

明,其平均治愈率、有效率、3个情期受胎率分别为 59.3%、85.1%、69.6%。由于该药可较长时间黏附在子宫黏膜上,具杀菌消炎作用,同时可改善子宫血液供给,调节与兴奋子宫腺体分泌,促进子宫黏膜再生,加强子宫收缩,加速炎性分泌物排出,消除子宫内炎症,从而为提高受胎率创造有利的子宫内环境。

3.2 引起奶牛子宫内膜炎的病原菌有细菌、真菌、霉形体、病毒以及毛滴虫等,主要致病菌为链球菌,其次为大肠杆菌和金黄色葡萄球菌。中兽医称奶牛子宫内膜炎为带症,多因母畜产后疾病的发生,或由于孕期饲养管理不善,怀孕负担过大,过度使役、分娩、感染等因素导致气血阻滞或虚损,进

而机体正气虚衰,邪气乘虚而入。治疗原则通常是活血祛瘀,补血行气。现代药理研究表明,处方中连翘含有丰富的挥发油,主要成分为 β -蒎烯、 α -蒎烯等,主要药理活性是抗菌、抑制病毒等作用;丹参主要成分为丹参酮,对金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、绿脓杆菌、大肠杆菌、伤寒杆菌、肺炎双球菌等均有抑制或杀灭作用;红花有效成分为查耳酮类化合物红花黄色素,可活血通经,祛瘀止痛。诸药合用,共达活血祛瘀、养血行气、温经止痛之功效。

3.3 本试验表明,清宫液2号家兔滴眼法对局部黏膜刺激小,治疗奶牛子宫内膜炎疗效确实可靠,且为纯中药方剂,具有残留与毒副作用小、使用方便等特点,值得推广应用。

高效液相色谱法测定白牦牛乳中 VC 的含量

和燕玲^{1,2},景志忠²

(1. 甘肃农业大学,甘肃兰州 730070; 2. 中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原生物学国家重点实验室
农业部兽医公共卫生重点实验室 甘肃省动物寄生虫病重点实验室)

中图分类号: S859.7

文献标识码: A

文章编号: 1000-6354(2009)06-0033-03

白牦牛(white yak)是我国甘肃省天祝县特有的畜种资源。白牦牛乳洁白浓香,营养丰富,具有较高的营养价值,对白牦牛乳中维生素含量的研究具有重要的营养学意义和价值^[1]。有关维生素的分析方法较多,包括药典中的标准方法——碘量法^[2]、比色法^[3]、电位滴定法、化学法^[4]、气相色谱法、高效液相色谱法和微生物法^[5]等,其中以高效液相色谱法应用最广泛。该法具有高效、快速、稳定、可靠、重现性好等特点,并能实现多种维生素的同时测定。

据报道,目前采用 HPLC 法测定食物和药物中维生素 C(vitamin C)含量所建立的色谱方法各不相同,主要表现在样品前处理和色谱测定条件上,不同的样品前处理和色谱测定条件都会影响到测定结果的准确度,常海军等^[6]对白牦牛乳中 VA 和 VE 的含量进行了分析。笔者等采用高效液相色谱法,以 0.1% 草酸作流动相,对白牦牛乳中 VC 的含量进行测定,并取得了较理想结果。

1 材料与方法

1.1 试验原料及采样

试验样品为白牦牛乳,采自甘肃省天祝县松山乡牧场。选择健康产犊 3 胎的白牦牛 3 头,分别编为 1、2、3 号,在晨牧前采样,分装 500 mL 灭菌试验样瓶中,加以标签标记,于 -20℃ 下贮藏(由于 VC 有较强的还原性,应立即测定,以免影响测定结果)。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 主要仪器 Agilent 1200 LC series 高效液相色谱仪

收稿日期: 2009-06-26

基金项目: 国家“十一五”支撑计划

作者简介: 和燕玲(1978-),女,在读研究生,研究方向: 病原与宿主分子生物学与免疫学。

配有四元梯度泵、自动进样器、紫外检测器、数据记录及处理系统,美国安捷伦公司); ODS-C₁₈(5 μ m, 4.6 mm $\times$ 150 mm) 色谱柱;超纯水机(上海和泰仪器有限公司);台式离心机(4 000 r/min, 上海安亭科学仪器厂); PE-5289 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)等。

1.2.2 试剂 草酸,分析纯,天津化学试剂有限公司;VC 标准品,分析纯(含量为 99.7%),国药集团化学试剂有限公司;乙醇,分析纯,江都市嘉利化工厂;超纯水为自制。

1.3 标准储备液的制备

1.3.1 标准储备液 准确称取 VC 标准对照品 100 mg 于 50 mL 棕色容量瓶中,加适量 0.1% 草酸溶解后定容,作为标准储备液。

1.3.2 标准工作液 准确吸取上述标准储备液 5 mL 于 100 mL 棕色容量瓶中,用适量 0.1% 的草酸稀释并定容,作为工作标准品溶液。

1.4 样品处理

准确量取白牦牛乳 3 mL 于离心管中,加适量乙醇沉淀蛋白,于 3 500 r/min 离心 5 min,吸取上清液置旋转蒸发器中,通氮气蒸干乙醇,剩余液体用 0.45 μ m 滤膜过滤,滤液作为样品测定溶液。

1.5 色谱条件

色谱柱: ODS-C₁₈(5 μ m, 4.6 mm $\times$ 150 mm);流动相: 0.1% 草酸溶液;流速: 1.0 mL/min;柱温: 25℃;紫外检测器波长: 254 nm;进样量: 25 μ L。

1.6 线性测定

准确量取标准储备液 10 mL 于 100 mL 棕色容量瓶中,用 0.1% 草酸溶液稀释并定容,再分别准确量取 2、4、6、8 和

10 mL于10 mL棕色容量瓶中,加0.1%草酸溶液稀释并定容,制成浓度为0.04、0.08、0.12、0.16、0.20 mg/mL的系列对照品溶液,后按照1.5中的色谱条件分别进样测定线性。

1.7 精密度试验

取标准工作液,按照1.5中的色谱条件重复进样分析6次,并保存色谱图。

1.8 定量测定^[7]

按1.5中所述的色谱条件,分别精密吸取工作标准品溶液和样品溶液25 μL注入液相色谱仪,根据标准品的保留时间定性分析测试样品中VC的出峰时间,再根据工作标准品的峰面积对样品的峰面积进行定量分析,按下列公式计算含量:

$$\text{含量}(\%) = \frac{A_{S(\text{样品})} \times C_{(\text{标准})} \times P_{(\text{标准})} \%}{A_{S(\text{标准})} \times 3}$$

其中 $A_{S(\text{样品})}$ 代表样品的出峰面积; $C_{(\text{标准})}$ 代表标准品的浓度, $P_{(\text{标准})} \%$ 代表标准品的含量, $A_{S(\text{标准})}$ 代表标准品的出峰面积,3代表白牦牛乳3 mL。

1.9 回收率试验

分别准确量取标准工作液0.6 mL于3个10 mL棕色容量瓶中,再分别加入已知浓度的样品溶液0.8、1.0、1.2 mL,混匀后同样品溶液处理,后按“1.5”项中的色谱条件进样,测定其回收率。

2 结果与分析

2.1 标准对照品测定结果

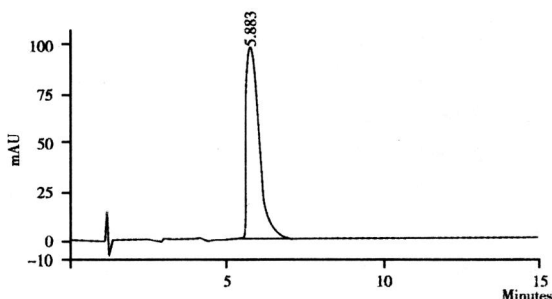


图1 VC标准对照品色谱图

见图1。在“1.5”项所建立的色谱条件下,VC能较好的分离,且峰形对称、完整、无拖尾现象。VC的保留时间为5.883 min,标准峰面积平均为9 854.6,相对标准偏差(RSD)为0.24%。

2.2 线性测定结果

用“1.5”项所建立的色谱方法对“1.6”项所述的线性测定溶液进行分析,测定结果见图2。

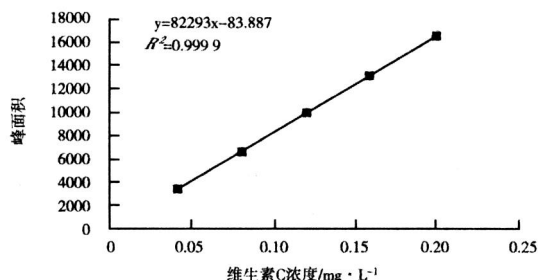


图2 VC线性测定结果

由图2可见,本研究所建立的色谱方法在线性测定中,

R^2 为0.9999,说明此方法在VC浓度为0.04-0.2 mg/mL时线性良好。

2.3 精密度试验结果

经测定,标准品色谱峰面积的相对标准偏差(RSD)为0.42%,说明精密度较好。

2.4 样品的测定结果

用“1.5”项所建立的色谱方法,对所采白牦牛乳样品进行HPLC测定分析,样品峰形见图3。

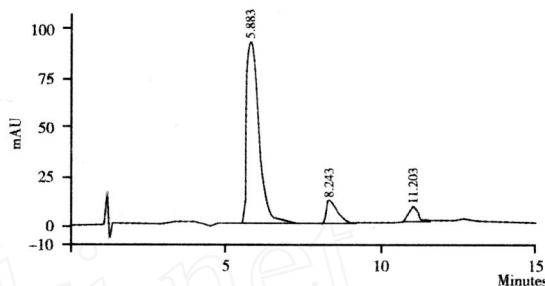


图3 白牦牛乳中样品色谱图

由图3可见,样品中的VC能与其它杂质峰完全分离,且与标准色谱中的标准峰能完全重叠,表明该方法准确可靠。样品分析结果见表1。

表1 白牦牛乳中VC含量测定结果($n=6$) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

名称	1号	2号	3号	平均值
VC	34.53 $\pm$ 0.25	34.87 $\pm$ 0.34	33.98 $\pm$ 0.32	34.46 $\pm$ 0.45

由表1可以看出,白牦牛乳中VC的平均检出值为34.46 $\mu\text{g}/\text{mL}$,标准差为0.45。

2.5 回收率测定结果

表2 白牦牛乳中VC的回收率($n=3$)

名称	原含量 μg	添加量 μg	测得量 μg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
VC	60.00	27.60	86.89	99.29	99.96	0.32
		34.84	94.32	99.45		
		41.40	101.31	99.91		

由表2可见,在回收率测定试验中,3次回收率均在98%~102%之间,平均回收率为99.96%,相对标准偏差(RSD)为0.32%。说明HPLC法在该色谱条件下测定白牦牛乳中VC具有重现性好和回收率高的特点,本研究所建立的样品前处理方法和含量分析方法切实可行。

3 讨论

3.1 本研究所测得的白牦牛乳中VC的平均含量为34.46 $\mu\text{g}/\text{mL}$,明显高于普通牛乳中VC的含量(20.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$)^[8],这与天祝白牦牛独特的生物特性和放牧区天然牧草资源有关。

3.2 液态VC具有较强的还原性,易受空气、热、光、金属离子等的影响,而它在酸性溶液中却很稳定,即使加热也不被破坏。为了保证VC在测定过程中一直处于稳定状态,溶解液和流动相应选用酸性溶液,本研究选用0.1%草酸溶液,保

证了测定结果的准确性。

3.3 在所建立的色谱条件下,白牦牛乳中 VC 的平均回收率为 99.96%,相对标准偏差 (RSD)为 0.32%,表明该方法回收率高,具有较好的重现性。

3.4 采用本研究中所建立的测定方法测定白牦牛乳中 VC 的含量,具有成本低、快速、简便、准确等特点,且能使 VC 和其它物质较好的分离,适用性强,重现性和回收率高。该方法可用于其它乳及其乳制品中 VC 含量的测定分析。

参考文献:

- [1] 余群力,韩玲,蒋玉梅,等.白牦牛乳营养成分及风味分析[J].营养学报,2005,27(4):333-335.
- [2] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典(二部)[M].北京:人民卫生出版社,1979:574.

- [3] 黄卫坤.食品检验与分析[M].北京:中国轻工业出版社,1989:96.
- [4] 上海商品检验局主编.食品化学分析[M].上海:上海科学技术出版社,1979:49.
- [5] 韩雅珊,王强.淡水鱼肝脏中维生素 A₁, A₂ 含量的研究[J].中国农业大学学报,1998(3):17-20.
- [6] 常海军,甘伯中,刘长英,等.高效液相色谱法测定白牦牛乳中 VA 和 VE 的含量[J].甘肃农业大学学报,2007,42(2):108-111.
- [7] 中国标准局. GB/T 9695.26-1991,肉与肉制品维生素 A 含量测定[S].北京:中国标准出版社.
- [8] 文勇立,李昌平,钟光辉,等.牦牛的泌乳性能及提高产奶量的途径[J].四川草原,2003(1):1-12.

骆驼、牛、羊、人乳中维生素 C 含量测定与比较

王曙阳^{1,3},梁剑平²,魏恒³,邵武军³,华兰英²

(1.中国科学院近代物理研究所,甘肃兰州 730000;2.中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所;3.甘肃农业大学)

中图分类号: S859.7

文献标识码: A

文章编号: 1000-6354(2009)06-0035-03

糖尿病(DM)是由环境和遗传因素联合作用而致的一种慢性代谢性疾病,以高血糖状态为特征,多并发症引起高死亡率和致残率,严重威胁人类健康。近年来全球 DM 患病率呈逐年上升趋势,发达国家和地区的患病率高达 2%~5%。

在埃及、印度等骆驼养殖地,民间流传用骆驼奶预防和治疗糖尿病。骆驼奶具独特医用价值,营养成分丰富,纯天然、无毒、无副作用、无残留、可长期饮用,已引起广大研究者关注。Rogers 和 Agrawal 等报道骆驼奶能降低 I 型糖尿病人血糖,减少病人胰岛素用量^[1,2]。骆驼奶中胰岛素浓度(52 μu/mL)明显高于牛奶(16.32 ± 5.98 μu/mL)^[3,4]。对骆驼奶中胰岛素进行成分和结构分析发现,骆驼奶中胰岛素样蛋白在酸性环境下不形成凝固结构,不易被酸性物质破坏,使其可经过胃被小肠吸收而降低血糖,克服口服胰岛素存在问题^[5]。文献报道糖尿病患者接受抗氧化治疗对糖尿病的慢性并发症有一定防治作用^[6],同时维生素 C 单独或联合其他药物也可用于糖尿病及并发症预防治疗^[7,8]。骆驼奶中维生素 C 含量是牛奶 3 倍多^[9]。笔者等对甘肃瓜州县骆驼奶维生素 C 含量进行测定,与牛、羊、人奶进行比较,分析骆驼奶对糖尿病及其并发症防治意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 奶样 骆驼奶采自酒泉地区瓜州县锁阳镇新沟村;

人奶由哺乳 3 个月志愿者提供;牛奶采自兰州大洼山奶牛场;羊奶采自永登县奶羊场。

1.1.2 仪器 高效液相色谱仪(美国瓦里安公司),包含 325 型检测器,210 高压泵,液相色谱工作站,25 μL 微量进样器(宁波市镇海玻璃仪器厂)。色谱柱: ZORAB X300SB-C₁₈(3.5 μm, 3.0 mm × 150 mm),美国瓦里安公司生产。

1.1.3 试剂 维生素 C 标准对照品:维生素 C 含量 ≥ 99.7%,国药集团化学试剂有限公司。草酸:分析纯,含量 ≥ 99.5%,天津化学试剂有限公司。苯、石油醚、无水乙醇等有机溶剂。

1.2 方法

1.2.1 样品处理 准确吸取骆驼、人、牛、羊奶各 5 mL 于离心管中,4 000 r/min 离心 5 min,吸取上清液于小离心管中,分析前用 0.45 μm 滤膜过滤。

1.2.2 维生素 C 标准贮备液的制备 准确称取维生素 C 0.1 g,用 0.1%草酸搅拌溶解并定容到 100 mL 容量瓶中,此制备液的浓度为 1 mg/mL。

1.2.3 维生素 C 标准液的制备 取维生素 C 标准贮备液 10 mL 于 100 mL 容量瓶中,并用 0.1%草酸定容,此维生素 C 标准液的浓度为 0.1 mg/mL。

1.2.4 高效液相检测条件 流动相: 0.1%草酸;流速: 0.4 mL/min;检测波长: 254 nm;进样量: 20 μL。

1.3 数据处理

数据以 $\bar{X} \pm s$ 表示,检测结果采用 SPSS13.0 统计软件包进行统计学处理。

2 结果与分析

收稿日期: 2009-08-10

基金项目:企业横向合作项目

作者简介:王曙阳(1974-),女,博士,讲师,主要从事生物技术及制药研究。