

超声波对牛奶中青霉素的降解研究

刘庆, 马力

(西华大学生物工程学院, 四川成都 610039)

摘要:在不同的温度、pH、超声功率和作用时间下,利用超声波技术对牛奶中青霉素进行降解,并用高效液相色谱(HPLC)法对牛奶中青霉素残留量进行检测,最终得到最佳降解条件为25℃、pH7、超声功率150W、作用时间35min。此时残留量小于1μg/L,符合相关规定。

关键词:超声波,青霉素,高效液相色谱法

Study on resolving the penicillin in milk by ultrasonic technology

LIU Qing, MA Li

(College of Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China)

Abstract: The penicillin in milk was resolved by ultrasonic technology and the residual penicillin was quantitated by HPLC with different temperature, pH, ultrasonic power and time. The best dispose conditions were 25℃, pH7, 150W, 35 minutes, the residual quantity was less than 1μg/L, which accorded with the relevant national standards.

Key words: ultrasonic, penicillin, high performance liquid chromatography(HPLC)

中图分类号: TS252.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)03-0138-02

随着人民生活水平的提高,人们对无公害绿色食品的要求越来越迫切,尤其要求牛奶中不能出现抗生素、农药、细菌以及激素的残留等,也迫使我国乳制品加工企业增强质量意识。虽然近年来在牛奶质量控制方面取得了长足的进步,但是较国际水平仍有一定的差距。提高牛奶质量,保证食品安全,事关消费者的健康,杜绝牛奶中抗生素残留,实施原料奶的无抗化,在已经加入WTO的今天,显得尤为重要^[1]。由于一般抗生素对热的稳定性高,牛奶加热杀菌无法将其破坏,如青霉素在121℃下,经30min热处理,其含量仅减少59.7%。这样,混有抗生素牛奶的原料乳加工成消毒奶等乳制品后,仍有大部分抗生素残留。牛奶中若残留有抗生素,会对人的健康造成很大危害,如破坏肠道内的菌群平衡,引起胃肠的疾病和生理紊乱,也可引起人的过敏反应,发生皮疹,严重的甚至有生命危险^[2]。此外,有抗生素残留的牛奶无法发酵成酸奶、奶酪等乳制品,给乳制品加工企业带来经济损失,影响乳制品工业的发展。正是因为牛奶中抗生素残留的危害性,世界各国对其都有严格的法规限制^[3]。因此,解决牛奶中抗生素的降解问题非常重要。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蒙牛牌纯牛奶 购自超市(高效液相色谱仪未检

测出有青霉素钠盐);青霉素钠盐(80万单位) 成都哈里生物工程有限公司;乙腈(色谱纯)、浓磷酸、三氯乙酸、甲醛(分析纯) 成都市科龙化工试剂厂;超纯水。

JY92-2D超声波细胞粉碎机 宁波新芝科器研究所;LC-20A-高效液相色谱仪(配荧光检测器RF-10AXL) 日本岛津;Centrifuge 5810R台式高速冷冻离心机 德国Eppendorf;FA1004电子天平 上海精科天平;HH-S4数显恒温水浴锅 金坛市医疗仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 实验流程 10μg/mL青霉素钠盐含量的牛奶样品制备→超声粉碎机仪器作用下对样品进行破碎处理^[4]→高效液相色谱仪对处理牛奶样品中青霉素钠盐残留量的检测→数据处理

1.2.2 试样品的制作 标准贮备液:精密称取青霉素钠盐标准品0.1155g,置于100mL容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,制成1000μg/mL,置于4℃保存,存放期为一周。

标准工作液 精密量取青霉素钠盐标准储备液适量,用水稀释成10μg/mL的标准溶液,即得,临用前配制。

试样品 取原料牛奶,以8000r/min离心10min,取下层液作为空白试样;添加适量标准工作液使试样品体积为20mL,浓度为10μg/L。

1.2.3 平行实验 分别以温度15、20、25、30、35℃;pH为5、6、7、8、9;超声功率50、100、150、200、250W;和作用时间20、25、30、35、40min四个因素做四组单

(下转第296页)

收稿日期:2010-12-30

作者简介:刘庆(1985-),女,在读硕士研究生,研究方向:食品科学与工程。

(10):4644-4655.

[15] SAID S, NEVES FM, GXIFFITHS A J F. Cinnamic acid inhibits the growth of the fungus *Neurospora crassa*, but it eliminated as acetophenone[J]. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2004, 54(1): 1-6.

[16] TSAI C H, KONG M S, PAN B S. Water activity and temperature effects on nonenzymic browning of amino acids in dried squid and simulated model system[J]. *J Food Sci*, 1991, 56(3): 665-670.

[17] 吴少雄, VAN BOEKE M A J S, MARTIN S I F S, 等. 温度对美拉德反应的研究[J]. *食品科学*, 2005, 26(7): 63-66.

[18] BURTON H S, MC WEENY D J. Non-enzymatic browning reactions: consideration of sugar stability[J]. *Nature*, 1963, 197(4864): 266-268.

[19] OMURA Y, EMIKO O. The difference in the browning rate between dried and seasoned product made from instantly killed squid and that from frozen squid[J]. *Nippon Suisan Gakkai*, 2005, 71(2): 198-204.

[20] AHOOR S H, ZENT J B. Maillard browning of common amino acids and sugars[J]. *J Food Sci*, 1984, 49(4): 1206-1207.

(上接第138页)

因素实验^[5], 每组单因素实验重复一次, 以便选出几组处理效果较好的数据待做正交实验。

1.2.4 正交实验 由单因素实验筛选出的数据为: 温度 A₁、A₂、A₃ 分别为 25、30、35℃; 超声功率 B₁、B₂、B₃ 分别为 100、150、200W; 作用时间 C₁、C₂、C₃ 分别为 30、35、40min; pH D₁、D₂、D₃ 分别为 5、6、7。四因素三水平, 采用正交表 L₉(3⁴)。

表1 四因素三水平实验表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiments

水平	因素			
	A 温度(°C)	B 功率(W)	C 时间(min)	D pH
1	25	100	30	5
2	30	150	35	6
3	35	200	40	7

1.2.5 测定方法^[3] 利用高效液相色谱仪检测青霉素钠盐残留量^[6]。此方法检测上限为 10μg/L, 下限为 1μg/L。色谱条件如下: 色谱柱: C₁₈, 250mm×4.6mm(i.d), 粒径 5μm; 流速: 1mL/min; 进样量: 100μL; 流动相: 磷酸水溶液(pH 3.5±0.05)-乙睛(75:25, v/v); 荧光检测器: 激发波长 334nm, 发射波长 422nm; 此方法样品中青霉素钠盐残留量计算公式^[7]为:

$$X = \frac{A \times C_s \times (V + 0.5)}{A_s \times V \times 1000}$$

式中: X: 供试样品中青霉素钠盐的残留量, 单位为 μg/L; A: 供试样品中对应青霉素钠盐的色谱峰面积; A_s: 标准工作液中青霉素钠盐的色谱峰面积; C_s: 标准液中青霉素钠盐的浓度, 单位为 μg/mL; V: 试样品的量, 单位为 mL。

由此公式可知青霉素钠盐残留量与试样品色谱峰面积成正比, 为了避免误差的增大, 以下正交表值用试样品色谱峰面积计算。

2 结果与讨论

2.1 正交实验

数据处理结果如表2。

2.2 讨论

最佳组合为 A₁B₂C₂D₃, 即 25℃, 150W, 35min, pH7。此时检测结果不出峰, 没峰值。即牛奶中的青霉素钠盐浓度小于此高效液相色谱检测极限 1μg/L。完全符合我国和国际上各项相关规定。

3 结论

据资料可查, 牛奶中抗生素在高温、酸性条件下不稳定, 易降解, 但在高温、酸性条件下牛奶的质量

表2 实验正交表 L₉(3⁴)

Table 2 Results of orthogonal experiments

实验号	A	B	C	D	指标值
1	1	1	1	1	18491.67
2	1	2	2	2	12170.33
3	1	3	3	3	19185
4	2	1	1	3	18665
5	2	2	3	1	16328.33
6	2	3	2	2	31428.33
7	1	1	3	2	26460
8	3	2	1	3	20812.33
9	3	3	2	1	25138.33
K ₁	49847	63616.67	70732.33	59958.33	Y _总 = 20964.37
K ₂	66421.66	49310.99	55973.66	70058.66	
K ₃	72410.66	75751.66	61973.33	58652.33	
k ₁	16615.67	21205.56	23577.44	19986.11	
k ₂	22140.55	16437	18657.89	23353.89	
k ₃	24136.89	25250.55	20657.78	19550.67	
R	5524.88	8813.55	4919.55	3803.22	

都会受到影响。常温下紫外、红外线等光降解需要很长时间并且降解率不高, 残留量高。加入抗生素降解物质后产生的降解产物对人体的安全性有待研究。然而, 经过本实验证明可得, 在(常温)25℃下, pH7, 超声功率 150W 条件下利用超声波作用 35min 就能充分降解掉牛奶中的青霉素钠盐。条件易得, 操作简单、实用性强、安全、成本低、效率高, 并且对牛奶品质影响极小。对于现代奶制品企业提高产品质量, 增大利润, 提高企业竞争力都提供了有利保证。

参考文献

- [1] 郭斌. 超声波/H₂O₂技术预处理抗生素制药废水的应用研究[C]. 北京: 中国环境科学学会学术年会优秀论文集, 2008: 803-809.
- [2] 陆梅. 高效液相色谱法测定水中的土霉素、金霉素、四环素残留[J]. *环境研究与监测*, 2009, 22(3): 39-40.
- [3] 沈永聪, 李守军, 杨林. 牛奶中抗生素残留检测技术进展[J]. *畜牧兽医科技信息*, 2006(5): 87-88.
- [4] 张文虎, 张瑞梅. 牛奶中抗生素残留及其速测方法[J]. *新疆畜牧业*, 2009(4): 27-28.
- [5] 陈基耘, 徐健君. 浅谈我国液相色谱法检测牛奶中抗生素残留研究现状[J]. *计量与测试技术*, 2008, 35(7): 56-57.
- [6] 佚名. HPLC(NY/T 829-2004)牛奶中氨基青霉素残留检测方法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [7] 韩洪莉, 高长玲. 牛奶中抗生素残留来源及几种常用检测方法[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2009(8): 66-67.