

高效液相色谱法测定饲料中喹乙醇含量

宫秀杰

(新疆兽药饲料监察所, 乌鲁木齐 830063)

[收稿日期] 2008-07-10 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2008)10-0032-03 [中图分类号] S859.84

[摘要] 利用高效液相色谱法测定饲料中喹乙醇含量。采用 C_{18} 色谱柱, 以 0.02 mol/L 磷酸二甲醇 (85:15) 为流动相, 流速为 0.8 mL/min, 检测波长为 380 nm。喹乙醇在 0.1 ~ 100 μ g/mL 范围内线性关系良好, $r=0.999\ 904$; 经 5 种不同浓度回收率的测定, 其回收率在 85.5% ~ 93.6% 之间, RSD 小于 5.2% ($n=5$)。

[关键词] 高效液相色谱法; 喹乙醇; 饲料; 含量

Determination of the Olaquinox in Feedstuff by HPLC

GONG Xiu-jie

(Xinjiang Institute of Veterinary Drugs and Feedstuff Control, Urumqi 830063; China)

Abstract: A method of HPLC was used for determination of olaquinox content in feedstuff. A C_{18} column was used with the mobile phase consisting of 0.02 mol/L phosphoric dimethanol (85:15), the flow rate was 0.8 mL/min, the detection wavelength was 380 nm. The calibration curve was linear at a range of 0.1 ~ 100 μ g/mL for the olaquinox ($r=0.999\ 904$). The recoveries of olaquinox added to blank feedstuff at levels of five concentrations were between 85.5% and 93.6%, $RSD < 5.2\%$ ($n=5$).

Key words: HPLC; olaquinox; feedstuff; content

喹乙醇是以邻硝基苯胺为原料合成的一种抗菌促生长剂,因其具有良好的广谱抗菌效果和提高畜禽饲料消化率、促生长作用而被广泛应用于兽药及饲料添加剂中。但近些年来,很多学者对喹乙醇的毒性重新做了深入系统的研究与评价,认为它是一种基因毒剂和生殖诱变剂,有致突变、致畸作用,并且在动物体内会产生蓄积毒性,可通过食物链间接地对人体健康构成威胁^[1]。因此,对饲料及饲料添加剂中喹乙醇的检测非常有必要。在使用高效液相色谱法检测喹乙醇的实际工作中,笔者参考有关资料,进行了大量的实验验证与摸索,对现有的检测方法进行了一定的改进,主要是色谱条件方面的选择,通过对检测波长的选择、线性范围、回收率等方面的试验,优选出高效液相色谱法测定饲料中

喹乙醇的最佳试验条件。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备 Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2487 紫外检测器, Sartorius 电子分析天平, 离心机等。

1.2 药品与试剂 喹乙醇对照品,批号 H00600703,含量 98.4%,中国兽医药品监察所提供;甲醇为色谱纯,美国 Fisher Scientific 公司生产;水为超纯水;其他试剂均为分析纯。饲料中喹乙醇样品为本实验室自制,规格为 20 mg/kg。

1.3 溶液的配制

1.3.1 喹乙醇标准储备液 (1 mg/mL) 精密称取于 105 干燥至恒重的喹乙醇对照品 25.41 mg 于 25 mL 棕色量瓶中,以 15% 的甲醇溶液在 60 水浴中振

作者简介:宫秀杰 (1976年-),中级兽医师,主要从事兽药残留及饲料检验。

荡溶解,并定容至刻度,储于 4℃ 冰箱中避光保存。

1.3.2 喹乙醇标准中间液 (250 $\mu\text{g/mL}$) 精密吸取喹乙醇储备液 25 mL,用 5% 甲醇溶液稀释定容至 100 mL 量瓶,得到 250 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间液。

1.3.3 喹乙醇标准工作液 精密吸取喹乙醇标准中间液 4、20、40、200、400、800、1 600、2 400、3 200、4 000 μL ,用 5% 甲醇溶液稀释,定容至 10 mL 量瓶,得到 0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0、40.0、60.0、80.0、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液。

1.3.4 0.02 mol/L 磷酸 精密吸取磷酸 1.4 mL,用超纯水稀释成 1 000 mL。

1.4 试验方法

1.4.1 色谱条件 色谱柱为 C_{18} 柱 (4.6 mm $\times$ 250 mm),美国 waters 公司生产;流动相为 0.02 mol/L 磷酸 + 甲醇 (85:15);流速为 0.8 mL/min;检测波长为 380 nm;进样量 10 μL ;柱温为室温。

1.4.2 标准曲线绘制 将 0.1 ~ 100.0 $\mu\text{g/mL}$ 的喹乙醇标准溶液按从小到大的顺序分别进样作色谱分析,每一浓度做平行测定。将喹乙醇色谱峰面积与标准溶液药物浓度作线性回归,求得标准曲线的回归方程和相关系数。

1.4.3 试样的提取 精密称取供试饲料 5.0 g,置于 150 mL 锥形瓶中,加入 0.5 g 碳酸钾和 50 mL 5% 甲醇溶液,振荡 30 min,静置,取上清液于 10 000 转离心 30 min,过微孔滤膜,注入色谱仪分析。

1.4.4 回收率的测定 取各空白饲料样品,分别加入 1 mg/mL 喹乙醇储备液 10、25、50、100、250 μL ,使样品中喹乙醇的浓度为 2.5、10、20 和 50 mg/kg,每个浓度点制备 5 份样品,按 1.4.3 项的方法处理后进行色谱分析。求其平均回收率,并计算批内相对标准偏差。取峰面积值,以外标法计算样品中喹乙醇的含量,以测得量和添加量之比计算回收率。

1.4.5 精密度试验 取喹乙醇对照品溶液 (1.0 $\mu\text{g/mL}$) 10 μL ,连续进样 6 次,计算喹乙醇峰面积相对标准偏差值。

1.4.6 稳定性试验 取添加 5 mg/kg 阳性样品溶液 10 μL ,每间隔 2 h 进样一次,连续进样 6 次,计算喹乙醇峰面积相对标准偏差值。

1.4.7 样品测定 取自制样品,每一批样做 3 份平行,按 1.4.3 项方法进行测定。

2 结果与分析

2.1 标准曲线 各浓度的喹乙醇标准工作液在选定的色谱条件下进行分析,以峰面积 (y) 为纵坐标,浓度 (x) 为横坐标,进行线性回归分析,得回归方程: $y = 30\,700x + 7\,850$, $r = 0.999\,904$ 。结果表明,喹乙醇

在 0.1 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,线性关系良好,标准曲线见图 1。

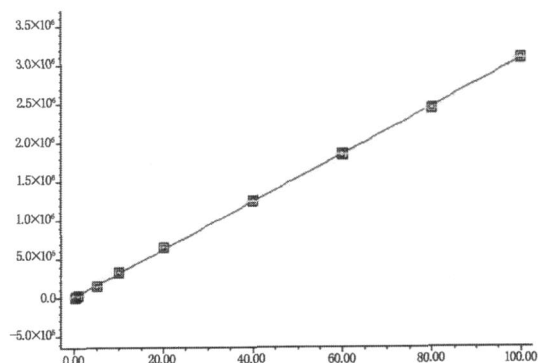


图 1 喹乙醇标准曲线

2.2 液相色谱图 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 喹乙醇的标准品 (A)、空白样品 (B) 和 5 mg/kg 阳性添加样品 (C) 的色谱图如图 2 所示。图 A 中 8.274 min 处为喹乙醇的色谱峰。通过空白试验,在此保留时间内无干扰产生,表明可以进行样品的检测。通过比较标准品、空白样品和阳性添加样品,可认为该方法及该色谱条件能实现对阳性样品的分析。

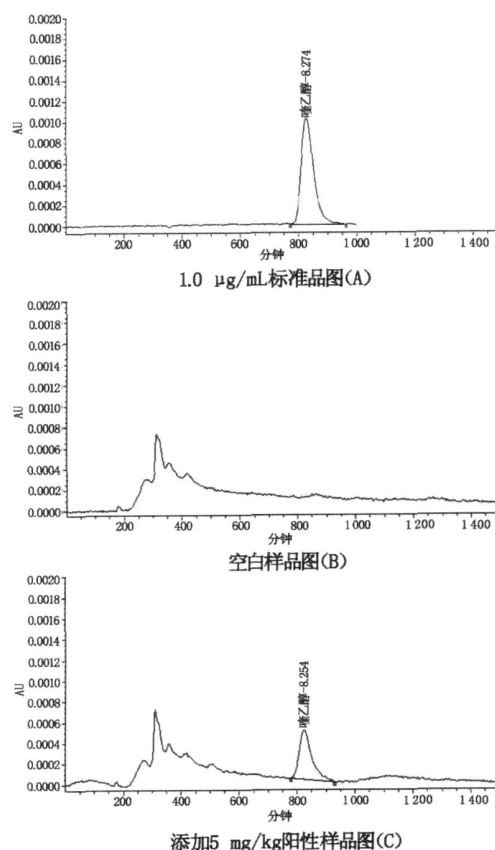


图 2 喹乙醇高效液相色谱

2.3 回收率测定 测定结果见表 1。测得的喹乙醇在饲料中的平均回收率为 89.7%, 相对标准偏差均小于 5.2%, 表明该检测方法可靠, 重复性好。

表 1 饲料样品中喹乙醇回收率测定结果 ($n=5$)

添加样品浓度 (mg/kg)	实测样品浓度 (mg/kg)	回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
2	1.71 $\pm$ 0.06	85.5 $\pm$ 3.0	5.2
5	4.41 $\pm$ 0.10	88.2 $\pm$ 2.0	4.8
10	8.95 $\pm$ 0.16	89.5 $\pm$ 1.6	4.5
20	18.3 $\pm$ 0.24	91.5 $\pm$ 1.2	3.7
50	46.8 $\pm$ 0.05	93.6 $\pm$ 2.1	3.9

2.4 精密度试验结果 喹乙醇峰面积 RSD 为 0.8%, 结果表明, 本方法精密度良好。

2.5 稳定性试验结果 喹乙醇峰面积 RSD 为 2.9%, 结果表明, 样品在 12 h 内稳定。

2.6 样品测定结果 取自制样品按 1.4.3 项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 计算喹乙醇含量, 含量分别为 18.5、18.2、18.8 mg/kg, 结果见表 2。

表 2 饲料样品中喹乙醇测定结果 ($n=3$)

批号	样品浓度 (mg/kg)	相对标准偏差 (%)
080504	18.5 $\pm$ 0.15	2.3
080505	18.2 $\pm$ 0.20	2.9
080506	18.8 $\pm$ 0.28	3.2

3 讨论

3.1 饲料样品中杂质较多, 而喹乙醇在 260 和 380 nm 处均有最大吸收峰。国标 GB/T 8381.7 - 2005^[2] 中测定波长选择为 260 nm, 通过对 260 nm 和 380 nm 波长的比较, 在 380 nm 处杂质的干扰较小, 故选择 380 nm 作为测定波长。

3.2 流动相的选择非常重要, 对分离效果影响显著, 为提高选择性, 对甲醇-水、磷酸盐缓冲液-甲醇、磷酸-甲醇等几种流动相进行了试验比较, 结果以 0.02 mol/L 磷酸-甲醇 (85:15) 所得峰形最好, 且杂质影响最小。

3.3 GB/T 8381.7 - 2005 中制订的最低检测限为 2 mg/kg, 故回收率试验以此最低检测限为最小浓度进行添加测定。

3.4 本试验色谱条件下, 喹乙醇得到良好分离, 杂质干扰小, 操作简便。

参考文献:

- [1] 孙雷, 韩嘉媛, 汪霞, 等. 喹乙醇的毒理学研究概况 [J]. 中国兽药杂志, 2008, 42 (1): 41 - 44.
- [2] GB/T 8381.7 - 2005 饲料中喹乙醇的测定 [S].

卫生部、工业和信息化部、农业部等 5 部委联合公告

2008 年第 25 号

三聚氰胺不是食品原料, 也不是食品添加剂, 禁止人为添加到食品中。对在食品中人为添加三聚氰胺的, 依法追究法律责任。三聚氰胺作为化工原料, 可用于塑料、涂料、粘合剂、食品包装材料的生产。资料表明, 三聚氰胺可能从环境、食品包装材料等途径进入到食品中, 其含量很低。为确保人体健康, 确保乳与乳制品质量安全, 特制定三聚氰胺在乳与乳制品中的临时管理限量值 (以下简称限量值)。现公告如下:

一、婴幼儿配方乳粉中三聚氰胺的限量值为 1mg/kg, 高于 1mg/kg 的产品一律不得销售。

二、液态奶 (包括原料乳)、奶粉、其他配方乳粉中三聚氰胺的限量值为 2.5mg/kg, 高于 2.5mg/kg 的产品一律不得销售。

三、含乳 15% 以上的其他食品中三聚氰胺的限量值为 2.5mg/kg, 高于 2.5mg/kg 的产品一律不得销售。

上述规定自发布之日起实施。

中华人民共和国卫生部
中华人民共和国工业和信息化部
中华人民共和国农业部
国家工商行政管理总局
国家质量监督检验检疫总局
二〇〇八年十月七日

http://www.agri.gov.cn/blgg/t20081008_1145639.htm