 0.45 μm 滤膜过滤后进样检测; 选用 Ionpac AS19 阴离子交换分离柱, 氢氧化钾淋洗液梯度洗脱, 流速 0.8 ml/min, 以抑制电导检测器检测。结果: 在 0.05 mg/L ~ 1.00 mg/L 范围具有良好的线性(相关系数为 0.99952); 检出限为 0.5 mg/kg; 样品加标平均回收在 90% ~ 98% 之间, RSD 小于 5.0%。结论: 该方法线性范围广, 重复性及准确性好, 操作较简便, 结果满意, 能满足日常检验要求。

【关键词】 离子色谱; 龙眼; 氯酸盐

【中图分类号】 R155.5⁺1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1004-8685(2011)09-2144-03

Determination of residuary chlorate in longan and the product by ion chromatography

PAN Bing-zhen¹, XI Xing-lin¹, LIANG Jian-jia²

(1. Guangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guangzhou 510623, China; 2. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

【Abstract】 Objective: The method was established to determine residuary chlorate in longan and the product by ion chromatography with conductivity detection. **Methods:** The chlorate was first extracted from the sample by water. After centrifugation for ten minutes, the extraction was cleaned up by AB-8 resin and filtrated with 0.45 μm membrane for further injection and detection. Ionpac AS19 was selected as the separation column. The gradient KOH solution with a flow rate 0.8 ml/min was used as eluent to inhibit conductivity detection. **Results:** It is showed that the method has good linearity in the range of 0.05 mg/L ~ 1.00 mg/L (the correlative coefficients(r) was 0.99952). The limit of quantitation was found to be 0.5 mg/kg. The extraction recoveries were between 90% ~ 98%, the RSD was less than 5.0%. **Conclusion:** The method has a wide linear range, good repeatability and accurate results.

【Key words】 Ion chromatography; longan; Chlorate residue

自 1998 年我国台湾学者颜昌瑞首次利用氯酸钾作为果树产期调控剂对龙眼催花成功以来, 泰国等东南亚龙眼产区普遍应用氯酸钾作为龙眼产期调控剂反季节龙眼生产中使用^[1]; 随着氯酸钾对果树花期调控技术的推广, 施用氯酸钾对果树产期调控的果园日渐增多。近年来, 泰国、马来西亚、澳大利亚等国家大力发展龙眼占领国际市场, 中国的大陆和港澳已成为这些国家龙眼鲜果和加工品倾销的最主要地区。我国实际上已成为龙眼主要进口国^[2]。在使用氯酸钾催花进行产期调控时, 使用量高达每平方米树冠面积 150 g^[1]。而氯酸钾具有强氧化性, 对生物具有潜在毒性, 能引起高铁血红蛋白血症、胃肠炎、肝肾损害等, 甚至窒息^[3]。氯酸钾在水果果实的残留量成为影响人们身体健康的重要指标。为了保障人们身体健康和利益, 促进进出口贸易, 对龙眼等水果进行氯酸钾含量的检测, 对这些水果进行质量监管非常必要和迫切。因

此有必要建立合适的方法对进出口水果进行氯酸钾的检测。

1 试验部分

1.1 仪器

ICS-1500 离子色谱仪 (Dionex); 包括 LC30 色谱炉, ED50A 电导检测器, GP50 梯度泵, EG50 自动淋洗液发生器, AS40 自动进样器; ASRS-4mm 抑制器; Chromeleon 色谱工作站; 超纯水机; 超声仪; 离心机。

1.2 试剂

ClO₃⁻ 标准储备液: 1000 mg/L, 由国家标准物质中心提供。超纯水: 电阻 18.2 MQ; 滤膜: 0.45 μm; AB-8 大孔树脂; 尼龙滤膜: 0.45 μm。

1.3 色谱条件

分析柱: IonPac AS19-HC (4 × 250 mm), 保护柱: IonPac AG19-HC (4 × 50 mm), 淋洗液: 5 mmol/L ~ 50 mmol/L KOH (见表 1), 淋洗液流速: 0.8 ml/min, 进样体积: 100 μl, 色谱池温度: 35℃, 柱温: 30℃, 抑制器电流: 100 mA, 以保留时间定性, 峰面积定量。

【基金项目】 中国检科院资助项目 (2009JK011); 广东省科技项目 (2008-658)

【作者简介】 潘丙珍 (1975-), 女, 硕士, 主管技师, 主要从事食品理化检验。

表 1 淋洗液梯度淋洗程序

时间(t/min)	KOH 浓度(mmol/l)
0	5
25	5
30	50
40	50
45	5

1.4 测定方法

1.4.1 样品处理 将龙眼去皮去壳匀浆,龙眼罐头匀浆,混匀备用。称取制备好的样品 5.0 g 于 50 ml 的容量瓶中,加入约 30 ml 超纯水,超声提取 30 min,用超纯水定容。以 4500 r · min⁻¹ 速度离心 10min。对鲜龙眼或龙眼罐头,直接取上清液经 0.45 μm 尼龙滤膜过滤,收集滤液待测。龙眼干则在离心之后,取上清液经预先处理过的 AB-8 大孔吸附树脂净化处理,再经 0.45 μm 尼龙滤膜过滤,收集滤液待测。

1.4.2 标准曲线制作 准确吸取 2 ml 的 ClO₃⁻ 标准储备液到 100 ml 容量瓶,用超纯水定容,摇匀备用,此标准溶液的浓度为 20 mg/L。再分别取 500 μl、1.0 ml、2.0 ml、4.0 ml、5.0 ml、10.0 ml 的 20 mg/L 的 ClO₃⁻ 标准溶液到 200 ml 的容量瓶中,用超纯水定容。分别稀释成 0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.20 mg/L、0.40 mg/L、0.8 mg/L、1.00 mg/L 标准系列溶液。

2 结果与讨论

2.1 样品处理

因氯酸盐易溶于水,故用去离子水作为提取液,超声提取。实验发现,龙眼干在加工过程中生成的焦糖色素,在分析中使氯酸根出峰提前。必须尽可能去除焦糖色素,而经过试验,多种色素吸附剂,如硅藻土、氧化铝、聚酰胺等对其没有吸附作用。石墨化炭黑柱或活性炭对其吸附作用很好,但石墨化炭黑柱或活性炭本身具有的还原性,而氯酸盐具有强氧化性,二者会发生氧化还原反应。而 AB-8 大孔吸附树脂能将大部分焦糖色素去除,达到较好的净化作用^[4]。故选用 AB-8 大孔吸附树脂净化龙眼干样液。

2.2 分离柱的选择

实验选择新型大容量阴离子交换柱 - IonPac AS19 柱。因为 IonPac AS19 柱是以氢氧化物为淋洗液的高容量阴离子交换柱。主要用于分析卤素含氧酸和饮用水、地表水、废水以及其它复杂样品基体中的常见无机阴离子,包括 F⁻, ClO₂⁻, BrO₃⁻, Cl⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻ 和 SO₄²⁻ 等。AS19 柱的重要应用是以氢氧化钾为淋洗液,梯度洗脱,抑制型电导检测。适用于检测 ClO₃⁻。

2.3 淋洗液浓度和流速的选择

龙眼可能含有较多的无机离子,要准确检测氯酸盐的含量,必须把氯酸根与共存离子有效分离。分离柱选定后,淋洗液对分离效果起决定性作用。淋洗液浓度小,离子出峰时间延长,各离子分离度大,分离效果好;淋洗液浓度大,离子出峰时间缩短,各离子分离度变小,分析时间短;各有所长^[5]。在等度分析实验中发现,采用较高浓度淋洗液时,氯酸盐不能与其他离子很好的分离;而低浓度等度淋洗又会造成分析时间

过长,洗脱不下来的离子会影响下一个样品的分析。为了使氯酸盐能较好的与其它离子分离,而又节省分析时间。实验采用在氯酸根出峰前低浓度淋洗,而出峰后进行高浓度淋洗的梯度淋洗方法进行洗脱。

淋洗液的流速同样会影响到离子的出峰时间、分离度和灵敏度。随着淋洗液流速的增大,出峰时间会提前,分离度也会变小,峰面积也会随之减小,导致灵敏度下降,系统的压力增大。总流速较小时,分离效果较好,但保留时间延长。较低流速有利于提高检测灵敏度,尤其在阴离子总浓度较大时。考虑到分析柱使用时间较长,系统的压力较大,所以淋洗液的流速选用 0.5 ml/min ~ 1.0 ml/min 较适宜^[6]。为了保证目标峰实现较好的分离度,实验选用流速 0.8 ml/min。

2.4 样品色谱图

在选定实验条件下,ClO₃⁻ 能得到较好的分离,参考保留时间为 19.0 min。见样品加标图谱(图 1)。

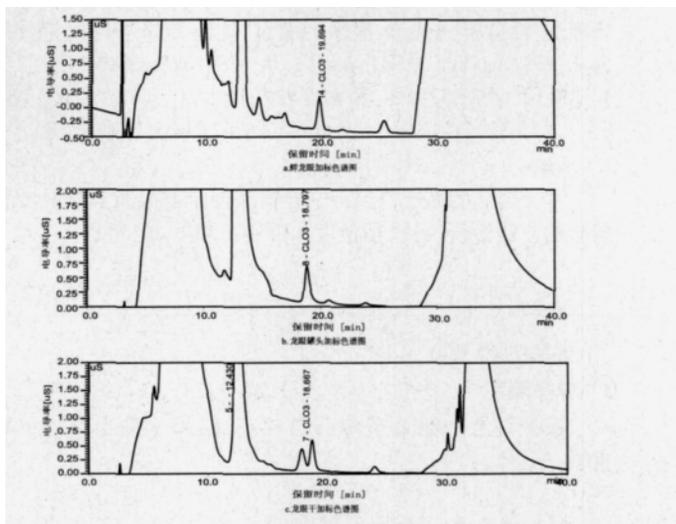


图 1 样品加标测定色谱图

2.5 线性范围

在选定的色谱条件下,ClO₃⁻ 在 0.05 mg/L ~ 1.00 mg/L 线性范围内回归方程为 y = 0.686x - 0.009, 相关系数 r 为 0.99952 (见图 2)。

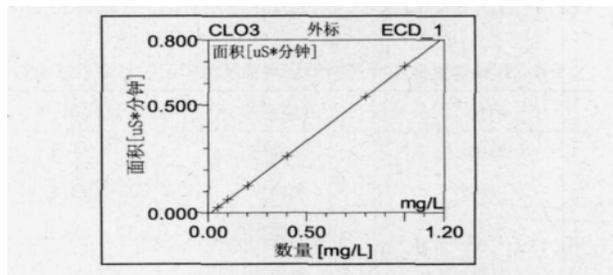


图 2 ClO₃⁻ 标准曲线图

2.6 准确度试验

分别取鲜龙眼、龙眼罐头和龙眼干空白样品 5.0 g 加入一定量的 ClO₃⁻ 标准,使其含量分别为 0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、5.0 mg/kg,按 1.4.1 方法进行处理,进样分析,每个进行 6 次平行测定,计算其回收率。结果表明,回收率范围在 82.1% ~ 102.7% 之间,平均回收率在 89.4% ~ 97.5% 之间,见表 2。

表 2 样品加标回收结果 ($n=6$)

样品	样品本底 (mg/kg)	添加量 (mg/kg)	测得平均值 (mg/kg)	回收率范围 (%)	平均回收率 (%)
鲜龙眼	—	0.5	0.452	84.1-95.3	90.4
	—	1.0	0.933	87.9-96.6	93.3
	—	5.0	4.825	92.0-101.2	96.5
龙眼罐头	—	0.5	0.456	86.5-97.4	91.2
	—	1.0	0.958	89.7-98.3	94.1
	—	5.0	4.876	93.2-100.8	97.5
龙眼干	—	0.5	0.447	82.1-96.7	89.4
	—	1.0	0.928	86.4-100.2	92.8
	—	5.0	4.697	91.5-102.7	93.9

注：“—”表示“未检出”。

2.7 精密度试验

分别取鲜龙眼、龙眼罐头和龙眼干空白样品 5.0 g 加入一定量的 ClO_3^- 标准,使其含量均为 1.0 mg/kg,按 1.4 方法进行处理,进样分析,进行 6 次平行测定,测定结果平均值为分别为 0.933 mg/kg、0.941 mg/kg、0.927 mg/kg, RSD 分别为 3.72%、2.69%、3.91% 精密度较好。

3 小结

本文建立的离子色谱-电导检测测定龙眼及其制品中氯酸盐的方法简便快捷,精密度和准确度较好,能满足日常检测

工作的要求。

表 3 样品加标测定的精密度 ($n=6$)

	结果 1	结果 2	结果 3	结果 4	结果 5	结果 6	均值	RSD
	mg/kg	(%)						
鲜龙眼	0.879	0.906	0.954	0.966	0.931	0.962	0.933	3.72
龙眼罐头	0.951	0.897	0.923	0.965	0.983	0.927	0.941	2.69
龙眼干	0.952	0.934	0.895	1.002	0.912	0.864	0.927	3.91

[参考文献]

- [1] 张修玉,曾祥有,姜春晓,等. 龙眼产期调控剂氯酸盐对果园土壤微生物的影响[J]. 首届全国农业环境科学学术研讨会论文集, 2005, 11(1): 72-77.
- [2] 曾祥有,黎华寿,陆宏谋,等. 氯酸钾对龙眼产期的调控效应[J]. 应用与环境生物学报, 2004, 10(5): 573-576.
- [3] 黎华寿,张修玉,姜春晓. 氯酸盐生态毒理研究进展[J]. 生态学杂志, 2005, 24(11): 1323-1328.
- [4] 龚美珍,殷绍平. 糖蜜酵母废水提取焦糖色素的研究[J]. 中国调味品, 2005, 11(11): 43-46.
- [5] 钟志雄,梁春穗,杜达安,等. 离子色谱法测定食品中亚硫酸盐的应用研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 29-31, 39.
- [6] 侯艳文,牟世芬,侯小平,等. 阴离子交换色谱淋洗液流速对测定灵敏度影响的讨论[J]. 色谱, 1998, 16(4): 347-350.

(收稿日期: 2011-05-09)

(上接第 2143 页)

3 样品测定

按拟订方法测定全蝎药材样品,结果未检出维吉尼霉素 M_1 。

4 其它样品测定与回收率试验结果

取蜈蚣、乌梢蛇、海马和水蛭药材按上述方法制备基质标准溶液和供试品溶液,并按“2.5.3 加样回收率”项下,分别精密加入每 ml 含 5 μg 维吉尼霉素 M_1 的对照品溶液 25 μl (蜈蚣、乌梢蛇),制备中,高浓度的加样回收率试验。结果表明这些药材的回收率均较好,该方法的适用性较广,具体见表 4:

表 4 蜈蚣等其他 4 种药材测定结果及加样回收率试验试验结果

药材	测定结果	回收率(%)
蜈蚣	未检出	84.5
乌梢蛇	未检出	93.7
海马	未检出	85.2
水蛭	未检出	90.3

5 讨论

目前文献报道的维吉尼霉素 M_1 检测多针对新鲜家禽或猪肉,其样品一般为肌肉或肝脏等部位,其中含有大量的水分,基质相对简单,检测方法包括高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱^[2-4]。动物类中药多为全体入药,且经过炮制后,基本干燥无水分,肌肉相对较少,含有大量甲壳、毛发和其他部位,基质复杂,90%为固态物质,更易受到杂质干扰,故采用专属性强、灵敏度高的液相色谱-串联质谱测定法,利用分子量不同,采

用 MRM 技术,避免了其它杂质的干扰,专属性强,灵敏度高。

根据文献报道,维吉尼霉素 M_1 在氯仿中易溶,在丙酮、乙醚中极微溶解,在石油醚中不溶。故采用以氯仿为溶剂进行液液萃取净化,并在氯仿萃取前使用石油醚萃取除去脂溶性强的杂质。经过溶剂的萃取次数和萃取体积的考察,最终确定了样品的前处理方式,实际操作中发现其简单、快捷,适用于多种药材。

取纯溶剂配制的混合标准工作溶液制备标准曲线;另取全蝎样品,一式 6 份,按供试品制备方式供试品溶液,将供试品溶液于 40 $^{\circ}\text{C}$ 氮吹至干,分别精密加入浓度为 5 ng/ml、25 ng/ml、50 ng/ml、100 ng/ml 和 200 ng/ml 的对照品溶液各 1 ml 作为基质对照品溶液;精密吸取各基质对照品溶液 10 μl 进样测定,以上述标准曲线计算基质对照品溶液中的浓度,与配制浓度进行比较,计算百分比,考察基质效应。结果表明,基质对照品浓度仅为真实浓度的 10%,基质减弱效应明显,故本方法需制备基质标准曲线进行计算。

[参考文献]

- [1] 赵洪娟,张月琴. 维吉尼亚霉素类抗生素的应用[J]. 饲料工业, 1998, 19(5): 46-47.
- [2] 耿志明,陈明,许大光. 高效液相色谱法测定猪组织中维吉尼亚霉素 M_1 的残留[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(2): 10-13.
- [3] GB/T 20765-2006. 猪肝脏、肾脏、肌肉组织中维吉尼亚霉素 M_1 残留量测定 液相色谱-串联质谱法[S]. 2006: 1-5.
- [4] 林维宣,孙兴权,田苗. 动物组织中粘杆菌素、杆菌肽及维吉尼亚霉素残留量的液相色谱-串联质谱检测[J]. 分析测试学报, 2009, 28(2): 212-215.

(收稿日期: 2011-05-19)