

策前提供参考意见,供其选择。

2.3.2 抓好正反面典型 对于正反面典型要认真进行总结,及时向领导汇报。抓住搞好食品卫生工作不仅不影响经济发展反而促进经济效益的典型,请领导实地考察。一经明确了食品卫生与经济的辩证关系,领导必定会全力支持食品卫生工作。

2.3.3 多做食品卫生实事 卫生行政部门及食监机构应集中精力,抓住群众关心的问题,扎扎实实地办好食品卫生方面实事,让食品卫生工作产生看得见,说得出的效益,在社会上扩大影响,领导也会自然地重视食品卫生工作。

2.4 来自宣传教育方面的影响 应该借用各种新闻工具,如广播、电视、报纸、宣传栏等,大张旗鼓地宣传食品卫生的法律法

规,表彰先进,鼓励后进,特别对于领导者中的正面典型要大力宣传,发挥榜样的作用。而对于忽视食品卫生工作,造成不良后果的领导也要予以报道,昭示于众,让其他领导引以为戒,如武汉人民广播电台每天早上播出的白云彩虹 873 食品卫生特别节目。另外,要有计划地对领导干部进行食品卫生培训,宣传食品卫生法,讲解食品卫生知识,这是全面地提高领导干部的食品卫生意识的重要途径。

3 参考文献

- 1 郭节一.总结食品卫生监督执法的经验教训贯彻好行政复议诉讼法.中国食品卫生杂志.1992,4(1):3
- 2 吴肇华主编.食品卫生道德概论.第一版.武汉大学出版社 1990.308—328

• 实验技术与方法 •

小麦中雪腐镰刀菌烯醇 (NIV) 和脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 的薄层色谱测定方法

魏润蕴 李文艳 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

雪腐镰刀菌稀醇 (Nivalenol; 缩写 NIV) 和脱氧雪腐镰刀菌稀醇 (Deoxynivalenol, 缩写 DON) 是镰刀菌产生的有毒代谢产物,主要污染小麦、玉米、大麦等谷类作物,赤霉病麦中 NIV 和 DON 的污染率和污染水平都很高,人畜食用病麦后会引起中毒。在日本、南朝鲜、苏联等国的谷物中都发现 NIV 和 DON 的单独存在或同时存在,在我国的赤霉病麦中也检出了 NIV 和 DON^[1]。目前文献报导的 NIV 和 DON 的测定方法多为气相色谱法。有关用薄层色谱法测定 NIV 和

DON(尤其是 NIV) 文献报导的方法^[3、4]或在检出限度上或在回收率方面不太令人满意。本法用甲醇—水 (96+4) 提取样品中的毒素,经 XAD—4 柱净化,用甲醇洗脱毒素,用两块硅胶 G 薄层板分别双向展开测定 NIV 和 DON。本方法对 NIV 和 DON 的检出限度均为 0.125mg/kg,当样品中 NIV 和 DON 含量在 1mg/kg 和 0.125mg/kg 时,回收率可达 80% 以上,变异系数不大于 10%。

薄层色谱法虽较气相色谱法测定灵敏度差,但它易推广,尤其在我国有必要建立薄

小麦中雪腐镰刀菌烯醇 (NIV) 和脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 的薄层色谱测定方法——魏润蕴 李文艳

层色谱法,使基层单位都能检测毒素。

1 原理

小麦中的 NIV 和 DON 经提取、净化、浓缩和硅胶 G 薄层板展开后,加热薄层板,由于在制备薄层板时加入了三氯化铝,使 NIV 和 DON 在 635nm 紫外光灯下显兰色荧光,与标准比较。

2 仪器

小型粉碎机,电动振荡器,75ml 玻璃蒸发皿,层析柱:内径 1.5cm、长 21cm、下端具玻璃砂芯滤板和活塞,底部具 0.2ml 刻度尾管的 10ml 具塞浓缩瓶、玻璃板:5 × 20cm,薄层涂布器:0.3cm,展开槽:内展 25cm、宽 6cm、高 4cm,紫外光灯:365nm,微量注射器:10 μl、50 μl。

3 试剂

以下试剂均为分析纯。甲醇,三氯甲烷,丙酮,异丙醇。

$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 化学纯。

Amberlite XAD—4 树脂 用水和 1mol/L NaOH 洗树脂,水洗至中性后,弃去水,加甲醇浸泡放置过夜,偶尔轻轻振摇,弃去甲醇。再分别用甲醇及水洗后,贮于水中。

硅胶 G 薄层色谱用。

标准溶液 分别配制 NIV 和 DON 标准溶液。精密称取 0.0020g NIV 和 DON,用甲醇溶解,转入 10ml 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,配制成含 NIV 和 DON 各 200 μg/ml 的贮备标准液。再用甲醇稀释成含 NIV 和 DON 各 20 μg/ml 的使用标准液。

4 操作步骤

4.1 提取 称取 20g 粉碎并过 20 目筛的样

品置于 250ml 具塞锥瓶中,用 100ml、100ml 甲醇—水 (96+4) 提取二次,每次振荡 30min,过滤,将滤液滤入一 200ml 量筒中,再用少量甲醇—水 (96+4) 洗涤残渣,过滤,滤液并入量筒中,用甲醇—水 (96+4) 定容至 200ml,摇匀。取 25ml 滤液置于 100ml 分液漏斗中,加入 7ml 水,摇匀,加 50ml 石油醚振摇 1min,静置,分取甲醇水层于 70℃ 水浴上减压浓缩至约 6ml,加 30ml 水稀释后进行柱净化。

4.2 净化 于层析柱中加入 XAD—4 树脂,高度为 4cm。赶走柱内气泡,调节流速为 1~1.5ml/min,使水面降至浸过树脂顶层。加入样品溶液,待样品溶液完全流进柱后用 30ml 蒸馏水洗,速度为 2.5ml/min,压出柱内残留的水,关闭活塞,加入 10ml 甲醇,用玻璃棒搅动赶走柱内气泡,调节流速为 2.5ml/min,再用 10ml × 5 甲醇洗提毒素于一锥瓶中,压出柱内残留的甲醇溶液。于 70℃ 水浴上减压浓缩至干,加入少量甲醇将锥瓶中的残渣洗入蒸发皿中或直接洗入浓缩瓶中,挥去溶剂后,加 0.2ml 甲醇溶解残渣,供薄层色谱点样用。

4.3 薄层色谱测定

4.3.1 薄层板的制备 称取 4.6g 硅胶 G,加 11ml 15% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 水溶液,研磨至粘稠状,铺成三块 5 × 20cm 的薄层板,置室温干燥后,于 105℃ 活化 1h,贮干燥器中备用。

4.3.2 展开剂

测定 NIV 用展开剂

横展剂 三氯甲烷—丙酮—异丙醇—水 (4+2.5+3.5+0.6)

纵展剂 三氯甲烷—丙酮—异丙醇—水 (3+2.5+4.5+1.2)

测定 DON 用展开剂

横展剂 乙醚、乙醚—丙酮 (95+5) 或无水乙醚。任选其中一种, 使样品 DON 点偏离原点 0.7cm, 刚好与杂质荧光分开。

纵展剂

三氯甲烷—丙酮—异丙醇 (8+1+1)

三氯甲烷—丙酮—异丙醇—水 (7.5+1+1.5+0.1)

4.3.3 点样 在每块薄层板上距下端 2.5cm 的基线上点样。

测定 NIV 用薄层板点样方式 取两块薄层板, 在每块薄层板的基线上距左边缘 1.2cm 处滴加 8 μ l 样液, 在第二块板的样液点上加滴 4 μ l 标准溶液。再分别在薄层板上距上端 6cm 处的横线上, 并与下端基线上样液原点相对应的位置上滴加约 2 μ l 的标准液, 作为 NIV 经横向展开后的定位点。先横展薄层板, 然后再于薄层板的基线上距左边缘 0.8cm 处滴加 4 μ l 标准溶液, 纵展薄层板。此为样品含 1mg/kg NIV 的点样量。根据测定情况, 用增减样品和标准溶液滴加量的方式, 或稀释样品溶液进行含量测定。

测定 DON 用薄层板点样方式 取两块薄层板, 在每块薄层板的基线上距左边缘 0.8cm 处点 8 μ l 样液, 在第二块板的样液点上加滴 2 μ l 标准溶液。再分别在两块板的基线上距左边缘 1.2cm 处滴加 4 μ l 标准液。在薄层板上距上端 1.5cm 处的横线上并与下端基线上两点相对应的位置上点两个 DON 标准点, 各 2 μ l, 作为 DON 横向展开后的定位点。此为样品含 1mg/kg DON 的点样量, 根据测定情况, 用增减样品和标准溶液滴加量的方式, 或稀释样品溶液进行含量测定。

样品溶液的最大点样量是 32 μ l, 与标准 40ng NIV 和 DON 相比较, 则本方法可达到的检出限度为 0.125mg/kg。

4.3.4 展开

横展 在展开槽内倒入 10ml 横展剂, 将点好样的薄层板靠样液点的长边斜浸入溶剂, 展至板端过 1~2min, 取出通风挥发溶剂 2~3min。注意: 在测定 NIV 的薄层板上滴加标准液。

纵展 对测定 NIV 的薄层板 在展开槽盖内面贴二层水饱和的滤纸, 放入薄层板后, 用电吹风热风吹展开槽盖, 使滤纸上水分蒸发直至展开槽四壁出现水蒸气。纵展薄层板 1h, 取出通风挥发溶剂 10min。如空气湿度大, NIV 荧光点变扁, 可用减少展开槽内空气湿度甚至减少纵展剂中含水量来调节。

对测定 DON 的薄层板 纵展 15cm, 取出通风挥发溶剂 10min。由于 DON 与杂质的分离受空气湿度的影响, 当板面分离效果不太好时, 有以下几种展开方式, 可按极性大小依次换用: (1)三氯甲烷—丙酮—异丙醇 (8+1+1)。(2)三氯甲烷—丙酮—异丙醇 (8+1+1) 并在展开槽盖内面贴一层水饱和滤纸。(3)三氯甲烷—丙酮—异丙醇—水 (7.5+1+1.5+0.1)。(4)三氯甲烷—丙酮—异丙醇—水 (7.5+1+1.5+0.1) 并在展开槽盖内面贴一层水饱和滤纸。如展开槽内空气湿度太大, 会使 DON 荧光点变扁。

4.3.5 显荧光 将经过双向展开后的薄层板置烘箱中加热 7~10min。加热温度 DON 为 130 $^{\circ}$ C, NIV 为 160~170 $^{\circ}$ C。取出薄层板放于冷的表面上 5min 后于 365nm 紫外光灯下观察, 对测定 NIV 的薄层板放置 15min 后观察, 效果更好。

4.3.6 观察与评定 薄层板经横展后, 板上的 NIV 和 DON 荧光点均横向移位了, 正是根据这一点使样品 NIV 和 DON 荧光点摆脱了杂质荧光的干扰。利用与薄层板上端标准点横向移动的位置和纵展后标准荧光点的

Rf 值比较定性, 与标准荧光点比较荧光强度定量。如果在第一块薄层板上滴加 32 μl 样液后, 样液点未出现 NIV 和 DON 荧光点, 而在第二块薄层板上滴加 32 μl 样液加 40ng 标准 NIV 和 DON 所显荧光强度与 40ng 标准 NIV 和 DON 荧光强度相等, 则样品中 NIV 和 DON 的含量为阴性或在 0.125mg/kg 以下。

4.3.7 薄层光密度计测定 在“小麦及其制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON) 的薄层色谱测定”中已作了描述, 可参考进行 DON 的薄层扫描测定。

5 计算

$$X = A \times \frac{V_1}{V_2} \times D \times \frac{1}{m}$$

式中:

X—样品中 NIV 和 DON 的含量, mg/kg;

A—薄层板上测得样液点上 NIV 和 DON 的量, μg;

V₁—加入甲醇溶解残渣的体积, ml;

V₂—滴加样液的体积, ml;

D—样液的总稀释倍数;

m—用甲醇溶解残渣相当样品的重量, g。

6 结果

毒素加入量 mg/kg	NIV 回收率 %	DON 回收率 %
1	85 80 80 87 80	90
0.125	80 80 80 85 85	80

注: 已有 DON 的薄层色谱法, 未作多次 DON 回收率测定。在本法中 DON 的回收率大于 NIV。用本法测定五份样品, 四份 NIV 阴性, 一份含 0.5mg/kg NIV。

方法回收率 于空白样品中加入 NIV 和 DON, 用目视比较法测定。

7 讨论

本法用甲醇—水 (96+4) 同时提取样品中的 NIV 和 DON, 经 XAD—4 柱净化后进行薄层色谱测定。由于提取净化操作简单, 在薄层点样液中仍有大量杂质, 无法在薄层板上一次纵展同时测定 NIV 和 DON, 只能用双向展开。由于 NIV 和 DON 极性的差别, 不能通过一块薄层板的双向展开同时测定两种毒素, 可用两块薄层板、两种不同的双向展开溶剂系统分别测定 NIV 和 DON, 在薄层板上排除杂质干扰的效果很好, 使方法的回收率和检出限度都比较满意。

8 参考文献

- 1 Veno Y et al. Deoxynivalenol, Nivalenol and Zearalenone in Scabby Wheat from Shanghai, China J. Food Hyg. Soc.
- 2 Tanaka T et al. Improved Methodology for the Simultaneous Detection of the Trichothecene Mycotoxins Deoxynivalenol and Wivalhol in Cereals Food Addit. Contam. /1985;2:125 ~ 137
- 3 Romer TR. Use of Small Charcoal/Alumina Colanup Column in Determination of Trichothecene Mycotoxins in Foods and Feeds J. Assoc. Off. Anal. Chem/1986; 69: 699
- 4 Kamimura H et al. Simultaneous Detection of Several Fusarium Mycotoxins in Cereals, Grains, and Foodstuffs J. Assoc. Off. Anal Chem/1981; 64: 1067