

双波长分光光度法测定芦荟中的钙和镁

储召华 (韩山师范学院化学系, 广东潮州 521041)

摘要 [目的] 建立双波长分光光度法同时测定芦荟中钙和镁的方法。[方法] 编制计算机程序选择最佳波长对, 研究测定钙和镁的试验条件。[结果] 结合稳定性因素, 选择520~592 nm为钙的测定波长对, 选择564~610 nm为镁的测定波长对。钙和镁的线性回归方程分别为: $A = 0.00714 + 0.01625C$ 、 $A = 0.00384 + 0.00987C$; 样品平均加标回收率钙为96.1%~103.0%, 镁为98.2%~103.0%。[结论] 该方法重现性和准确性好, 可以作为芦荟中钙、镁的测定方法。

关键词 双波长分光光度法; 芦荟; 钙; 镁

中图分类号 O657.32 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)17-07826-01

Determination of Calcium and Magnesium in Aloe by Dual-wavelength Spectrophotometry

CHU Zhao-hua (Department of Chemistry, Hainan Normal University, Chaozhou, Guangdong 521041)

Abstract [Objective] The aim was to establish the method of dual-wavelength spectrophotometry for the determination of calcium and magnesium in Aloe. [Method] A computer program is compiled to select the optimum pairs of wavelength, the condition for the determination of calcium and magnesium was studied. [Result] According to the stability factor, the pairs of wavelength of the determination of calcium and magnesium were selected at 520-592 nm and 564-610 nm, respectively. The linear equation of calcium and magnesium were $A = 0.00714 + 0.01625C$, $A = 0.00384 + 0.00987C$, the recovery ranges were 96.1% - 103.0% and 98.2% - 103.0%. [Conclusion] the method has a good accuracy and reproducibility, it can be used as an analysis method for calcium and magnesium in Aloe.

Key words Dual-wavelength spectrophotometry; Aloe; Calcium; Magnesium

芦荟(Aloe)含有多种活性成分, 其中的铁、钙和镁等矿物质对皮肤有直接生理活性作用, 准确测定芦荟中钙和镁含量, 可为芦荟制品的质量提供判断依据。因此, 笔者采用双波长分光光度法同时测定芦荟中的钙和镁, 方法简单、准确, 不需掩蔽来消除钙与镁的相互干扰^[1], 即使钙、镁含量相差悬殊也不受限制, 以此种方法测定了芦荟样品中钙、镁含量, 结果令人满意, 为基层检测芦荟的品质提供了简便的方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 524型分光光度计, 1 cm比色皿; 二甲酚橙: 2.0×10^{-3} mol/L; 溴化十六烷基三甲基铵(CTMAB): 1.0×10^{-2} mol/L; 氨-氯化铵缓冲溶液; 钙标准溶液(14.23 μg/ml)、镁标准溶液(16.71 μg/ml); 芦荟全叶样品: 除去芦荟新鲜叶片的头尾及边缘, 粉碎; 芦荟凝胶样品: 除去芦荟鲜叶的头尾、叶缘及外皮, 剥出内凝胶部分粉碎; 芦荟外皮样品: 除去鲜叶的头尾、叶缘及内凝胶后所剩部分粉碎。

1.2 试验方法 参照文献[2], 用C语言编制选择波长的程序, 在500~650 nm波长范围内, 每隔2 nm读取Ca、Mg的吸光度值, 输入计算机, 按K递减排序, 输出前20组K和 λ_1 、 λ_2 , 确定最佳“波长对”。在选定的Ca、Mg“波长对”下测定标准系列的吸光度, 绘制出标准工作曲线。取适量的芦荟样品, 经微波消化后, 在同样的条件下测定吸光度, 进而求得芦荟样品中的钙、镁含量。

2 结果与分析

2.1 波长对的选择 按文献[1]显色, 以试剂空白为参比, 测定吸光度, 计算选出20对“波长对”, 结合稳定性因素选择520~592 nm为钙的测定波长对, 选择564~610 nm为镁的测定波长对^[2]。

2.2 标准工作曲线 分别配制钙浓度为1.42、2.85、4.27、...、14.23 μg/25 ml 10个溶液, 镁浓度为1.67、3.34、5.01、...、16.71 μg/25 ml 10个溶液(其中含1.0 ml 二甲酚橙、1.0 ml 缓

冲溶液和1.0 ml CTMAB), 显色后, 在上述选定的4个波长处测定吸光度, 按公式 $K_{Ca} = A_{Ca}^{564} / A_{Ca}^{610}$ 及 $K_{Mg} = A_{Mg}^{592} / A_{Mg}^{520}$ 进行计算, 取 K_{Ca} 及 K_{Mg} 的平均值, 求得 $K_{Ca} = 1.032$, $K_{Mg} = 1.085$ 。绘制系数倍率法测定钙、镁的工作曲线, 由图1可知, 回归方程分别为: Ca, $A = 0.00714 + 0.01625C$, $r = 0.9938$; Mg, $A = 0.00384 + 0.00987C$, $r = 0.9928$ 。

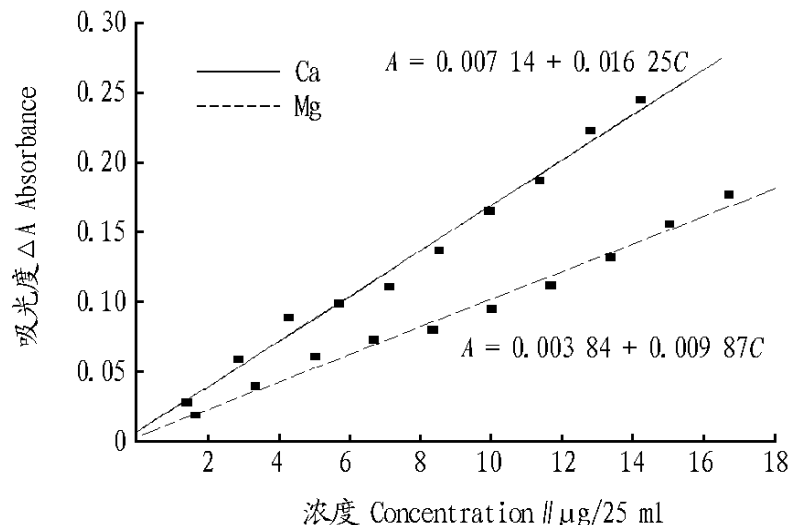


图1 Ca和Mg双波长工作曲线

Fig.1 The dual-wavelength working curve of Ca and Mg

2.3 共存离子的影响 在10 μg/ml Ca和10 μg/ml Mg存在条件下, 相对误差不大于±5%, 125倍的 Al^{3+} 、 Fe^{3+} , 65倍的 Pb^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cd^{2+} , 2倍的 S^{2-} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 N^{2+} 不干扰。

表1 芦荟样品测定结果(n=5)

Table 1 Determination results of Aloe samples (n=5)

样品 Samples	元素 Element	测定平均值 Measured average $10^3 \mu\text{g/g}$	加标量 Added amount of standard $10^3 \mu\text{g/g}$	测得总量 Total measured amount $10^3 \mu\text{g/g}$	回收率 Recovery %
全叶 Total leaves	Ca	6.188	4.000	10.290	102.5
	Mg	2.293	2.000	4.259	98.3
外皮 Scarfskin	Ca	14.441	8.000	22.681	103.0
	Mg	7.954	2.000	9.918	98.2
凝胶 Gel	Ca	4.976	4.000	8.820	96.1
	Mg	1.183	2.000	3.243	103.0

2.4 人工试样分析 人工配制7份Ca、Mg混合溶液, 其中Ca

(下转第7851页)

作者简介 储召华(1965-), 男, 安徽六安人, 副教授, 从事有机合成及分析应用方面的研究。

收稿日期 2009-03-09

相色谱、液相色谱、质谱法等, 这些方法均具有专属性强、灵敏度高特点, 是目前测定食品中抗生素残留的重要方法。

2.3.1 气相色谱(GC)法。链霉素为非挥发性化合物, 且在紫外可见光区无吸收, 需先对其进行衍生化处理, 然后才能进一步分析。

2.3.2 液相色谱(HPLC)法。目前, 多数研究采用反相色谱或离子对色谱系统检测链霉素残留。链霉素在低pH值条件下为极性较强的碱性化合物, 因此一般用强离子交换柱进对其进行分离, 以进一步提高检测的精确度、稳定性和重复性。由于链霉素无特征性紫外吸收, 可利用其结构中的活泼基团(如氨基、碳基)与衍生化试剂反应, 形成在紫外区有吸收或有荧光的物质, 以便于紫外检测或荧光检测, 其中衍生化又可分为柱前衍生和柱后衍生2种方法。

采用高效液相色谱柱后衍生法测定蜂王浆中的链霉素, 检出限和定量限分别为0.05和0.01 ng/kg^[11]; 我国国标《蜂蜜中链霉素残留的测定方法——液相色谱法》(GB/T18932.3-2002)中蜂蜜中链霉素残留的标准测定方法也是以氢氧化钠为衍生试剂, 柱后衍生, 在 $E_x/E_m = 263/435$ nm处荧光检测的高效液相色谱法; 液相色谱法对水产品中链霉素残留的检出限可达0.01 ng/kg^[12]。

2.3.3 质谱法。质谱法(MS)的发展推动了动物性食品中链霉素残留的研究进展, 但由于该方法所需仪器复杂, 且仪器价格昂贵、操作繁琐耗时, 所以一般只用作确证方法。欧盟现行牛奶中链霉素残留的检测方法即为LC/MS/MS。

2.3.4 毛细管电泳(CE)。毛细管电泳(CE)是20世纪80年代后期发展起来的一种分离分析技术, 具有分离效率高、速度快、样品用量少等特点。该方法毛细管区电泳带和胶束电动毛细管色谱处理样品量较少, 效率较高, 可用于生物样品的分析。

2.4 其他方法 薄层色谱(TLC)也是常见的一种链霉素残留的测定方法, 链霉素为极性较强的碱性化合物, 使用硅胶作薄层色谱的固定相时, 展开剂中需加入氨水调节pH值以减少拖尾现象, 因链霉素结构中具有伯氨基, 而显色剂中含有与伯氨基发生显色反应的茚三酮。

近年来, 一些新的链霉素残留的检测方法不断涌现, 如FEDORCHUK等^[13]采用伏安法检测食品中的链霉素残留, 检出限为 3.2×10^{-11} mol/L, 回收率超过90%。

3 发展前景及趋势

(上接第7826页)

加入量为1.42、1.78、2.13、...、2.85; Mg加入量依次为5.01、4.18、3.34、...、1.67。相对误差Ca在2.3%~5.4%; Mg在1.7%~3.1%。

2.5 样品分析 准确称取芦荟样品2.0 g于微波消化罐中, 加入HNO₃ 3 ml、H₂O₂ 3 ml, 旋紧瓶盖后消化5 min, 冷却后移入25 ml容量瓶中, 定容摇匀。取适量显色后, 在上述波长下测定吸光度, 测定结果见表1。

食品中链霉素的残留往往较低, 要对其进行准确检测就要尽可能的使待检测抗生素富集, 同时去除其他无关杂质, 并避免来自环境和操作人员的污染。食品中富含脂肪和蛋白质, 这些物质不仅会影响链霉素的衍生、分离和检测, 而且对样品的回收率和检出限也具有非常重要的影响。因此链霉素富集和杂质的去除方法将是今后的重要研究内容之一。

以HPLC为代表的色谱技术已被证明为最有效的确证性检测食品中农兽药残留的手段之一。伴随着新型检测器的出现和应用, 如电化学检测器、示差折光检测器、脉冲电化学检测器、蒸发光散射检测器(ELSD)等, 非衍生化HPLC链霉素检测方法的开发具有很大的发展潜力和实用价值。

目前及今后较长一段时间, 免疫分析方法仍是食品中链霉素残留快速检测的首选方法。随着单克隆抗体、生物传感器等相关技术的发展和完善, 在进一步强化免疫分析法原有简便、快速、灵敏等优点的基础上, 提高该方法的准确度和精密密度将成为重要的研究和开发目标, 以使该方法不仅可用于生产和流通过程中大量样本的快速筛选检测, 而且在一定条件下具备部分快速确证性检测的功能, 从而与色谱检测技术有机结合后, 构建起合理、高效的检测体系。

参考文献

- [1] 吴燕, 郭成明, 袁雯玮. 氨基糖苷类抗生素分析方法进展[J]. 天津药学, 2005, 17(1): 46-48.
- [2] 周晓溪, 姚羽. 氨基糖苷类抗生素的分析方法进展[J]. 中国药师, 2004, 7(2): 142-144.
- [3] BOISON J O, MACNEIL J D. Chemical analysis for antibiotics used in agriculture[J]. AOAC International, 1995, 4(6): 256-259.
- [4] 郭文欣, 王国忠, 李韩华. 链霉素在牛奶中残留检测[J]. 中国兽药杂志, 2001, 35(2): 24-26.
- [5] 黄粗凌, 刘智宏, 叶妮, 等. HISA法检测牛奶中链霉素残留量[J]. 中国乳品工业, 2007, 35(2): 53-56.
- [6] 范国英, 王建华, 王自良, 等. 链霉素残留快速检测阻断HISA试剂盒的研制及其性能测定[J]. 中国兽医杂志, 2008, 44(1): 82-84.
- [7] 范国英, 王顺岗, 王自良, 等. 链霉素残留检测HISA试剂盒的研制及应用[J]. 畜牧兽医学报, 2008, 39(3): 380-384.
- [8] 秦燕, 鲍伦军, 朱柳明. 鸡肝中链霉素残留的2种免疫分析方法[J]. 华南农业大学学报: 自然科学版, 2003, 24(4): 88-91.
- [9] 何方洋, 万字平, 丁双阳, 等. 链霉素胶体金快速检测试纸条的研制[J]. 中国动物检疫, 2008, 25(5): 29-31.
- [10] 王立, 江洁, 张莹, 等. 化学发光法测定水产品中链霉素残留[J]. 广西师范大学学报: 自然科学版, 2007, 25(3): 83-87.
- [11] 张晓燕, 徐锦忠, 沈崇钰, 等. 高效液相色谱柱后衍生法测定蜂王浆中的链霉素[J]. 色谱, 2008, 26(3): 396-397.
- [12] 王立, 林洪, 江洁. 液相色谱法测定水产品中链霉素残留[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 204-207.
- [13] FEDORCHUK V A, PUCHKOVSKAYA E S, ANSIMOVA L S, et al. Use of voltammetry for determining antibiotics streptomycin and azitromycin[J]. J Anal Chem, 2005, 60(6): 518-522.

3 结论

以计算机编程序选择波长对, 双波长分光光度法测定芦荟中Ca和Mg含量, 方法重现性和准确性好, 可以推广应用与实际生产。

参考文献

- [1] 匡军, 刘钢, 黄承高. 二甲酚橙-溴化十六烷基三甲基铵分光光度法测定钙和镁[J]. 分析化学, 1984, 12(8): 736.
- [2] 吴家齐, 李滨. 双波长分光光度法研究. 用电子计算机选择波长对[J]. 分析化学, 1985, 13(2): 132-135.