

用柱后衍生化法分析饲料中的聚醚类抗生素

01-00127-CN

安藤 惠美子、寺田 英敏

使用益处

- ◆ 可以根据“饲料分析标准”在较宽的浓度范围内对聚醚类抗生素的3种组分进行稳定的定量分析。
- ◆ 与《饲料分析标准》中记载的微生物学定量法相比，操作简单，可快速进行分析。
- ◆ 可实现装置从启动到停止自动化完成，分析时可大幅节省人力，提高效率。

前言

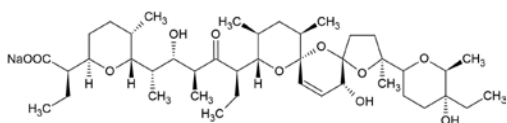
根据农林省第750号公告¹⁾，聚醚类抗生素被指定为饲料添加剂。关于这些组分的分析法，农林水产省消费/安全局长通知的《饲料分析标准》中列出了微生物学定量法、HPLC法和LC/MS法²⁾。微生物学定量法需要长时间的预处理，例如，培养试验菌16~24小时，而HPLC法的平均预处理操作时间为20分钟，可快速得出结果。

在本文中，我们将介绍盐霉素钠(SL)、莫能菌素钠(MN)和那拉霉素(NR)的分析示例，也在HPLC法中也指定了柱后衍生化可视检测法。此外，将在01-00128-JP上报告中介绍使用指定的荧光检测法分析拉沙洛西钠的示例。

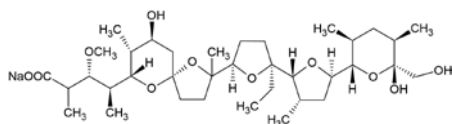
检测方法原理

本次作为研究对象的3种组分的结构式如图1所示。通过反相色谱法分离各组分后，在硫酸-甲醇中与图2所示的香草醛(4-羟基-3-甲氧基苯甲醛)进行加热反应(Komarowsky反应)，在520 nm附近生成吸收最大的衍生物并进行检测。

Salinomycin (sodium salt)



Monensin (sodium salt)



Narasin

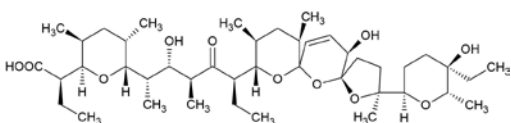


图1 聚醚类抗生素3种组分的结构式

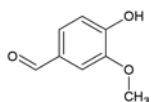


图2 香草醛的结构式

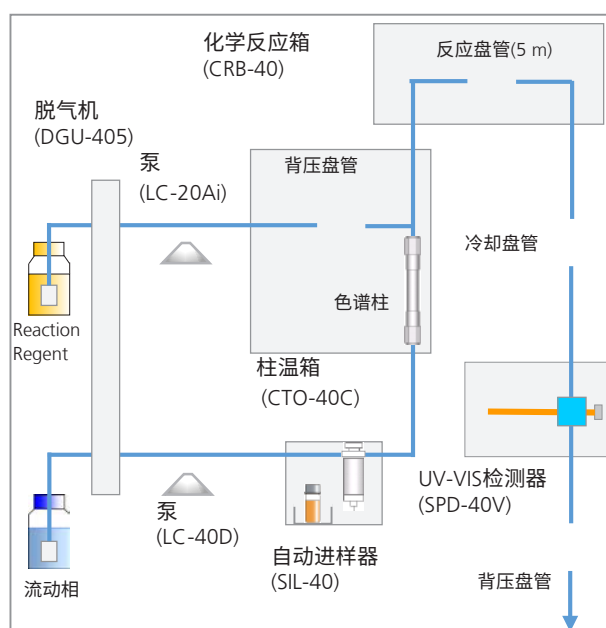


图3 流程图

表1 分析条件

< 分离 >	
系统	: Nexera lite
色谱柱	: Shim-pack Scepter™ C18-120 ^{*1} (150 mm×4.6 mm I.D., 5 μm)
流动相	: 水 / 甲醇 / 乙酸 = 60 : 940 : 1 (v : v : v)
流速	: 0.6 mL/min
柱温	: 40°C
样品瓶	: SHIMADZULabTotal™ LC 1.5 mL 玻璃 ^{*2} 进样瓶
< 柱后反应 >	
反应剂	: 甲醇 / 硫酸 / 香草醛 = 95 : 2 : 3 (v : v : w)
流速	: 0.6 mL/min
反应温度	: 95 °C
反应盘管	: 5 m x 0.5 mm 内径
检测	: SPD-40V (惰性电池 *3) (灯: W) , 检测波长 520 nm

*1 P/N: 227-31020-05 *2 P/N: 227-34001-01

*3 P/N: 228-64728-42

标准曲线的线性度和面积重现性

《饲料分析标准》中将所述目标饲料标准溶液的最低浓度规定为 0.5 μg (效价) / mL。图 4、6、8 所示为进样 20 μL 相当于规定浓度一半的 0.25 μg (效价) / mL 时的色谱图。图 5、7、9 所示为“饲料分析标准”中所述浓度的范围内创建的各组分的标准曲线。红点表示以《饲料分析标准》中所述饲料为对象基于预处理对各组分的标准值 3) 进行换算后得到的数值。各组分的线性相关系数大于 (r^2) 为 0.999, 线性良好。表 2、3、4 所示为对同一小瓶中连续分析 6 次时各组分的保留时间及峰面积的平均值和重现性 (%RSD)。由此得出, 即使在低浓度下, 也能获得良好的重现性, 且系统性能稳定。

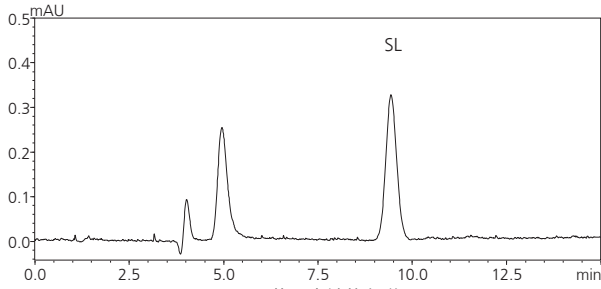


图 4 盐霉素钠的色谱图

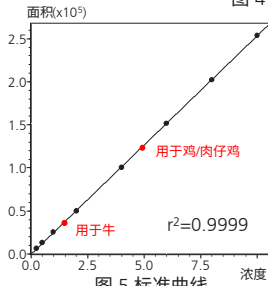


图 5 标准曲线
(浓度: 0.25~10 μg (效价) / mL)

表 2 重现性
(0.25 μg (效价) / mL, n=6)

	Average	%RSD
保留时间	9.44	0.04
面积	6448	1.00

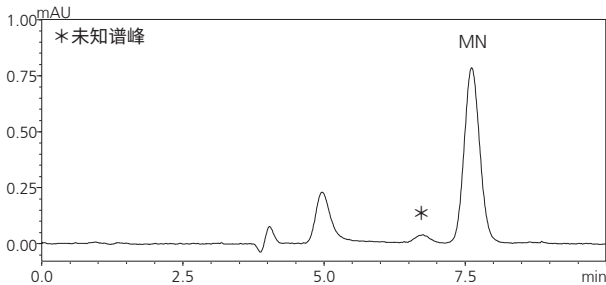


图 6 莫能菌素钠的色谱图

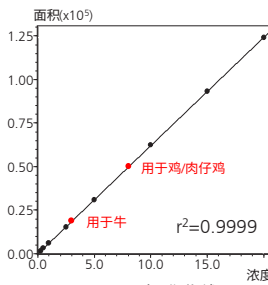


图 7 标准曲线
(浓度: 0.25~20 μg (效价) / mL)

表 3 重现性
(0.25 μg (效价) / mL, n=6)

	Average	%RSD
保留时间	7.62	0.05
面积	14906	0.47

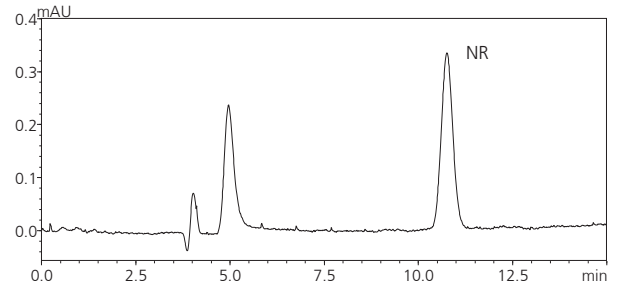


图 8 那拉霉素钠的色谱图

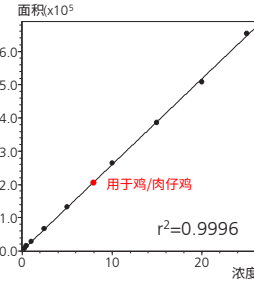


图 9 标准曲线
(浓度: 0.25~25 μg (效价) / mL)

表 4 重现性
(0.25 μg (效价) / mL, n=6)

	Average	%RSD
保留时间	10.77	0.05
面积	7074	1.02

标准样品的分析

将 SL、MN、NR 添加到基于“饲料分析标准”所述目标饲料程序创建的鸟类饲料萃取液中, 使其浓度为 0.5 μg (效价) / mL, 这相当于标准曲线范围的最低浓度。图 10 所示为进样 20 μL 该溶液时的色谱图。表 5 所示为加标回收试验的结果以及未知峰 (*) 与 MN、SL 和 NR 各峰之间的分离度 (各 3 次的平均值)。各峰的分离度均大于 1.5, 加标回收率也获得了良好的结果。

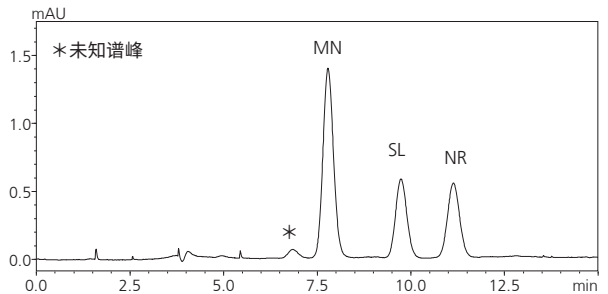


图 10 添加有聚醚类抗生素 3 种组分的鸟饲料萃取液的色谱图

表 5 分离度和加标回收率

	分离度	加标回收率 (%)
MN	1.93*	103.3
SL	3.60	100.6
NR	2.45	104.6

*1: MN 与未知谱峰之间的分离度

结论

在本文中, 我们介绍了根据《饲料分析标准》利用柱后衍生化法分析聚醚类抗生素 3 种组分的示例。可以在较宽的浓度范围内快速获得稳定的定量结果。此外, 该装置从启动到停止自动化, 有助于提高工作效率。

岛津应用云

< 参考文献 >

- 1) 根据确保饲料安全性及质量改善相关的法律规定来确定饲料添加剂的事项 (1976 年 7 月 24 日农林省公告第 750 号)
- 2) 饲料分析标准 (2008 年 4 月 1 日 /19 消安第 14729 号农林水产省消费 / 安全局长通知)
- 3) 饲料以及饲料添加剂的组分标准等相关省令 (1976 年 7 月 24 日农林省令第 35 号)

Nexera、Shim-packScepter 以及 SHIMADZULabTotal 是株式会社岛津制作所在日本及其他国家的商标。



岛津企业管理 (中国) 有限公司
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

