

表 2 5 种维生素加标回收实验结果(μg/mL)

维生素	加标量	测得量				平均回收率(%)	RSD (%)
B <sub>1</sub>	20	20.4	21.2	20.8	104.0	0.40	
	100	99.8	103.2	102.5	101.8	1.80	
B <sub>2</sub>	20	21.1	21.5	22.1	107.8	0.50	
	100	104.9	106.2	104.5	105.2	0.89	
B <sub>6</sub>	20	21.3	19.7	20.4	102.3	0.80	
	100	104.3	105.3	98.5	102.7	3.67	
烟酸	20	19.8	20.3	19.3	99.0	0.50	
	100	97.6	98.6	97.9	98.0	0.51	
烟酰胺	20	19.3	19.5	18.8	96.0	0.36	
	100	99.5	98.9	99.2	99.2	0.30	

表 3 5 种维生素精密密度实验结果

维生素	浓度(μg/mL)								均值	RSD (%)
B <sub>1</sub>	104.6	105.4	105.9	105.1	104.8	106.8	105.4	0.81		
B <sub>2</sub>	105.8	108.2	108.9	110.7	107.8	107.3	108.1	1.64		
B <sub>6</sub>	117.3	121.7	122.1	120.6	117.5	117.1	119.4	2.34		
烟酸	120.0	115.8	112.5	114.5	114.0	116.7	115.6	2.61		
烟酰胺	118.7	117.5	120.8	118.7	121.6	120.9	119.7	1.62		

2.4 实际样品分析 为考察方法的普遍适用性,对部分实际样品进行了测定,制备方法和测定条件见 1.3.1 和 1.3.3 项。根据保留时间和紫外扫描光谱图定性,混合标准和样品出峰时间相近,分离度好,从而计算 6 种样品含量,见表 4。

3 小结

本文采用 GRACE Apollo C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以 0.1% 三氟乙酸溶液-乙腈为流动相(梯度洗

脱),检测波长为 270 nm,可同时分析 5 种水溶性维生素,线性关系良好,平均回收率 96.0%~107.8%,RSD(n=6)为 0.81%~2.61%。方法简单、快速、准确、可靠,适用于维生素补充型保健食品中多种水溶性维生素的测定。

表 4 5 种维生素样品分析结果[mg/g(mL)]

样品	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>6</sub>	烟酰胺	烟酸
维生素夹心果	0.053	0.054	0.047	0.513	未检出
多维咀嚼片	0.532	0.697	0.499	未检出	未检出
多维钙咀嚼片	1.292	1.048	1.293	未检出	未检出
多维钙咀嚼片	1.087	1.042	1.266	未检出	未检出
维他钙咀嚼片	1.028	2.069	未检出	未检出	未检出
多维饮品	0.162	0.156	0.149	0.293	未检出

参考文献

[1] 郭亚东,马银海,李燕华,等.维生素 B<sub>1</sub>,B<sub>2</sub>含量测定方法比较[J].食品科学,2004,25(6):153-156.  
[2] 王叔淳.食品卫生检验技术手册[M].第3版.北京:化学工业出版社,2002,1:148-151.  
[3] 刘要武,李叙琳.多种维生素的高效液相色谱分离及应用[J].分析试验室,1997,16(6):44-46.  
[4] 李克,王华娟,潘朝晖,等.离子对反相高效液相色谱法同时测定复合维生素片中 4 种水溶性维生素[J].色谱,2003,21(1):66-68.  
[5] 赵厚民,周晓平,王茹.用改进的流动相在 C<sub>18</sub>柱上分离七种水溶性维生素[J].色谱,1993,11(4):249-251.  
[6] 李碧琳,宋晓东.用反相离子对色谱分离和检测水溶性维生素-十二烷基硫酸钠作离子对试剂[J].分析化学,1991,19(8):886-890.

收稿日期:2010-05-20;修回日期:2010-06-23 责任编辑:黄春燕

• 实验研究与检验技术 •

高效液相色谱-二极管阵列检测法测定  
游离麦角甾醇的含量

邓婧<sup>1</sup>,黄宏南<sup>2</sup>,林宏琳<sup>2</sup>

1. 福建中医药大学药学院,福州 350108; 2. 福建省疾病预防控制中心

摘要:目的 探索保健食品中国被毛孢菌丝粉胶囊中游离麦角甾醇的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱-二极管阵列检测法(HPLG-PDA 法)测定游离麦角甾醇的含量,以甲醇为流动相,用 Ultimate AQ-C<sub>18</sub>(4.6×250 mm,5 μm) 色谱柱,检测波长 282 nm。结果 此法的回归方程: y = 12978 x - 11618 (r = 0.9998),回收率 98.67%~100.95%,检测限为 340 ng/mL。结论 用 HPLG-PDA 法测定虫草类保健品中游离麦角甾醇方法重现性好,灵敏度高,定性可靠,定量精确。

关键词: 游离麦角甾醇; 菌丝粉胶囊; 高效液相色谱-二极管阵列检测法(HPLC-PDA 法)

中图分类号:R 151.3; O 657.7 文献标志码: B 文章编号: 1007-2705(2011)01-0056-03

麦角甾醇为植物甾醇,是一种重要的维生素 D<sub>2</sub>原,主要以游离和结合两种形式存在于虫草类保健品中。由于测定其含量需将结合型麦角甾醇通过皂化提取转化为游离型,实验

过程多步损失较大,操作复杂,测定结果往往比实际值低,无法正确反映实际值<sup>[1]</sup>。本文将样品直接超声提取测定游离麦角甾醇,操作简单,误差小,为虫草类保健食品测定游离麦角甾醇建立了简便可行的方法。

\* 通讯作者: 黄宏南, E-mail: hhn@fjcdc.com.cn.

1 材料与方法

1.1 仪器 高效液相色谱仪系统(Waters 2695 型),配全自动进样器,二极管阵列检测器(Waters 2996 型);KQ-250DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Beckman Coulter 高速离心机(1 000~13 000 r/min);MILLIPORE direct-Q 纯水系统;0.45 μm 微孔过滤膜(有机系)。

1.2 试剂 甲醇(高效液相色谱淋洗剂)、乙醇(分析纯),均购自国药集团化学试剂有限公司;超纯水;麦角甾醇标准品 95%(货号:1095351,规格:5 g,上海晶纯试剂有限公司);中国被毛孢菌丝粉胶囊由泉州市冬虫夏草真菌开发有限公司提供。

1.3 实验方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱:Ultimate AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6×250 mm,5 μm);流动相:甲醇;柱温:30 ℃;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μL;检测波长:282 nm。

1.3.2 标准曲线的制备 精密称取麦角甾醇标准品 9 mg,置 50 mL 容量瓶中,精密加入甲醇溶液溶解并定容至刻度,即得 0.180 mg/mL 的标准储备液。测定前用甲醇稀释配成 18、36、72、108、144 和 180 μg/mL 的标准系列溶液,过 0.45 μm 微孔滤膜后进样 10 μL 测定,以峰面积对麦角甾醇标准品的浓度绘制标准曲线。

1.3.3 样品处理 取胶囊内容物 1.0 g,精密称定,置 25 mL 具塞刻度试管中,精密加 95%乙醇 20 mL,密塞,摇匀,称定重量,80 ℃超声 90 min,取出,称定重量,用 95%乙醇补足失重,摇匀,10 000 r/min 离心 5 min,取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜,滤液放入进样瓶中,供高效液相测定。

1.3.4 测定及计算 取 1.3.3 项下处理好的试样进样 10 μL,根据与标准品保留时间比较进行初步定性,与 PDA 光谱图比较做进一步定性,根据样品测定的色谱峰面积,在相应的标准曲线上计算出对应的含量,根据公式计算样品中游离麦角甾醇的含量。计算公式:

$$X = C \times V / m \times 1\,000$$
式中: X 为试样中游离麦角甾醇的含量(mg/g); C 为游离麦角甾醇的质量浓度(μg/mL); V 为试样定容体积(mL); m 为试样的质量(g)。

2 结果

2.1 HPLC 色谱图 按照 1.3.1 项下的色谱条件进行测定,据麦角甾醇标准品和中国被毛孢菌丝粉胶囊 HPLC 色谱图可知,二者保留时间(R<sub>t</sub>)分别为 9.201 和 9.205 min。中国被毛孢菌丝粉胶囊 HPLC 色谱见图 1。

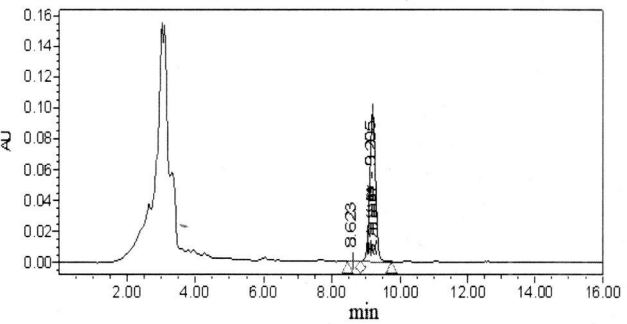


图 1 中国被毛孢菌丝粉胶囊 HPLC 色谱

2.2 PDA 光谱图 将麦角甾醇标准品和中国被毛孢菌丝粉胶囊在 200~400 nm 波长范围内扫描,测得游离麦角甾醇在 282.3 nm 处有最大吸收,确定其检测波长为 282 nm,见图 2。

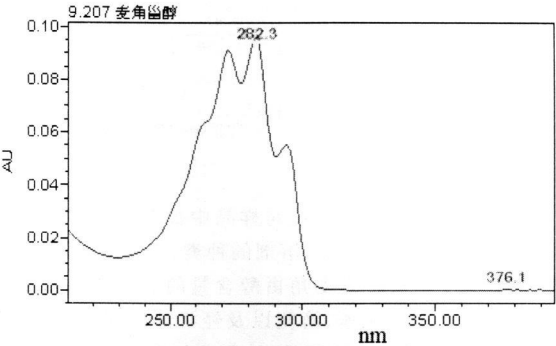


图 2 中国被毛孢菌丝粉胶囊 PDA 光谱

2.3 方法性能指标的考察

2.3.1 标准曲线的线性及检测限 以峰面积对麦角甾醇标准品的浓度绘制标准曲线,计算得回归方程  $y = 12\,978x - 11\,618$  ( $r = 0.999\,8$ )。结果表明:麦角甾醇溶液在 18.0~180.0 μg/mL 范围内具有良好的线性关系。当信噪比为 3:1 时,游离麦角甾醇的检测限为 340 ng/mL。

2.3.2 重复性试验 精密称取胶囊内容物 1.0 g(批号:0160B),平行操作 6 份,按照 1.3.3 项下制备供试品溶液和 1.3.1 项色谱条件进样分析,考察方法的重复性,记录保留时间、峰面积和峰高,计算精密度、游离麦角甾醇浓度和含量,表明实验重复性良好。

2.3.3 回收率试验 精密称取已知游离麦角甾醇含量(1.68 mg/g)的样品 9 份,每份 1.0 g(样品批号:0160B)。配置合适浓度的麦角甾醇标准品溶液:精密称取麦角甾醇标准品 17.58 mg 置 10 mL 容量瓶中,加入甲醇溶液,定容,即得 1.758 mg/mL 的麦角甾醇标准品溶液,分别精密加入该标准品溶液 0.8、1 和 1.2 mL,使高、中、低 3 个浓度水平分别为样品中游离麦角甾醇含量的 80%、100% 和 120%,每个浓度水平做 3 个平行样。按照 1.3.3 项下制备供试品溶液和 1.3.1 项色谱条件进样分析,游离麦角甾醇的平均回收率 98.67%~100.95%,见表 1。

表 1 中国被毛孢菌丝粉胶囊中游离麦角甾醇加标回收率试验结果

称样量 (g)	本底值 (mg)	加标量 (mg)	峰面积 (μV×s)	测得浓度 (mg/mL)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)
1.03	1.73		2 044 430	0.158	3.17	102.13	
1.04	1.75	1.41	2 056 165	0.159	3.19	102.13	100.95
1.04	1.75		2 025 613	0.157	3.14	98.58	
1.04	1.75		2 318 274	0.180	3.59	104.55	
1.03	1.73	1.76	2 275 562	0.176	3.52	101.70	98.67
1.03	1.73		2 133 497	0.165	3.31	89.77	
1.03	1.73		2 457 618	0.190	3.81	98.58	
1.04	1.75	2.11	2 578 003	0.200	3.99	106.16	100.63
1.01	1.70		2 424 767	0.188	3.75	97.16	

2.4 样品测定结果 利用上述的条件方法测定 3 个批次的中国被毛孢菌丝粉胶囊中游离麦角甾醇的含量,结果见表 2。

表 2 3 批中国被毛孢菌丝粉胶囊中游离麦角甾醇的含量测定结果

批次	样品量 (g)	保留时间 (min)	峰面 ( $\mu\text{V} \times \text{s}$ )	含量 (mg/g)	浓度 (mg/mL)
0160A	1.09	9.204	1 152 888	1.65	0.089 7
0160 B	1.04	9.206	1 128 164	1.69	0.087 8
0160C	1.06	9.203	1 073 458	1.58	0.083 6

3 讨论

3.1 分析条件的选择 通过对样品中提取麦角甾醇预处理方法的比较,发现提取方法、溶剂的种类、乙醇体积分数、提取时间、提取温度均对游离麦角甾醇含量的测定结果都有一定的影响<sup>[2,3]</sup>。考虑到快速、简便以及经济环保等因素,样品的最佳预处理方法为超声波提取法,提取溶剂体积分数为 95% 乙醇,温度为 80 ℃,处理时间为 90 min。曾采用乙腈-水体系为流动相,游离麦角甾醇也能得到良好的分离,但是麦角甾醇

的出峰时间延长,增加了样品分析时间,不利于样品的快速分析测定。

3.2 实验结论 本研究建立了一种简便、快速、准确的分离、分析中国被毛孢菌丝粉胶囊中游离麦角甾醇的方法,此法可用于虫草类保健食品中游离麦角甾醇的常规测定。

参考文献

[1] 李绍平,李萍,季晖,等. RP-HPLC 测定天然与人工冬虫夏草中游离麦角甾醇的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2001, 18(4): 297-299.  
[2] 王尊生,王升厚,袁勤生. 冬虫夏草菌丝体固体发酵粉中麦角甾醇的定量分析[J]. 沈阳师范大学学报(自然科学版), 2005, 23(3): 293-296.  
[3] 韩庆雪,闻建平,冯国龙. 麦角固醇工业化提取工艺研究[J]. 河北化工, 2007, 30(2): 42-43.

收稿日期:2010-05-11; 修回日期:2010-09-15 责任编辑:黄春燕

• 实验研究与检验技术 •

复方戊二醛消毒液杀菌性能观察

银涛<sup>1</sup>,熊鸿燕<sup>2</sup>,李秀安<sup>1</sup>,刘南<sup>1</sup>,朱兵<sup>1</sup>

1. 重庆市疾病预防控制中心,重庆 400042; 2. 第三军医大学军事预防医学院

摘要:目的 观察复方戊二醛消毒液的杀菌效果。方法 采用悬液定量杀菌试验、载体定性试验和理化分析方法进行实验室研究。结果 用 19 200 mg/L 戊二醛对悬液中的细菌芽胞作用 2 h,480 mg/L 对细菌繁殖体作用 10 min,平均杀灭对数值均> 5.00;用 1 920 mg/L 戊二醛对白色念珠菌作用 15 min,其杀灭对数值> 4.00。该消毒液原液对污染于载体上的枯草杆菌黑色变种芽胞作用 3 h 可完全杀灭。连续使用 17 d,仍能在相同作用时间内对医疗器械达消毒灭菌效果。结论 复方戊二醛消毒液对悬液内的细菌芽胞、细菌繁殖体和真菌都具有较好的杀灭效果。原液使用对载体上的细菌芽胞也具有较好杀灭效果。

关键词:复方戊二醛消毒液;消毒杀菌效果;细菌芽胞;细菌繁殖体;真菌  
中图分类号:R 187 文献标志码:B 文章编号:1007-2705(2011)01-0058-03

复方戊二醛消毒液是以医用级戊二醛为主要原料,辅以 2 500 mg/L 聚氧乙烯脂肪醇醚,经复方工艺制备而成,其原液戊二醛含量为 24 000 mg/L。为观察复方戊二醛消毒液杀菌效果,在实验室进行了杀菌性能的系统分析。

1 材料与方法

1.1 消毒液配制 使用前,加入 5 000 mg/L 防锈剂亚硝酸钠,用酸碱调节剂调整 pH 值至 7.60。据试验需要用硬度为 342 mg/L 的标准硬水将其稀释为待测浓度的 1.25 倍,原液使用时其有效浓度为 19 200 mg/L,置(20±1)℃水浴备用。  
1.2 稳定性测定 取该消毒剂原包装,置 54℃的恒温培养箱内 14 d。于放置前、后分别测定戊二醛含量,计算下降率。检测 3 批样品,每批样品重复测 2 次,取其平均值。  
1.3 试验菌悬液及菌片的制备 分别取枯草杆菌黑色变种(ATCC 9372)芽胞 4℃冰箱贮存液和金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)、大肠埃希菌(8099)、铜绿假单胞菌(ATCC 15442)、白色念珠菌(ATCC 10231)24 h 培养的斜面培养物,用胰蛋白胨生理盐水溶液(TPS)稀释,加入等量 30 g/L 的牛血清白蛋白(BSA)制成试验浓度的菌悬液,置(20±1)℃水浴

备用。试验菌株均来自中国普通微生物菌种保藏中心。  
将枯草杆菌黑色变种芽胞 4℃冰箱贮存液,用胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB)稀释制成菌悬液。取 10 μL 芽胞菌悬液,滴染于灭菌的不锈钢圆片(直径 12 mm,厚 0.5 mm)和灭菌医用止血钳(齿端)样本上,置 37℃恒温培养箱内干燥后备用。  
1.4 中和剂鉴定试验 分别以枯草杆菌黑色变种芽胞、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌为代表。试验分 6 组,进行中和剂悬液定量鉴定试验。试验结果,当第 1 组不长菌或菌数远少于第 2 组,第 2 组生长菌数超过 5 cfu/平皿且较第 3、4、5 组少,第 3、4、5 组生长菌量在 1×10<sup>7</sup>~5×10<sup>7</sup>cfu/mL 且 3 组组间菌数误差率不超过 15%,第 6 组不长菌时,表明所用中和剂及其使用浓度符合要求。  
1.5 悬液定量杀菌试验 取 4.0 mL 消毒剂(阳性对照组用 TPS 代替消毒剂)于试管中,置(20±1)℃水浴 5 min 后,加入 1.0 mL 试验菌悬液,混匀,作用至预定时间,取 0.5 mL 菌药混合液加至 4.5 mL 中和剂中,混匀,作用 10 min 后进行活菌培养计数,计算杀灭对数值。试验重复 3 次。  
1.6 载体浸泡定性灭菌试验 取 30 mL 消毒剂原液到无菌