

Namdari^[14]发现某些气单胞菌有自杀现象,且比较稳定,不易发生变异,于是便提出了以自杀现象为基础结合该菌的产气性和七叶苷水解,快速检测本属细菌。Namdari拟出了一个简明的鉴定程序:自杀而不产气者为Ac,不自杀、有明显产气、又能快速水解七叶苷者为Ah,不自杀能产气、不分解七叶苷者为As。该程序经210株来自临床和环境的气单胞菌分析验证,表明方法可靠、快速、简便,值得推广。

总之,气单胞菌的致病性已引起广泛重视,其分离、鉴定方法正朝着快速、简便、准确方面发展。

3 参考文献

- 1 胡圣尧,等.气单胞菌生物学特性研究进展.中国卫生检验杂志,1995,5(2):125~127
- 2 Desmond E, et al. Growth of *Aeromonas species* on enteric agars. J Clin Microbiol, 1986, 23(6):1065~1067
- 3 Kay BA, et al. Media for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. J Clin Microbiol, 1985, 22(3):888~890
- 4 Mishra S, et al. Comparison of selective media for primary isolation of *Aeromonas species* from human and animal feces. J Clin Microbiol, 1987, 25(11):2040~2043
- 5 杨正时.气单胞菌分离与鉴定用培养基研究进展.国外医

- 学(微生物学分册),1990,13(1):26~29
- 6 Robinson J, et al. Media for isolation of *Aeromonas spp* from feces. J Med Microbiol, 1989, 18:405~411
- 7 Misra SK, et al. Growth of *Aeromonas spp* on Butzler campylobacter selective agar and evaluation of the agar for the primary isolation of *Aeromonas spp* from clinical specimens. J Clin Microbiol, 1989, 27(2):346~347
- 8 鲁培基,等.从腹泻患者粪便中分离和鉴定气单胞菌属.中华传染病杂志,1992,10(1):21~23
- 9 许新强,等.嗜水气单胞菌的生态学调查.中国人兽共患病杂志,1989,5(4):36~37
- 10 于泉.医学气单胞菌.国外医学(微生物学分册),1987, 6:254~258
- 11 Douglas W, et al. Enzymatic characterization of *Aeromonas hydrophila* complex by the APIZYM system. J Clin Microbiol, 1982, 16(4):692~696
- 12 于泉,等.与致病性有关的气单胞菌生化特性.微生物学通报,1987,3:114~116
- 13 Altwegg M, et al. Biochemical identification of *Aeromonas genospecies* isolated from humans. J Clin Microbiol, 1990, 28(2):258~264
- 14 辜明铭.气单胞菌的致病性与检验方法研究进展.国外医学(临床生化与检验学),1991,12(2):61~64

离子色谱法在食品分析中的应用(综述)

陈青川 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

离子色谱法(IC)是70年代中期发展起来的一项新的液相色谱技术,目前已成为分析化学领域中发展最快的分析方法之一,它已被广泛地用于无机阴、阳离子和有机离子的测定。它具有灵敏度高,选择性好,试样用量少,易实现自动化等优点,已公认是进行食品分析的一种有效手段。^[1]鉴于离子色谱法用于食品分析的时间还不太长,加之发展很快,本文仅就1990年以来国内外这方面的进展作一简要介绍。

1 采用电导检测器的离子色谱法

电导检测器仍然是目前离子色谱法中使用最多的检测器,根据有无抑制系统,又可将其进一步分为抑制型离子色谱法(或双柱离子色谱法)和非抑制型离子色谱法(或单柱离子色谱法)。根据分离机理的不同,可分为:

1.1 高效离子色谱(HPIC)

HPIC是离子色谱的主要分离方式,它的分离机理主要是离子交换,一般用于亲水性阴、阳离子的分离。目前HPIC多用微膜抑制器(MMS)作为抑制系统,由于MMS具有抑制容量高、死体积小等优点,因此适宜于采用较高强度的淋洗液和进行梯度淋洗。文献[2]采用IC早期的纤维膜抑制器,以国产薄壳强碱性阴离子交换树脂(YSA-2)为分离柱,以4mmol/L NaHCO₃ + 3.8mmol/L Na₂CO₃ + 3.7%对硝基苯酚为淋洗液,测定了海带中的碘。有关MMS的应用详见表1。值得一提的是,日本学者^[10]采用该方法,成功地测定了四大类共130种食品中PO₄³⁻的含量,其试样种类几乎涵盖了所有的食品,成为近年来IC在食品分析中最成功的应用范例(分析条件见表1)。此外,一些最新型的技术方法也被首先应用

于食品分析领域。文献[11]采用柱切换技术,克服了梯度淋洗法基线不稳定的缺陷,有效提高了测定灵敏度,适宜于弱保留和强保留离子的同时测定。该法的原理是:采用两根色谱柱,一根保留时间较长(称A柱),一根保留时间较短(称B柱),进样后弱保留离子首先通过A柱和B柱,而强保留离子仍滞留在B柱中,此时将A柱切换出淋洗流路,将强保留离子从B柱中直接洗脱,切换前后洗脱液均经MMS。该法已成功用于饮料中乙酸、山梨酸、 Cl^- 、苯甲酸(以上为切换前)和 HPO_4^{2-} 、糖精(以上为切换后)的测定。文献[12]也介绍了一种“摘心式”(“heart-cut”)柱切换技术,该法可有效消除基体的影响,避免柱的过载。其原理是:在不加分离柱的情况下,测定待测离子标准溶液峰开始出峰和完全流出的时间,这一段时间称为“H—C”,装上分离柱,按以下四个步骤进行:(1)弃去洗脱液的开始部分,即将洗脱液从前置柱中直接弃去;(2)在H—C开始时,改变洗脱液流路,将其从前置柱导入分离柱;(3)在H—C结束时,将前置柱切换出淋洗液流路,将淋洗液直接导入分离柱;(4)净化前

置柱。该法已成功用于粮食、酒类和饮料中 SO_3^{2-} 的测定,回收率为79%~112%。

单柱离子色谱法一般采用低容量的离子交换树脂和低电导的淋洗液,直接进入电导检测器进行检测。由于不经过抑制系统,因此适宜于测定易在 OH^- 型抑制柱上产生沉淀的阳离子(如过渡金属、重金属和稀有元素)。它的主要应用详见表2。一般对于碱金属离子、铵离子和胺类的分离,多采用无机酸作淋洗液,文献[20]采用草酸为淋洗液,同样对上述离子进行了分离,其效果较使用酒石酸或柠檬酸时为佳。文献[24]采用HPIC-CS3分离柱,用双柱离子色谱法测定了标准物质奶粉中的钾、钠和总氮,采用YSC-2型分离柱,用单柱离子色谱法测定了同一试样中的钙和镁。文献[25]则介绍了采用聚丁乙烯—马来酸涂布的硅胶固定相,在使用无络合能力的盐酸为淋洗液时,在双柱和单柱离子色谱系统中,均可成功地分离测定碱金属和碱土金属,其检出限均低于 9ng/mL ,这对于以往较为困难的一价、二价阳离子的同时测定,可以说是一个不小的进步。

表1 采用MMS的抑制型离子色谱的应用

分析对象	色谱柱	淋洗液	再生液	应用
苯甲酸,山梨酸	$2 \times \text{HPIC} - \text{AG6}$	$1.5\text{mmol/L Na}_2\text{CO}_3$	$25\text{mmol/L H}_2\text{SO}_4$	饮料 ^[3]
草酸	$\text{HPIC} - \text{AS4A}$	$1.8\text{mmol/L Na}_2\text{CO}_3$ $+ 1.7\text{mmol/L NaHCO}_3$	$5\text{mmol/L H}_2\text{SO}_4$	蔬菜 ^[4]
F^- ,乳酸,乙酸,乙醇 酸,甲酸,丙酮酸	$\text{HPIC} - \text{AS6}$	$0.5\text{mmol/L Na}_2\text{CO}_3$	$25\text{mmol/L H}_2\text{SO}_4$	调味品 ^[5]
同上	$\text{HPIC} - \text{AG6}$	$0.8\text{mmol/L Na}_2\text{CO}_3$	$25\text{mmol/L H}_2\text{SO}_4$	黄酒 ^[6]
Cl^- ,琥珀酸,苹果酸,马来 酸, SO_4^{2-} ,酒石酸,草酸	$\text{HPIC} - \text{AG6}$	$5\text{mmol/L Na}_2\text{CO}_3$ $+ 5\text{mmol/L NaOH}$	$25\text{mmol/L H}_2\text{SO}_4$	调味品 ^[5] , 黄酒 ^[6]
磷酸,糖精,柠檬酸	$\text{HPIC} - \text{AS4}$	$8.0\text{mmol/L Na}_2\text{CO}_3$ $+ 5.0\text{mmol/L NaOH}$	$25\text{mmol/L H}_2\text{SO}_4$	饮料 ^[7]
甲酸,乙酸,戊酸,乳酸	$\text{HPIC} - \text{AS4A}$	$0.5\text{mmol/L NaH}_2\text{PO}_4$	$25\text{mmol/L H}_2\text{SO}_4$	葡萄酒,醋等 ^[8]
糖精	$\text{HPIC} - \text{AS5}$	$33\text{mmol/L NaOH} +$ $7.7\text{mmol/L Na}_2\text{CO}_3 + 8\text{mmol/L}$ 对氰酚 + 2%乙腈	$12.5\text{mmol/L H}_2\text{SO}_4$	虾 ^[9]
PO_4^{3-}	$\text{HPIC} - \text{AS4A}$	$1.8\text{mmol/L Na}_2\text{CO}_3 +$ 1.7mmol/L NaHCO_3	$25\text{mmol/L H}_2\text{SO}_4$	130种食品 ^[10]

1.2 离效离子排斥色谱(HPICE)

HPICE的分离机理主要是Donnan排斥,一般用

于有机酸和氨基酸的分离。文献[13]采用 Dionex HPICE-AS1 分离柱以及经典的 Ag 型抑制柱,以 1mmol/L HCl 为淋洗液,测定了食品添加剂中苹果酸及其杂质(顺丁烯二酸和反丁烯二酸)的含量,苹果酸的最低检测量可达 $3.54 \times 10^{-7} \text{g}$ 。牟世芬等^[14]则采用 HPICE-AMMS 抑制系统,以 1mmol/L HCl 为淋洗液,在 HPICE-AS1 柱上对啤酒中的柠檬酸、丁二酸、乙酸进行了测定,在 HPICE-AS5 柱上对红葡萄

酒中的酒石酸、乳酸、柠檬酸进行了测定。但相对于 HPIC 来说,HPICE 的应用还依然较少。

此外,文献[23]采用新型的非抑制型离子排斥色谱法分离了果汁和料酒中的苹果酸、维生素 C、乳酸、琥珀酸、甲酸、乙酸和丙酸,该法采用 Shim-Pack SCR-102H 离子排斥柱,以 0.8mmol/L 对甲苯磺酸 + 0.4mmol/L 硼酸为淋洗液,检出限均在 $0.57 \mu\text{g/mL}$ 以下。

表 2 单柱离子色谱法的应用

分析对象	色谱柱	淋洗液	应用
F^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- ,	Shim-Pack	1.5mmol/L	白酒,
SO_4^{2-} , 甲酸, 乙酸, 乳酸, 酒石酸	IC-A1	邻苯二甲酸氢钾	啤酒 ^[15]
Cl^- , SO_4^{2-}	IC-PAK 阴离子柱	4mmol/L 邻苯二甲酸(pH4.5)	大米 ^[16]
Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , I^- , H_2PO_4^- ,	Shim-Pack IC	0.75mmol/L	水果,
SO_4^{2-} , 乙酸, 琥珀酸, 苹果酸, 苯甲酸, 柠檬酸, 酒石酸	-A1	邻苯二甲酸(pH4.25)	饮料 ^[17]
CN^-	TSK gel IC- Anion-PW	20mmol/L 二甲基乙醇胺 + 1.43mmol/L 甲酸 + 20nmol/L TTHA ⁽¹⁾ + 0.03mmol/L 硼酸钠	杏 ^[18]
SO_3^{2-}	IC-PAK 阴离子柱	硼酸钠 + 葡糖酸钠(pH8.5)	香肠, 果汁, 虾 ^[19]
Li^+ , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , 甲胺, 乙胺, 丙胺	Shim-Pack IC-C1	4.0mmol/L 草酸	汽水 ^[20]
Li^+ , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+}	IC-PAK C M/D 柱	0.1mmol/L EDTA 酸 + 3.0mmol/L HNO_3	饼干, 蔬菜, 花生酱 ^[21]
Mg^{2+} , Ca^{2+}	Shodex Y-521	2mmol/L 乙二胺 + 4mmol/L 酒石酸	牛奶 ^[22]

(1): TTHA: 三亚乙基四胺—N,N,N',N'',N''',N''''—六乙酸六钠盐

2 采用紫外—可见光度检测器的离子色谱法

2.1 直接紫外光度检测法

本法适用于所有含 π 电子或未键合电子的离子和化合物,对于无机离子,检测波长一般在 190~220nm 之间。文献[26]以 HPIC-AS4 为分离柱,以 1mmol/L NaHCO_3 + 1mmol/L Na_2CO_3 为淋洗液,在 210nm 处测定了肉制品中的 NO_3^- 和 NO_2^- ,避免了采用电导检测时高含量的 Cl^- 干扰。文献[27]则以 HPIC-AS4A 为分离柱,以 1.7mmol/L NaHCO_3 + 1.8mmol/L Na_2CO_3 为淋洗液,在 210nm 处测定了牛肉和多种蔬菜中的 NO_3^- ,其中高含量的 Cl^- 采用 Ag^+ 型树脂柱除去。文献[28]采用 TSK gel IC-Anion-PWXL 分离柱,以 2.5mmol/L KH_2PO_4 + 1.0mmol/L K_2HPO_4 为淋洗液,测定了 13 类共 111

种食物中 Br^- 的含量,并由此提出无机溴的 ADI 值为 $1\text{mg/kg BW}\cdot\text{d}$,显示出 IC 在食品卫生方面广阔的应用前景。

2.2 柱后反应衍生法(PRC 法)

本法适用于无紫外—可见光吸收的重金属离子、氨基酸和多元胺,在分离柱后与显色剂反应,用各种光度法检测。文献[29]采用 meso 四-(对磺基苯)卟啉为柱后衍生剂,在含 NaCl 的硼酸钠缓冲介质中(pH10.3~12),在帕酚(PAR)催化下,与汞、镉和锌发生显色反应,在 430nm 处检测,可用于大米试样的测定。文献[30]则在双功能的分离柱(HPIC-CS5)上,以 0.15mol/L H_2SO_4 + 0.05mol/L Na_2SO_4 为淋洗液,采用苯基荧光酮为显色剂,测定了保健饮料中的锡和锆,检测波长为 520nm。文献[31]介绍了采用螯合离

子色谱一柱后衍生法测定脱脂奶粉中锶的方法。首先将聚苯乙烯—二乙烯基苯中性疏水性树脂(Dionex公司)在酞紫中浸渍,然后装入聚醚醚酮(PEEK)柱中。以 1mol/L KNO_3 + 0.05mol/L 乳酸为淋洗液,以 0.2mmol/L Zn-EDTA + 0.12mmol/L PAR + 2mol/L NH_3 为柱后衍生剂,利用 Sr 与 Zn-EDTA 发生置换反应,在 490nm 处用光谱阵列检测器测定 Zn-PAR 的吸光值,该法的检出限可达 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3 采用安培检测器的离子色谱法

一般的单电位安培检测器多用于测定疏水性较强的离子。文献[32]采用 Vydac 302 IC 分离柱,以 5.5mmol/L KH_2PO_4 为淋洗液,采用安培检测器测定了牛奶和精制食盐中的碘。但单电位安培检测器在测定糖类和醇类化合物时,会发生严重的电极“中毒”现象。近年来,采用阴离子交换分离、脉冲安培检测器检测糖类是糖类分析中一项突破性的进展。糖的 pK_a 值一般为 12 左右,在 $\text{pH} \geq 12$ 的碱性溶液中,可以被 NaOH 溶液所分离。在同样使用 HPIC-AS6 分离柱的情况下,文献[33]以 1.0mol/L 和 0.15mol/L NaOH 为淋洗液,采用梯度淋洗法测定了桔子和黄酒中的 6 种糖;文献[34]以类似的方法(淋洗液为 0.070mol/L NaOH),测定了各种蔬菜中的葡萄糖、果糖和蔗糖;文献[35]则在脉冲安培检测之后,又串联了 MMS 进行电导检测,以 0.080mol/L NaOH 为淋洗液,成功地分离了啤酒和黄酒中的 8 种糖和 4 种有机酸,整个过程不超过 12 分钟。

4 采用其它检测器的离子色谱法

离子色谱法与其它分析技术(如质谱、原子吸收、原子发射)联用,扩大了离子色谱的应用范围,一方面对于共淋洗的未知成分可以进行分别鉴定,另一方面也成为进行形态分析的一种有效手段。有关这方面的应用,限于篇幅,这里就不介绍了。

5 结束语

离子色谱是近年来发展很快的一项分析技术,其应用范围已经涉及到周期表中的绝大多数元素。但是相对于其它领域(如环保),离子色谱在食品分析中的应用还不太广泛,而且分析对象多集中在阴离子方面,在现行国标方法中尚未有离子色谱法的应用。可以相信,随着研究的深入和仪器的普及,离子色谱法必将在食品分析领域发挥日益重要的作用。

6 参考文献

- 1 国家自然科学基金委员会. 自然科学学科发展战略调研报告(分析化学). 北京: 科学出版社, 1993, 52
- 2 石济民, 等. 抑制型离子色谱快速测定 I^- 、 SCN^- 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$. 分析实验室, 1994, 13(1): 85~87
- 3 朱岩. 饮料中防腐剂的离子色谱法测定. 分析化学, 1991, 19(3): 313~316
- 4 胡敏, 等. 离子色谱法测定蔬菜的草酸含量. 营养学报, 1990, 12(1): 73~78
- 5 朱岩. 离子色谱法测定调味品中的有机酸和无机酸. 化学通报, 1990, (6): 41~43
- 6 朱岩, 等. 饮料中有机酸和无机离子的离子色谱测定法. 色谱, 1990, 8(1): 43~45
- 7 朱岩, 等. 饮料中磷酸、糖精和柠檬酸的离子色谱法测定. 化学世界, 1990, (4): 175~178
- 8 三浦恭之, 等. 氢型阳离子微膜抑制器电导减小离子色谱法测定乙酸、戊酸、乳酸和甲酸. 分析化学(日), 1994, 43(10): 745~749
- 9 Heitkemper DT, et al. Determination of saccharin in shrimp by ion chromatography and capillary gas chromatography - mass spectrometry. J Chromatogr A. 1994, 671(1-2): 323~329
- 10 辻澄子, 等. 离子色谱法测定生鲜和加工食品中天然来源的正磷酸盐. 食品卫生学杂志(日), 1994, 35(1): 56~65
- 11 戚文彬, 等. 离子色谱柱切换技术同时测定食品中的多种成分. 分析测试学报, 1993, 12(1): 44~47
- 12 Villasenor SR. Matrix elimination in ion chromatography by "heart-cut" column-switching techniques. J Chromatogr. 1992, 602(1-2): 155~161
- 13 向丽娟, 等. 离子排斥色谱法分离分析若干有机酸. 分析测试通报, 1992, 11(3): 41~44
- 14 牟世芬, 等. 有机酸的离子排斥色谱分析研究. 色谱, 1992, 10(3): 133~136
- 15 于泓, 等. 单柱离子色谱法同时分析无机阴离子和有机酸. 色谱, 1993, 11(2): 109~110
- 16 李德芳, 等. 离子色谱法同时测定大米中的硫和氯. 色谱, 1993, 11(6): 377~379
- 17 邵志峰, 等. 单柱离子色谱同时分析有机酸和无机阴离子的研究. 分析测试学报, 1994, 13(5): 32~36
- 18 藤村一良, 等. 电导检测离子色谱法测定氰化物. 分析化学(日), 1994, 43(8): 655~658
- 19 Ruiz E, et al. High performance ion chromatography determination of total sulfites in foodstuffs. J Liq Chromatogr. 1994, 17(2): 447~456
- 20 关良智, 等. 单柱离子色谱法同时测定碱金属、铵离子和

- 胺类. 色谱, 1995, 13(1): 53~55
- 21 Morawski J, et al. Analysis of cationic nutrients from foods by ion chromatography. J Chromatogr. 1993, 640(1-2): 359~364
- 22 佐藤健二, 等. 离子色谱法同时测定牛奶中镁钙的前处理方法. 分析化学(日), 1992, 41(4): 203~205
- 23 郜志峰, 等. 非抑制型电导检测离子排斥色谱法分析有机酸. 分析化学, 1994, 22(12): 1234~1237
- 24 杨瑞康, 等. 离子色谱法测定脱脂奶粉标准物质中钾、钠、钙、镁和总氮的含量. 食品与发酵工业, 1991, (6): 78~81
- 25 Nair LM, et al. Simultaneous separation of alkali and alkaline-earth cations on polybutadiene-maleic acid-coated stationary phase by mineral acid eluents. J Chromatogr. 1993, 640(1-2): 41~48
- 26 朱岩, 等. 离子色谱法(紫外检测)测定肉制品中的硝酸根和亚硝酸根. 色谱, 1991, 9(6): 392~394
- 27 辻澄子, 等. 比色法和离子色谱法测定不同食品中硝酸根和亚硝酸根时样品溶液的制备. 食品卫生学杂志(日), 1993, 34(2): 161~167
- 28 Miyahara M, et al. Determination of bromide ions in food by unsuppressed ion chromatography with ultra-violet detection after microwave digestion in a sealed PTFE vessel. J Agric Food Chem. 1994, 42(5): 1126~1131
- 29 阎大任, 等. 以 meso 四-(对磺基苯)卟啉为柱后衍生剂同时测定微量镉、汞、锌的离子色谱法. 高等学校化学学报, 1990, 11(2): 136~139
- 30 王汇彤, 等. 离子色谱法快速连续测定锆和锡的研究. 色谱, 1994, 12(5): 333~335
- 31 Jones P, et al. Determination of barium and strontium in calcium-containing matrices using high-performance chelation ion chromatography. J Chromatogr A. 1994, 673(2): 173~179
- 32 Chadha RK, et al. Determination of iodide in dairy products and table salt by ion chromatography with electrochemical detection. J Chromatogr. 1990, 518(1): 268~272
- 33 朱岩. 梯度淋洗离子色谱法测定食品中的糖类. 分析仪器, 1990, (3): 43~46
- 34 Lamb JD, et al. Ion chromatographic analysis of glucose, fructose, and sucrose concentrations in raw and processed vegetables. J Chromatogr Sci. 1993, 31(9): 353~357
- 35 朱岩, 等. 离子色谱法同时测定糖类和有机酸. 分析化学, 1990, 18(2): 102~105

(上接第 46 页)

肉毒毒素说明母女二人同吃一种染毒食物(苦菜罐头), 系由同一 B 型毒毒素引起的食物中毒。所表现临床症状也相同, 不同的是可能死者进食毒素量大于其母, 中毒较严重。

3.2 因送检的死者解剖试样量少, 各组未做毒力测定, 可根据死亡动物发病症状不典型, 死亡时间长, 初步判定所测试样中的游离毒素含量较低。从四份试样的试验动物死亡时间来看, 其毒力是血清 > 升结肠物 > 胃内容物, 这主要是由于肉毒毒素先经胃肠吸收后到血循环的缘故。本文是采取患者第三天的尸体试样供做检样, 胃肠已排空, 所以未分离出肉毒梭菌,

仅测出在胃肠壁残留少量的毒素。

3.3 对于肉毒中毒的实验室诊断一般的是从剩余食物或可疑食品检测毒素, 用血清测毒以往报导较少。从我们实验结果看, 在肉毒中毒早期(发病三天内, 使用抗毒素之前)采取患者血清、胃液、粪便排泄物测毒素是切实可行的, 也是较好的一种诊断方法, 尤其在采集不到剩余食物及可疑食品的情况下, 结合临床表现, 从易于采取的患者血清中、粪便排泄物中测出毒素更能明确诊断。

目前, 从血清中检测肉毒毒素除用此种生物学法外, 比较灵敏、快速、简便的方法还有待进一步探讨。