

图1 肿瘤病人尿色谱图

峰:1. 尿酸,2. PU,3. 肌酐.

表2 回收率试验结果

序号	加入量(nmol)		测得量(nmol)		回收率(%)	
	PU	肌酐	PU	肌酐	PU	肌酐
1	0.40	11.00	0.31	11.96	77.50	108.72
2	0.40	11.00	0.36	11.74	90.00	106.72
3	0.40	11.00	0.32	13.57	80.00	123.36
4	0.40	11.00	0.31	11.91	77.50	108.27

(三) 线性和检测限

PU 在 0.0115—2.3nmol 范围内,肌酐在 0.55—55nmol 范围内其峰面积与浓度呈线性相关,回归结果如下:PU $y=0.996x-5.54$, $b=121.97$;肌酐 $y=0.947x+160.60$, $b=19.00$ 。本方法最小检测量 PU 为 0.01nmol,肌酐为 0.09nmol。

(四) 肿瘤病人及正常人尿液 PU 与肌酐比值

我们对 78 例恶性肿瘤病人的尿液进行测定,结果如表 3 所示。

表3 恶性肿瘤病人与正常人尿中的 PU 与肌酐比值

例数	PU (nmol/ml)	肌酐 ($\mu\text{mol/ml}$)	PU 与肌酐比值 nmol/ μmol	P 值
肿瘤病人	78	280.1 \pm 82.2	21.7 \pm 9.7	13.1 \pm 4.3
正常人	32	213.2 \pm 75.2	33.6 \pm 7.7	6.3 \pm 2.1

结果发现恶性肿瘤病人的尿中 PU 与肌酐比值明显高于正常人,具有统计学意义。总之,我们在实际应用中发现,此法简单,操作方便,精确性高,可用于肿瘤病人的普查、早期诊断及疗效监测。

参考文献

- [1]R. W. Trewyn, CRC. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 24(1), 71 (1986).
- [2]E. Borek, Canc. Detect. Prev., 6, 67(1983).
- [3]A. Colonna et al., Anal. Biochem., 130(1), 19(1983).
- [4]T. Yamamoto et al., Anal. Biochem., 170, 387(1988).
- [5]F. Palmisano et al., J. Chromatogr., 493, 35(1989).

(收稿日期:1990年8月21日)

Simultaneous Determination of Pseudouridine and Creatinine in Urine by Ion-Pair Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) Li

Yongtian, Wang Shaoshen, Zhong Ning, Yang Chuanhe and Zhu Linyang, Dept. of Paediatrics, 202 Hospital, PLA, Shenyang, 110003

In the present paper, a rapid, accurate and simple method for simultaneous determination of pseudouridine (PU) and creatinine in urine by ion-pair RP-HPLC without the need of pretreatment of urine with boronate affinity gel is proposed. PU and creatinine are separated by using 0.05mol/L phosphate buffer, 5mmol/L octane-sulphonic acid, 3% methanol as the mobile phase at pH 5.8 and detected at UV 250nm. The linear relationships between the peak areas and the quantities of PU and creatinine are good. The correlation coefficients of the calibration curves for PU and creatinine are 0.996 and 0.947, respectively.

气相色谱法快速测定食品中山梨酸和苯甲酸

聂洪勇 黄志强 彭三和

(湖南进出口商品检验局,长沙,410007)

苯甲酸、山梨酸作为食品添加剂广泛应用于食品、饮料等。其使用限量各国对于不同的食品有不同的要求。有关食品中苯甲酸、山梨酸的测定方法报道

较多,有分光光度法、液相色谱法、薄层色谱法及气相色谱法^[1-5]。由于气相色谱法较为普及且应用较为方便,通常都采用气相色谱法进行日常分析。我们在应

用气相色谱法^[1]检验出口咸芥头中苯甲酸和山梨酸时,发现有回收率偏低的问题,并且测定结果重现性不好,为此我们进行了进一步的研究,分析了回收率偏低的原因,从而改进和建立了一种简便、快速、准确测定食品、饮料中苯甲酸和山梨酸的气相色谱方法。

实验部分

(一)仪器与试剂

仪器:Shimadzu GC-9AM 气相色谱仪,配备 FID, CR-3A 处理机, SPL-G9M 分流/不分流毛细管柱进样系统。石英毛细管柱:DEGS 13m×0.25mm。试剂:乙醚、石油醚、无水硫酸钠(使用前 450℃灼烧 4h)、盐酸、氢氧化钠、苯甲酸、山梨酸、正十一烷酸,均为分析纯。正十一烷酸、苯甲酸、山梨酸配成 0.5mg/ml 的乙醚-石油醚溶液(4:1)。另配制 0.5mg/ml 的苯甲酸、山梨酸的 0.1mol/L NaOH 溶液(供添加试验用)。

(二)色谱条件

进样口、检测器温度:200℃,柱温:150℃,分流比 10:1,载气:高纯氮,流速 2ml/min,尾吹 60ml/min,空气流速 600ml/min,氢气流速 60ml/min,进样量:1μl。典型的气相色谱图如图 1。

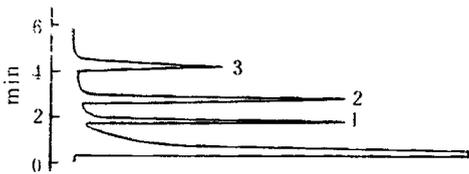


图1 盐芥头中苯甲酸、山梨酸的色谱图

色谱峰:1. 山梨酸, 2. 正十一烷酸(内标), 3. 苯甲酸。

(三)操作步骤

咸芥头、甜芥头等盐渍蔬菜及罐头食品,按规定比例取 固形物及水汁混合,于植物捣碎机中高速捣碎成匀浆,离心,取液体层作测定样液。称取该样液 0.500—2.500g(视样品中添加剂含量的高低,通常取 1.000g),加入 1ml 1mol/L HCl 混匀。再加入含内标的乙醚-石油醚(4:1)溶液 0.50—1.00ml(通常为 1.00ml),然后加入过量的无水硫酸钠(约 1g)于快速混匀器上混合,提取 1min,置离心机中离心(4000r/min)3 min,取上清液 1μl 进行气相色谱分析。对于饮料、酱油等液体试样,除含 CO₂ 的样品须以超声波振荡除去 CO₂ 外,均可振摇均匀后直接称样,按上述步骤提取后进行气相色谱测定。

(四)计算

本法采用峰面积内标法单点校正,由数据处理机直接计算出样品中苯甲酸、山梨酸含量。

结果与讨论

(一)提取液浓缩操作对回收率的影响

我们按文献[1,2]的方法分析样品时出现回收率偏低且重现性不好的问题,可能是提取液浓缩时被测组分挥发损失所致。为此我们采用文献[1,3]的两种浓缩方式进一步研究了浓缩操作对回收率的影响。分别取 10ml 无水乙醚(其中分别加有 50、100μg 的苯甲酸和山梨酸标样)分四组进行试验。将其分别按文献[1]法直接蒸干(<40℃)和文献[3]法真空浓缩至近干(<40℃),然后溶解残留物供 GC 测定。实验数据列于表 1 中。

表中数据表明,无论是直接蒸干还是真空浓缩均有回收率低的问题,山梨酸的损失严重。由于这两种添加剂易于挥发,浓缩挥发操作不易掌握,给实验操作带来不便。文献[4,5]的方法考虑到了挥发损失的问题,采用从提取样品开始就加入与山梨酸性性质相近的己酸和与苯甲酸性性质相近的苯乙酸作为内标物参加整个分析过程,这样解决了回收率偏低的问题,但这两种方法要进行硅烷化衍生操作,分析过程冗繁,不便于日常分析应用。

用本文的方法,对咸芥头试样作了添加回收试验,结果列于表 2。

从表 2 的数据可以看出,应用本法测定食品中的山梨酸和苯甲酸均能满足分析要求。方法的精密度和准确度好(CV%=3.8—6.8, RC%=93.9—100.8)。较之其他方法,本法省去冗长的蒸发浓缩步骤和其他处理步骤,既解决了回收率低的问题,又十分简便快速。

(二)线性、检出限及色谱柱

本文采用 DEGS 石英毛细管色谱柱分离山梨酸、苯甲酸及内标物。该色谱柱柱效高,分离效果好,峰形尖锐、对称性好,有利于检测定量和提高方法的灵敏度,这也是本法可以采用一次提取样品,不经浓缩而直接进行 GC 测定的基础,尚未见到有关使用这种毛细管色谱柱测定山梨酸、苯甲酸的报道。

用本方法分别取山梨酸、苯甲酸 0、50、100、200、400μg/ml 的标准溶液测定,分别以山梨酸、苯甲酸峰面积与内标正十一烷酸峰面积之比 A_i/A_s 相对于山梨酸、苯甲酸质量与正十一烷质量之比 W_i/W_s 作线性回归分析,结果 A_i/A_s 与 W_i/W_s 成良好的线性关系。山梨酸的回归方程为: $Y=0.463X+0.002$, $r=0.999$; 苯甲酸的回归方程为: $Y=0.495X$, $r=0.9995$ 。实验表明,当取样 2.5g,定容至 0.5ml,进样 1μl 时,检出限可达 1mg/kg。

(三) 样品测试

样品中的山梨酸、苯甲酸, 效果良好, 典型的结果见表 3。

用本法测定了一些盐芥头、原汁酱油及桔子汁等

表 1 浓缩操作对回收率的影响

浓缩方式		直接蒸干(<40℃)				真空浓缩(<40℃)			
组别		1		2		3		4	
添加量		50μg		100μg		50μg		100μg	
		山梨酸	苯甲酸	山梨酸	苯甲酸	山梨酸	苯甲酸	山梨酸	苯甲酸
测定结果	测定次数 n	6	6	6	6	9	8	5	5
	\bar{x} μg	31.7	47.2	52.4	86.3	29.3	43.5	59.8	90.0
	S _x	2.7	4.4	10.3	11.5	3.7	3.6	0.8	2.4
	CV%	8.6	9.3	19.7	13.3	12.6	8.3	1.3	2.7
	回收率 RC%	63.4	94.4	52.4	86.3	58.6	87.0	59.8	90.0

表 2 本方法的回收率(n=8)

样 号		1	2
样品本底值	山梨酸	$\bar{X} \pm S_x (\mu\text{g/g})$ CV(%)	0 —
	苯甲酸	$\bar{X} \pm S_x (\mu\text{g/g})$ CV(%)	110.7 ± 3.2 2.8
添加量	山梨酸	μg/g	99.0
	苯甲酸	μg/g	99.0
测得值	山梨酸	$\bar{X} \pm S_x (\mu\text{g/g})$	93.0 ± 4.6
		CV(%)	4.9
		RC(%)	93.9
	苯甲酸	$\bar{X} \pm S_x (\mu\text{g/g})$ CV(%) RC(%)	211.1 ± 6.8 6.8 100.8
			381.1 ± 9.6 5.0 96.2 378.3 ± 14.2 3.8 95.5

表 3 样品检测结果

样 号	样品名称	测定次数 n	苯甲酸(mg/kg)		山梨酸(mg/kg)	
			$\bar{X} \pm S_x$	CV%	$\bar{X} \pm S_x$	CV%
1	盐芥头	8	110.7 ± 3.2	2.8	ND*	—
2	盐芥头	8	ND	—	ND	—
3	原汁酱油	6	278.6 ± 12.0	4.3	ND	—
4	盐芥头	8	25.6 ± 1.8	7.0	ND	—
5	蜜桔原汁	6	818.1 ± 17.2	2.1	ND	—

* 表示未检出, 样品中未加此防腐剂。

(四) 本法的特点

本法首次采用样品处理微量化学法技术(另外专文报道)及 DEGS 弹性石英毛细管色谱柱分离测定食品中的山梨酸、苯甲酸。取样量仅为其他方法的 1/2—1/10, 不用分液漏斗, 样品处理操作均在 12.5 ml 离心管中进行, 被测组分从酸性的饱和硫酸钠溶液中用乙醚-石油醚一次提取, 提取液直接供 GC-FID 测定, 方法准确, 简便快速。日分析样品数可为其他方法的 5—15 倍, 试剂用量仅为其他方法的 1/10—1/40, 分析成本低, 且分析者的劳动强度比用其他方法时要轻得多。本法在实际应用中效果良好, 是一种

准确、快速、经济、实用的测定食品中山梨酸、苯甲酸的方法。

参考文献

[1] GB5009. 48-95.《食品中山梨酸、苯甲酸的测定方法》, 中国标准出版社, 北京, 1985.
 [2] 陈贻文等, 色谱, 5(4), 238(1987).
 [3] 马家骧等译, 日本厚生省编,《食品中添加剂的分析方法》, 中国标准出版社, 北京, 131, 196 页, 1988.
 [4] AOAC, Official Method of Analysis of the AOAC, 14th Ed., P. 376, USA, 1984.

(下转 239 页)

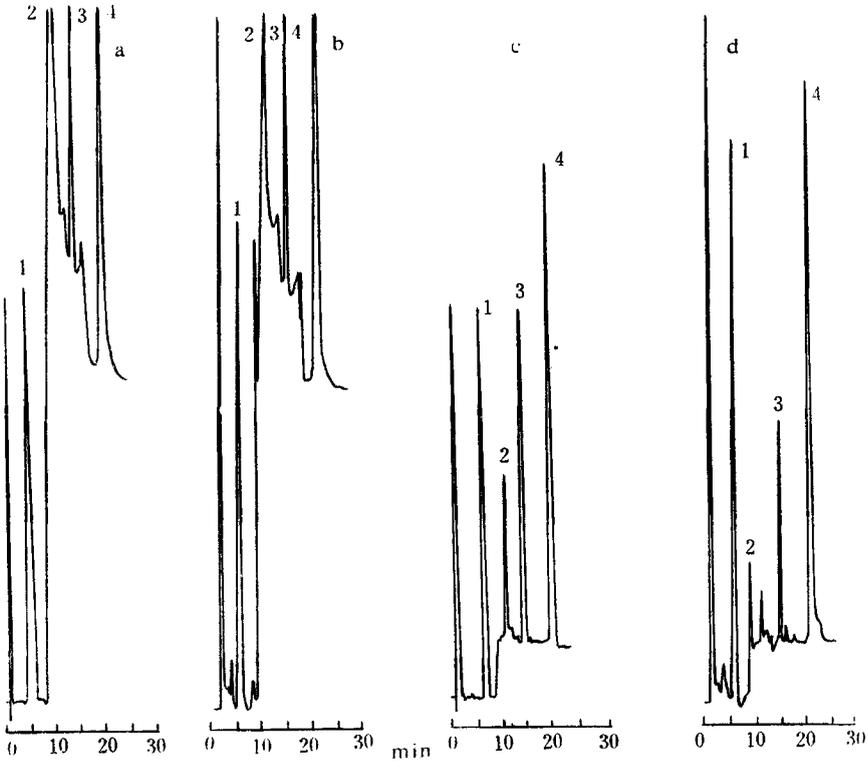


图1 标准品及样品色谱图(峰:1. CP, 2. AMP, 3. ADP, 4. ATP.)

a(标准品)和 b(正常肌肉样品):210nm 固定波长检测;c(标准品)和 d(正常肌肉样品):210nm 和 259nm 变换波长检测。

参考文献

[1]G. A. Cordis et al. ,J. Chromatogr. ,386,283(1987).
 [2]R. Sanduja et al. ,Biomed. Chromatography,2,156(1987).
 (收稿日期:1990年8月10日)

Simultaneous Determination of Creatine Phosphate and Adenine Nucleotides in Muscles by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Automatic Adjustment of Wavelength *Min Qingxiong, Military Medical Institute, Rear Service Department, National Defence Scientific and Industrial Council, Beijing, 100101; Zhang Zhenqing and Ruan Jinxiu, Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing,*

100850

A method for the determination of creatine phosphate (CP) and adenine nucleotides (ATP, ADP and AMP) in the muscles of mice by reversed-phase HPLC is presented. The separation was achieved at room temperature with a C₁₈ column, one step gradient elution and an automatic adjustment of wavelength. The solvent A included 30mmol/L KH₂PO₄, 4mmol/L PICA, pH 6.0 and 5% (V/V) methanol. The solvent B included 30mmol/L KH₂PO₄, 4mmol/L PICA, pH 6.0 and 19% (V/V) methanol. This method has the advantages of simple sample preparation, low cost, less interference and high sensitivity. The results obtained were consistent with those from other methods.

(上接 246 页)

[5]Nordisk Methodikkomitté for Livsmede 编,《食品分析法》,钱毅、赵国君译,上海科学普及出版社, P. 255 页, 1990. (收稿日期:1990年7月2日)

Rapid Gas Chromatographic (GC) Method for Determination of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Foods *Nie Hongyong, Huang Zhiciang, Pen Sanhe, Hunan Import & Export, Commodity Inspection Bureau, Changsha, 410007*

A rapid GC method for determination of benzoic acid and sorbic acid in foods has been developed. The additives in sample were extracted by ether-petroleum ether (4 : 1) with n-undecanoic acid as internal standard and directly injected into DEGS capillary column. The new method is simple, rapid, and efficient. The recoveries were in the range of 93.9—100.8% with a coefficient of variation between 3.8—6.8%, the limit of detection was 1mg/kg of sample for both sorbic acid and benzoic acid. The effect of the operation of evaporating solvent on recoveries of some other methods has been studied.