

环境毒物的纸上 和薄层色谱分析

[美] M. E. 盖茨 著

吴湘澍 于会亭 译

● 人 民 卫 生 出 版 社

环境毒物的纸上和 薄层色谱分析

〔美〕 M. E. 盖茨 著

吴湘澍 于会亭 译

人民卫生出版社

**Paper and Thin Layer Chromatographic
Analysis of Environmental Toxicants**

M. E. GETZ

HEYDEN

London · Philadelphia · Rheine

1980

环境毒物的纸上和

薄层色谱分析

〔美〕 M. E. 盖茨 著

吴湘澍 于会亭 译

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

北京印刷一厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本 8印张 171千字

1984年9月第1版 1984年9月第1版第1次印刷

印数: 00,001—7,600

统一书号: 14048·4611 定价: 1.25元

〔科技新书目 67 — 60 〕

出版说明

当前,环境问题是世界各国日益关心的课题之一。有关环境分析的各种著作已相继问世。本书专门论述了纸上色谱或薄层色谱在环境毒物分析中的应用,其内容涉及多种学科,包括各类天然或合成化合物,从动物饲料添加剂到杀虫剂、除莠剂和杀菌剂;从表面活性剂到化妆品的各种组分;从空气和水的有机和无机污染物到动植物体中的毒素,此外还包括了诸如抗氧剂、防腐剂和甜味剂等食品添加剂。另一方面,由于纸上色谱和薄层色谱具有操作简便、设备简单而又有着独特分离能力等突出优点,因此本书中介绍的方法将成为有关分析人员,特别是那些缺少昂贵的现代仪器设备的分析人员的有价值的参考资料。

在本书所讨论的化合物中,有些通用名称或商标名称,译者尚未见其中译名。对这些名称,根据具体情况,分别按如下三种情况处理:

1. 不译出,仍用原英文名称,另加注学名(少数学名不明者例外)。例如第3.6.3节中的“metoxymarc”(见第94页),经查无中文通用名称,译者根据有关资料注明其学名。

2. 音译。例如第6.5.2节中的“cannogenin”(见第175页),以外文名称前半部“canno”的发音译为肯诺配质,另加注“3 β , 11 β -二羟基-19-氧代-5 β -卡烯内酯”作进一步说明。又如第6.4.4节的“quinolizidine”(第169页),仿“喹诺里嗪(quinolizine)”,音译为喹诺里定。

3. 译其学名。例如第5.5节的“zinc pyrithion”(见

第143页)。经查知其化学名称为“zinc pyridine-2-thiol-1-oxide”，即吡啶环第2位上巯基的氢被锌取代形成的盐，分子式为 $Zn(C_5H_4NOS)_2$ ，故译为“2-巯基氧化吡啶锌”。

本书篇幅不大，但涉及多种专业，加之译者水平有限，译文中不妥或错误之处在所难免，恳请批评、指正。

译者

序 言

他们将支配海里的鱼、空中之鸟、牲畜、
整个地球以及地球上所有的爬行动物。

《创世纪》1.26~27

从写下以上的话至今已经有许多世纪了。在这时期，人类不但利用了、而且遗憾的是滥用了大自然的恩赐。在20世纪的今天，我们敏感地注意到我们的环境。污染、生态、环境已成为我们的日常用语，不少人强调了人类及其环境的制约关系以及人类对环境的有益又有弊的作用。

随着科学和技术以日益增长的速度发展，人们已认识到：虽然人类要毁灭地球是极不可能的，但肯定能破坏其支配地球的那些因素。人工合成化学品开始排入自然界这一事实使得人们有必要去确定环境是否能将这些合成物稀释或转化，以防止产生无法消除的有害作用。这一需要揭示了分析化学新阶段的开始。新的分离技术，配合高精度的电子仪器，使分析家有能力测量含量愈来愈少的化合物。

色谱技术已使环境分析工作变得更为简便。本专著论述了在纸上和薄层色谱中的液-液和液-固吸附现象，综述了作为监测环境中天然和人为污染物及毒物分析方法的这两种色谱技术。作者从这一内容十分广泛的学科中选择了意义较大的课题，努力收集充足而适当的资料，使有经验的分析家可能找到解决其实际问题的方法。

现在已有可能借“原位”测量斑点密度的方法使纸上和薄层色谱如其它色谱法一样进行定量分析。借助光学扫描仪

器可以做到这一点，办法是在纸上或薄层色谱分离之后，应用分光光度法测定有关化合物。已经没有必要在用分光光度或其它方法定量之前从斑点上提取出待测物质。

“原位”光扫描法的应用使本书所述的许多方法适合于定量测定。此点意味着现在分析家已有三种定量色谱方法，即：包括许多鉴定器的气液色谱法，高性能的液相色谱法和有着各种各样显色试剂的薄层和纸上色谱法。

.....

M. E. Getz

1979. 11

目 录

出版说明	[5]
序言	[7]
第 1 章 药物和动物饲料添加剂	(1)
1.1 提取和分离	(3)
1.2 抗生素的分析	(4)
1.3 磺胺药物的分析	(12)
1.4 硝基呋喃药物的分析	(15)
1.5 含砷药物的分析	(17)
1.6 其它药物的分析	(18)
第 2 章 空气和水的污染	(22)
2.1 空气中的致癌物	(22)
2.2 水的污染	(29)
2.3 水中表面活性剂和去污剂	(30)
2.4 酚及有关化合物	(35)
2.5 水中金属离子	(40)
第 3 章 农 药	(47)
3.1 提取和纯化	(49)
3.2 有机氯杀虫剂	(53)
3.3 有机磷农药	(62)
3.4 氨基甲酸酯	(76)
3.5 砷化合物	(83)
3.6 除莠剂和植物生长调节剂	(84)
3.7 杀菌剂	(96)

第 4 章 食品添加剂	(101)
4.1 抗氧剂和防腐剂	(101)
4.2 增塑剂	(111)
4.3 甜味剂	(113)
4.4 抗生素	(115)
4.5 亚硝酸	(117)
4.6 食用色素	(119)
第 5 章 化妆品	(132)
5.1 引言	(132)
5.2 脂族酸	(134)
5.3 羧酸酯	(135)
5.4 香料	(136)
5.5 防腐剂	(142)
5.6 其它化妆品组分	(144)
5.7 染发剂	(146)
5.8 光毒性, 香柑油内酯的鉴定	(150)
5.9 天然香豆素的鉴定	(151)
第 6 章 天然存在的毒物	(155)
6.1 蜂蜜中的木藜芦毒素	(155)
6.2 蘑菇中的毒肽和毒伞肽	(157)
6.3 鱼中的毒素	(159)
6.4 植物生物碱	(164)
6.5 植物糖甙和葡糖甙	(172)
6.6 硒化合物	(183)
6.7 真菌毒素	(184)
第 7 章 色谱技术和试剂	(196)
7.1 引言	(196)

7.2	吸附剂	(196)
7.3	加样	(199)
7.4	展开	(201)
7.5	检测体系	(215)
7.6	偶合显色反应	(218)
7.7	热解和高温反应	(222)
7.8	其它显色反应	(225)
7.9	衍生作用	(233)
7.10	鉴定	(237)
7.11	检测灵敏度	(238)
7.12	微生物显影	(238)
7.13	定量薄层色谱	(240)

第1章 药物和动物饲料添加剂

人类种植庄稼和饲养食用动物已有数千年的历史，只是在最近二百年，抗生素和其它药物才被用于改良许多农产品。其中应用之一是将一些特效的化学药品与动物饲料相混合，以增强家畜抵抗疾病和寄生虫的能力。

从两个方面看，保持家畜群体的健康是重要的。首先，这有助于以合理的价格为消费者提供优质肉、鸡鸭、蛋和奶制品；其次将大大减少动物之间共患疾病的传播；更重要的是大大减少了将疾病传染给人类的机会。

由于对动物蛋白质的需求随着世界人口急剧增加而增长，同时也由于农业技术力求使生产保持在高水平，因此，抗生素和其它药物对于维持有效的、竞争性的家畜业来说，已变得日益重要。有许多药物用作家畜生长调节剂，并用于防治诸如球虫病、组织滴虫病、蠕虫病和其它流行性疾病和寄生虫（这些疾病和寄生虫能传染给饲养场家畜）。表1.1和表1.2列出了美国在这方面应用的许多化学药物。

表 1.1 在动物治疗中通常使用的抗生素

杆菌肽(Bacitracin)	新霉素(Neomycin)
金霉素(Chlortetracycline)	新生霉素(Novobiocin)
红霉素(Erythromycin)	制霉菌素(Nystatin)
灰黄霉素(Griseofulvin)	竹桃霉素(Oleandomycin)
潮霉素(Hygromycin B)	土霉素(Oxytetracycline)
林肯霉素(Lincornycin)	青霉素G(Penicillin G)
莫恩菌素(Monensin)	泰乐菌素(Tylosin)

表 1.2 在美国通常动物使用的药物

通 用 名 称*	化 学 名 称
氯硝苯酰胺 (Aklomide)	2-氯-4-硝基苯甲酰胺
安普洛里 (Amprolium)	氯化1-[(4-氨基-2-丙基噻啉-5-基)甲基]-2-甲基吡啉 对氨基苯甲酸
阿散酸 (Arsanilic acid)	
丁喹酯 (Buquinolate)	4-羟基-6,7-双(异丁氧基)-3-喹啉羧酸乙酯
癸氧喹酯 (Decoquinat)	6-正癸氧基-7-乙氧基-4-羟基-3-喹啉羧酸乙酯 己烯雌酚
DES	
二甲硝基咪唑 (Dimetridazole)	1,2-二甲基-5-硝基咪唑
氯硝噻唑 (Enheptin)	2-氨基-5-硝基噻唑
Ethopabate	4-乙酰胺基-2-乙氧基苯甲酸甲酯
痢特灵 (Furazolidone)	N-(5-硝基-2-呋喃甲叉)-3-氨基-2-恶唑烷酮
咪唑双酰胺 (Glycarbylamide)	4,5-咪唑双碳酸酯
异丙硝咪唑 (Ipronidazole)	1-甲基-2-异丙基-5-硝基咪唑
苯甲氧喹酯 (Nequinat)	7-苯甲氧基-6-丁基-1,4-二氢-4-氧代-3-喹啉羧 酸甲酯
尼卡巴嗪 (Nicarbazin)	4,4'-二硝基均二苯脲-2-羟基-4,6-二甲基噻啉 3,5-二硝基水杨酸
二硝水杨酸 (Nifursol)	
硝呋啶 (Nihydrazone)	5-硝基-2-呋喃甲酰乙酰胺
硝乙噻唑啉 (Nithiazide)	1-乙基-3-(5-硝基-2-噻唑基) 脲
硝丹 (Nitrodan)	3-甲基-5-(4-硝基苯基偶氮) 绕丹宁
硝基糠脲 (Nitrofurazone)	5-硝基-2-呋喃脲缩氨基脲
二硝苯酰胺 (Nitromide)	3,5-二硝基苯甲酰胺
双硝基苯硫 (Nitrophenide)	双(间硝基苯基) 二硫
硝苯肿酸 (Nitarson)	4-硝基苯肿酸
酚噻嗪, 或称硫代二苯胺 (Phenothiazine)	
哌嗪 (Piperazin)	
消旋甲砒霉素 (Racephenicol)	消旋2,2-二氯-N-(β -羟基- α -羟甲基)-4-(甲 基磺酰基) 苯乙基乙酰胺
利血平 (Reserpine)	
硝酚肿酸 (Roxarsone)	4-羟基-3-硝基苯肿酸
磺胺噻唑 (Sulfathiazole)	
磺胺甲基噻啉 (Sulfamerazine)	

续表

通 用 名 称 ^a	化 学 名 称
磺胺二甲氧嘧啶(Sulfadime- thoxine)	2,5-二甲基-5-(4,5-二甲氧基) 甲基苯甲基嘧啶
磺胺胍(Sulfaguandine)	
磺胺喹恶啉(Sulfaquinoxaline)	
磺胺二甲嘧啶(Sulfamethazine)	N-(4,6-二甲基嘧啶-2-基)磺酰胺
乙酰磺胺硝苯(Sulfanitran)	乙酰基-(4-硝基苯基)磺酰胺
噻苯咪唑(Thiobendazole)	2-(4-噻唑基) 苯并咪唑
球痢灵(Zoalene)	3,5-二硝基-2 π 甲苯酰胺

^a 在通用名称和化学名称相同时, 化学名称省略。

日益先进的动物治疗技术使政府有必要对此进行更为复杂的管理。现在动物治疗中使用的任何化学药品必须是有效的, 而且是安全的, 此外对消费者没有不良影响。不过, 药物残留在食用肉、蛋、鸡鸭和鱼中的可能性总是存在的。这就意味着在政府监督此类化学药品的使用中常常起着重要作用的化学分析, 随着畜牧业中应用的药物的不断变化, 已经变得越来越加需要。

对于动物饲料中化学药品的鉴定和测定以及食用肉类和制品中药物残留量的监测, 纸上色谱和薄层色谱是有效的手段。

1.1 提取和分离

任何一种痕量分析方法, 其第一步是将需要测定的化合物从含此化合物的基体中提取出来。用如下各种方法可以达到此目的:

(1) 振荡提取法: 用于从饲料中提取新生霉素^[1]。将 1 克样品置于具塞刻度量管或烧瓶中, 以乙酸乙酯剧烈振荡提

取两次，每次提取后缓慢倒出上层清液，稀释至一定体积（供微生物检定）或进一步纯化（供色谱分离）。

(2) 索氏(Soxhlet)萃取法：用于从饲料试样萃取灰黄霉素^[2]。将数克仔细研磨的试样置于脱脂的套管中，用三氯甲烷萃取2小时。将三氯甲烷萃取液蒸发至小体积，然后稀释至100毫升，供下一步分析操作。

(3) 高速均化作用：借此可用甲醇和HYflo Super-Cel（硅藻土）提取肌肉、肝、肾^[3]中的Clodol*。继将匀浆过滤，保留甲醇滤液，供进一步分离用。

在有关的一种或数种化合物提取之后，通常需要使它们的纯度满足色谱分析的要求，而其它一道提取的化合物只能引起最小的干扰。这一步骤通常称之为纯化。实验指出：为了制备纸上色谱或薄层色谱的分析试样，常常需要进行极为有效的纯化。一个广泛应用的纯化方法是先在极性溶剂和非极性溶剂之间的液-液分配，随后在例如氧化铝、硅胶或合成硅酸镁载体(Florisil)吸附剂上进行柱色谱分离。

制备分析试样有两个主要步骤，首先必须从基体中提取待测化合物，然后分离出不应存在的共萃取物，使得在展开薄层色谱图或纸上色谱图时，仅有轻微的干扰或不存在干扰。

1.2 抗生素的分析

抗生素用于促进牲畜和家禽的生长。总的认为，抗生素有三种主要生理作用^[4]。

(1) 新陈代谢作用：抗生素促进动物的新陈代谢，使动

* Clodol, 学名是3,5-二氯-2,6-二甲基-4-羟基吡啶, 商品名Coyden——译者注。

物生长速度加快。

(2) 抑制有害的与动物争夺营养的有机体，刺激合乎需要的有机体的生长。

(3) 抑制能引起疾病的有机体。

1.2.1 杆菌肽

抗生素杆菌肽用作生长促进剂和肝脓肿的抑制剂，用于增加蛋产量和孵化率，抑制肠炎和慢性呼吸道疾病以及减小应激效应等。

Ikekawa等^[5]研究出一个成功地分离杆菌肽的薄层色谱法。

吸附剂：硅胶G

展开溶剂：(1) 乙醇-氢氧化铵-水(8:1:1)

(2) 乙醇-水(4:1)

比移值：(1)=0.58；(2)=0.13。

用水合茚满三酮、紫外光或微生物显影使杆菌肽显出。

Nussbaumer^[6]也用薄层色谱分离杆菌肽A和杆菌肽B。

吸附剂：硅胶G

展开溶剂：正丁醇-乙酸-水(4:1:2)

比移值：杆菌肽A=0.35；杆菌肽B=0.22。

将薄层板加热至110℃，在紫外线下观察，或用溶于丁醇-乙酸中的水合茚满三酮溶液检出这二个斑点。

1.2.2 金霉素和土霉素

金霉素用作生长促进剂，也用于预防边虫病、细菌性肺炎、腐蹄病、肝脓肿、呼吸道感染、出血性败血病、肠炎、球虫病、滑膜炎、萎缩性鼻炎和颈脓肿，此外还用来增加蛋产

量和孵化率。土霉素用以增加奶产量、得到更好的蛋壳以及预防动物或人的火鸡冠紫绀病、霍乱、肝炎、细菌性腹泻、肠毒血症、钩端螺旋体病和六鞭虫病。

纸上色谱能分离这两种抗生素。一种方法是用正丁醇、乙酸和水(4:1:5)溶剂混合物进行展开^[7]。移动了的斑点以微生物显影检出。土霉素和金霉素的比移值分别为0.60和0.69。

另一个方法是用pH3.5的McIlvaine 柠檬酸盐-磷酸盐缓冲溶液浸渍色谱纸^[8]，然后用由三氯甲烷、硝基甲烷和吡啶(10:20:30)组成的溶剂体系展开。斑点以微生物显影检出。土霉素比移值为0.13；金霉素为0.50。

Kelly和Buyska^[9]以0.1M EDTA溶液浸渍色谱纸，再用正丁醇、乙酸和水(4:1:5)混合物展开。此混合物形成两相，展开时用上层溶剂。斑点检出用微生物显影法。对此溶剂体系，土霉素比移值为0.59；金霉素为0.76。当采用正丁醇、氢氧化铵和水(4:1:5)的上面溶剂层为展开剂时，土霉素和金霉素的比移值分别为0.27和0.47。

Bohonas等^[10]、Hickey 和 Philips^[11]提出另外二个有效的纸上色谱体系。前一方法是用0.3M磷酸盐缓冲溶液(pH3)浸渍色谱纸，将纸风干后在以水饱和的正丁醇中展开，斑点以微生物显影检出。土霉素比移值等于0.40；金霉素等于0.65。后一种方法以色谱法分离金霉素，不用缓冲剂，但在展开剂中加入乙酸。

吸附剂：Schleicher & Schuell No.507 色谱纸

展开溶剂：乙酸-正丁醇-水(1:2:1)

比移值=0.77。

检测技术：微生物显影

当用薄层色谱分离这两个四环素——氯四环素即金霉素和氧四环素即土霉素时，将遇到一些困难，不过Gyanchandani等^[12]已提出一个分离这二种抗生素的色谱体系。

在0.1M EDTA水溶液中加入20%聚乙烯醇400的甘油溶液（两种溶液用量为95:5），将所得溶液与50克白色硅藻土载体（Celite）混合以制备薄层板，薄层厚度0.25毫米，室温下干燥过夜。下面两个展开溶剂给出良好的分离效果。

（1）用pH4.7的McIlvaine缓冲液饱和的甲基乙基甲酮比移值：土霉素=0.60；金霉素=0.76。

（2）用pH4.7的McIlvaine缓冲液饱和的二氯甲烷-甲酸乙酯-乙醇（9:9:2）

比移值：土霉素=0.20；金霉素=0.60。

有两个显色试剂能得到良好结果：在碱性条件下，坚牢蓝B（重氮盐）和金霉素作用得到粉红色斑点，土霉素则为黄色斑点；另一个试剂是每100毫升含50毫克的二苯基苦基偕肼（diphenylpicrylhydrazyl）溶液，在碱性条件下喷雾此溶液，金霉素呈带黄色的粉红色斑点而土霉素显棕黄色斑点。

1.2.3 红霉素

红霉素用于促进生长，预防呼吸道疾病、鼻炎和应激效应。Majumdar和Majumdar^[13]提出了一个分离红霉素异构体的纸上色谱方法，即用甲醇、水和乙酮（19:75:6）展开，形成的斑点以微生物显影用金黄色化脓性葡萄球菌（*Micrococcus pyogenes* var. *Aureus*）或枯草杆菌（*Bacillus subtilis*）检出。红霉素A比移值等于0.7而红霉素