

最低检测浓度均为20ng/0.2ml。3. 回收率：方法回收率均在95~110%范围内(见表2)。4. 重现性：表2所列天内和天间变异系数(CV)大多小于5%。分析药物在体内的血浓度时间变化，能更好地

表2 血浆样品的方法回收率(%)及精密度(%)

化合物名称	回收率(n=5)			天内变异系数(n=5)			天间变异系数(n=3)		
	4	12	40	4	12	40	4	12	40
NHA	106.5	107.3	104.7	3.45	1.13	4.47	3.44	1.03	—
AABA	100.2	105.3	101.6	2.06	1.91	3.22	2.63	1.46	1.33
NBA	97.7	103.0	101.0	1.80	2.91	4.29	1.76	2.03	5.55
PNT	101.7	103.2	103.2	4.41	3.56	2.94	6.27	3.77	3.21

反映药物的代谢动力学过程,本法可同时测定PNT及其代谢物。方法中采用乙腈沉淀蛋白质后取上清液直接进样的分析步骤,简化了样品处理过程。精密度及准确度都较理想。缺点是灵敏度相对较低。

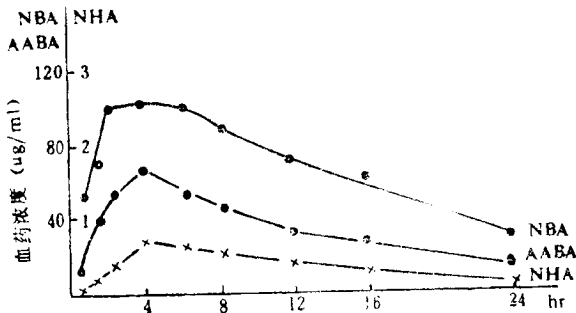


图3 经口给予新西兰兔对硝基甲苯后,血中各代谢物浓度—时间曲线

采用本方法研究了PNT在兔子、大鼠和小鼠体内的代谢动力学过程,取得了令人满意的结果(见图3)。

参 考 文 献

- (1) 段宏等, 环境与健康, 2(4), 12(1985).
- (2) D. E. Rikert et al., Chem. Biol. Interactions, 52, 131(1984).
- (3) J. P. Chism et al., Drug Metabolism and Disposition, 12, 5.6 (1984).
- (4) J. P. Chism et al., Drug Metabolism and Disposition, 13, 651 (1985).

(收稿日期: 1987年6月20日)

Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatographic Determination of p-Nitrotoluene and Its Metabolites in Plasma Yin Fen, Yu Ming and Chen Chuliang, Shanghai Medical University,

A reversed-phase high performance liquid chromatographic method for the simultaneous measurement of p-nitrotoluene [and its metabolites in plasma using o-methylphenols as the internal standard is presented. Samples were deproteinized with acetonitrile and chromatographed on a μ-Bondapak C18 column with Waters M490 UV Maxplot function for detection. The mobile phase consists of acetic acid buffer and methanol (50:50). The coefficients of variation of the day-to-day assays did not exceed 3.44% for NHA, 4.33% for AABA, 5.35% for NBA, and 6.27% for p-NT. The limit of detection was 20ng/0.2ml plasma. The assay is rapid, accurate and reproducible.

## 鸭肝中黄曲霉毒素M<sub>1</sub>的快速提取及反相高效液相色谱测定

钱耕菽 徐洪兴

(上海市肿瘤研究所)

黄曲霉毒素B(AFTB)对鸭子具有强烈的致癌作用。动物摄入污染AFTB的饲料后肝脏中就存在AFTB及其代谢物AFTM(1,2)。目前常用测定肝脏中AFTM的方法均较繁杂,耗时多,耗费溶剂及样品量大。本文介绍采用二根C<sub>18</sub>提取小柱(以

下简称C<sub>18</sub>小柱)提取及净化鸭肝中AFTM的方法,该方法经反相高效液相色谱测定证明,是一种简单、快速、有效的提取法。样品中加入1—5ppb AFTM的平均回收率为73.86—95.28%。AFTM的检出限为0.2ppb。

材料和方法

(一) 仪器: Waters 206 型液相色谱仪, 配有 420 荧光检测器 (激发波长为 360nm, 发射波长为 420nm, 并配有检测黄曲霉毒素的专用灯) 和 730 数据处理机,  $\mu$  Bondapak  $C_{18}$  不锈钢柱 (300×4mm)。

(二)  $C_{18}$  提取小柱 ( $C_{18}$  Disposable Extraction Column): 装有反相填料的商品化小柱。美国 Baker 化学公司产品 (美国 FDA George Yarg 赠送)。

(三) 试剂: 甲醇 HPLC 纯, 其余均为分析纯。

(四) 样品处理: 按作者等(3)方法略加改进。将 5g 鸭肝剪成碎块, 加 2ml 饱和 NaCl 溶液与 2ml 蒸馏水后打成匀浆, 再加 15ml 甲醇, 振荡提取 30 分钟, 离心后将全部上清液移至第一根  $C_{18}$  小柱 (预先用 10ml 甲醇与 10ml 80% 甲醇水洗涤柱子), 将此样品滤液全部收集并记录其体积, 从中算出所含的样品量。取 1/2 样液, 用二倍体积的蒸馏水稀释混匀后加至第二根  $C_{18}$  小柱 (预先用 10ml 甲醇与 10ml 蒸馏水洗涤), 流速约 5ml/min, 弃滤液。经 10ml 蒸馏水与 10ml 己烷洗涤柱子后将该柱放置于 50℃ 温箱中 30 分钟, 最后用 2ml 丙酮: 二氯甲烷 = 5:95 (体积比) 洗脱吸附在柱上的 AFTM, 将此洗脱液全部收集并放置 40℃ 水浴中通 N 挥干, 留作 HPLC 测定。

(五) HPLC 测定: HPLC 流动相为重蒸水: 甲醇: 异丙醇: 四氢呋喃 = 50:47:1.5:1.5 (体积比) 组成, 流速 0.8ml/min。把挥干的残渣再溶于 30 $\mu$ l 流动相并立即将 25 $\mu$ l 注入 HPLC。由 730 数据处理机记录其峰面积 按外标法算出样品中 AFTM 含量。

结果和讨论

无论用薄层色谱(1,4)或高效液相色谱法(2), 测定肝脏中 AFT, 测定前均须经过液-液分配或柱层析等严格的净化步骤以清除样品中的干扰物。本文仅采用二根  $C_{18}$  小柱同样取得了良好的提取及净化效果。从图 1 A 和 B 可看出: 除在 AFTM 峰后有一杂峰外, 别无其它荧光干扰峰。图 1 B 中 AFTM 峰实际代表 0.70ppb, 按信噪比的 3 倍计算, AFTM<sub>1</sub> 的检出限可低至 0.2ppb。为验证本方法的效用, 我们分析了灌喂 AFTM<sub>1</sub> 后 4 小时鸭肝样品, 发现 AFTM<sub>1</sub> 峰形尖锐清晰并获得与 AFTM<sub>1</sub> 峰满意的分

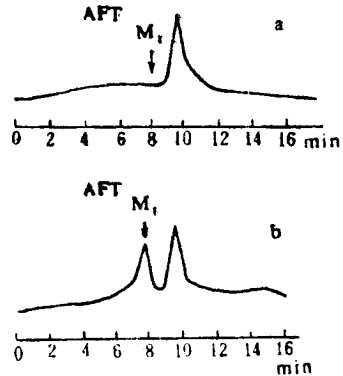


图 1 未加及加入 1ppb AFTM<sub>1</sub> 鸭肝提取物的色谱图  
A. 未加 AFTM<sub>1</sub> 色谱图。进样量相当于含 1.5g 鸭肝提取物。  
B. 加入 1ppb AFTM<sub>1</sub> 色谱图。进样量相当于含 1.48g 鸭肝提取物, AFTM<sub>1</sub> 为 1.04ng。

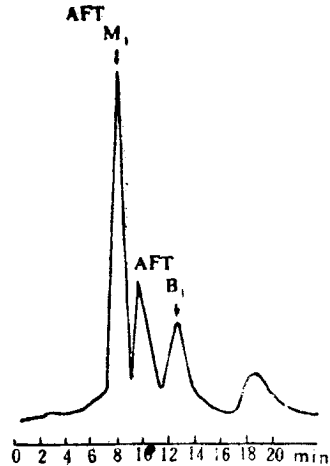


图 2 灌喂 AFTB<sub>1</sub> (0.8mg/kg) 后 4 小时鸭肝提取物的色谱图  
进样量相当于 1.57g 鸭肝提取物 AFTM<sub>1</sub> 和 B<sub>1</sub> 分别为 12.14 和 24.91ng。

离 (见图 2)。

表 1 显示 5g 样品中加入 1—5ppb AFTM 的平均回收率, 与 Miller 等(2)测定猪肝中 AFTM 的回收率相近。但本方法可明显降低样品及试剂的用量, 缩短分析时间, 具有简单、快速、经济等优点。

表 1 加入鸭肝中 AFTM<sub>1</sub> 的回收实验

加入 AFTM <sub>1</sub> 量 (ppb)	测定样品数	回收率范围 (%)	平均回收率 (%)	标准差	变异系数 (%)
1	4	70.24—75.73	73.86	2.53	3.43
2	4	80.94—86.83	83.50	2.69	3.22
5	4	89.20—101.00	95.28	4.19	4.40

参 考 文 献

- (1) M.W. Trucksess et al., J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 65, 884(1982).
- (2) D. M. Miller et al., J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 65, 1(1982).
- (3) 钱耕荪等, J. Agric. Food Chem., 32, 1071 (1984).
- (4) R. D. Stubblefield et al., J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 64, 964(1981).

(收稿日期: 1987年7月6日)

Rapid Extraction of Aflatoxin M<sub>1</sub> from Duck Liver and Determination by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography Qian Gengsun & Xu Hongxing, Shanghai Cancer Institute

A simple and rapid procedure for the extraction and clean-up of aflatoxin M<sub>1</sub> (AFTM<sub>1</sub>) from liver (5g) of domestic duck and for quantitative determination of AFTM<sub>1</sub> using reversed phase high performance liquid chromatography with fluorescence detection has been proposed. This method utilizes two C<sub>18</sub> disposable extraction columns for clean-up of a methanol/water extract of the sample. Recoveries from 73.86% to 95.28% were obtained for liver spiked with 1 to 5ppb AFTM<sub>1</sub>. The detection limit of the proposed procedure for AFTM<sub>1</sub> was 0.2 ppb. In comparison with others, the procedure shows considerable reductions in sample size, solvent volume and analysis time required.

## 高效液相色谱法测定火药中 NG, α-TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT及C<sub>2</sub>

王思琪 李佩芳

(华东工学院化工系, 南京)

硝化甘油(NG)、二硝基甲苯(2,6-DNT和2,4-DNT)、三硝基甲苯(α-TNT)及二甲基二苯胺(C<sub>2</sub>)是火药中最常见的组分。这些组分可用气相色谱法(GC)进行分离测定,但因NG的热稳定性较差,结果的精确度较差。对上述组分较有效的分析方法是高效液相色谱法(HPLC),因此法一般是在室温下进行,可避免NG等爆炸性组分的热分解。

HPLC分析火药组分在国内外早有报道(1),但国内做的工作不多。近年来我院开始应用HPLC分析火炸药组分(2-4)。

### 实 验 部 分

#### (一) 仪器和试剂

1. 仪器 日立-635型高效液相色谱仪, 834型微处理机。

2. 试剂 NG, α-TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT及C<sub>2</sub>均由华东工学院306实验室精制。其它试剂均为分析纯。

#### (二) 标准曲线的制作

用标准品配制五个不同浓度的标准溶液。组分的含量列于表1。每种标准溶液在确定的色谱条件下重复进样三次,求出各组分的峰高与内标物峰高之比值的平均值。数据列于表2。色谱图见图1。

表 1 标准溶液中各组分的含量

组分	序号 含量 (mg/10ml)	序号				
		1	2	3	4	5
1	NG	9.33	18.65	27.98	37.30	55.95
2	α-TNT	1.53	3.05	4.58	6.10	9.15
3	2,6-DNT	0.26	0.52	0.78	1.04	1.56
4	2,4-DNT	0.78	1.55	2.33	3.10	4.65
6	C <sub>2</sub>	1.01	2.02	3.03	4.04	6.06
5	P-MNT	5.01	5.01	5.01	5.01	5.01

表 2 测得各标准溶液h<sub>i</sub>/h<sub>P-MNT</sub>的数据

标准溶液 序号	峰高比				
	h <sub>NG</sub> /h <sub>P-MNT</sub>	h <sub>α-TNT</sub> /h <sub>P-MNT</sub>	h <sub>2,6-DNT</sub> /h <sub>P-MNT</sub>	h <sub>2,4-DNT</sub> /h <sub>P-MNT</sub>	h <sub>C<sub>2</sub></sub> /h <sub>P-MNT</sub>
1	0.482	0.416	0.062	0.351	0.140
2	0.972	0.819	0.130	0.703	0.283
3	1.410	1.203	0.196	1.062	0.427
4	1.857	1.635	0.262	1.407	0.568
5	2.763	2.399	0.393	2.101	0.849
r(相关系数)	0.9999	0.9999	1.0000	1.0000	0.9999
a(标准曲线的截距)	-0.92	-0.03	0.01	-0.01	0.00
b(标准曲线的斜率)	20.55	3.832	3.933	2.214	7.123