



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.185—2003
部分代替 GB 14974—1994

苹果和山楂制品中展青霉素的测定

Determination of patulin in apple and hawthorn products

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准代替 GB 14974—1994《苹果和山楂制品中展青霉素限量卫生标准》中第 3 章检验方法。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所负责起草。

本标准主要起草人：吴南、刘勇、刘兴介。

苹果和山楂制品中展青霉素的测定

1 范围

本标准规定了苹果和山楂制品中展青霉素的测定方法。

本标准适用于苹果和山楂制品中展青霉素的测定。

本标准检出限为:3 $\mu\text{g/L}$ 。

2 原理

试样中展青霉素经提取、净化、浓缩、薄层展开后,利用薄层扫描仪进行紫外反射光扫描定量。

3 试剂

3.1 硅胶 GF₂₅₄。

3.2 薄层色谱展开剂 横向:氯仿-丙酮(30+1.5);纵向:甲苯-乙酸乙酯-甲酸(50+15+1)。

3.3 展青霉素标准品。

3.4 乙酸乙酯。

3.5 1.5%碳酸钠溶液。

3.6 无水硫酸钠。

3.7 三氯甲烷。

3.8 显示剂:溶解 0.1 g MBTH·HCl·H₂O 3-甲基-2 苯并噻唑酮腈水合盐酸盐于 20 mL 蒸馏水中,置于冰箱中保存,每 3 天重新配制。

4 仪器

4.1 薄层扫描仪。

4.2 层析槽(内径 11.5 cm、高 20 cm 的标准缶)。

4.3 玻璃板 10 cm×10 cm。

4.4 紫外光灯。

5 操作方法

5.1 提取

5.1.1 果汁、果酒:量取果汁 25 mL,置于分液漏斗中,加入等体积的乙酸乙酯,振摇 2 min,静置分层,重复以上步骤两次,合并有机相,加 2.5 mL 1.5%碳酸钠振摇 1 min,静置分层后,弃去碳酸钠层,同上步骤再用碳酸钠处理一次。将提取液滤入 100 mL 梨形瓶中,于 40℃水浴上用真空减压浓缩至近干,用少许三氯甲烷清洗瓶壁,浓缩干,加三氯甲烷 0.4 mL 定容,供薄层色谱测定用。

5.1.2 果酱:称取试样 25 g 置于乳钵中,加适量无水硫酸钠研磨后,称至三角瓶中,加 80 mL 乙酸乙酯浸泡 30 min,振荡 30 min,过滤,取滤液 50 mL,以下操作同 5.1.1。

5.2 测定

5.2.1 薄层板的制备:取硅胶 GF₂₅₄ 5 g,加水 15 mL,涂布 10 cm×10 cm 玻璃板上,一次涂成 5 块,薄层厚度为 0.3 mm,阴干后,105℃烘烤 2 h,放入干燥器中备用。

5.2.2 点样:取一块薄板,在距底边和右边 10 cm 处,用微量注射器滴加 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的展青霉素标准液 10 μL ,相距左边 4 cm 处滴加 10 μL 样液,在试样点同一垂直线上,距顶端 2 cm 处点 20 ng 的标准

液,为位置参考点。

5.2.3 展开:横向展开到顶端后取出挥干,进行纵向展开,至顶端后,取出挥干,在 254 nm 紫外灯下观察,出现黑色吸收点则试样为阳性。进行扫描定量测定。

5.2.4 薄层色谱扫描测定:仪器操作条件:测定波长 270 nm;参考波长 310 nm;反射光测定;扫描速度 40 nm/min;记录仪纸速 20 nm/min;测定标准及试样中展青霉素峰面积。

5.2.5 阳性试样的确证:将阳性试样的薄层色谱板,喷以 MBTH 显色剂,130℃烘烤 15 min,冷至室温后,于 365 nm 紫外灯下观察,展青霉素应呈橙黄色点。

5.2.6 计算:果汁及果酱中展青霉素含量的计算见式(1)和式(2)。

果汁:
$$X = c \times \frac{A}{S} \times V \times D \times \frac{1}{V_1} \dots\dots\dots(1)$$

果酱:
$$X = c \times \frac{A}{S} \times V \times D \times \frac{1}{m} \times \frac{8}{5} \dots\dots\dots(2)$$

式中:

- X——展青霉素含量,单位为微克每毫升(μg/mL);
- c——展青霉素标准液浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
- A——样液展青霉素峰面积;
- S——标准溶液展青霉素峰面积;
- V——加入三氯甲烷定容体积,单位为毫升(mL);
- D——样液点稀释倍数;
- m——试样的质量,单位为克(g);
- V₁——液体试样的体积,单位为毫升(mL)。

6 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。