

通过荧光检测法分析饲料中的聚醚类抗生素

01-00128-CN

泽田 浩树、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以良好的重现性对饲料添加剂拉沙洛西钠进行分析。
- ◆ 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⁾。

在微生物学定量法中，试验菌的继代保存和培养基的制备比较复杂，另外，由于试验菌要培养 16 ~ 24 小时，耗时久。另一方面，HPLC 法不使用微生物，因此不需要进行保存、培养试验菌等操作，即可快速进行分析。

在本文中，我们将介绍使用指定荧光检测法分析拉沙洛西钠的示例。此外，将报告 01-00127-JP 指定使用柱后衍生化可视检测法分析 3 种组分的示例。

标准样品的分析

拉沙洛西钠的结构式如图 1 所示。由于拉沙洛西钠具有自发光，因此在通过色谱法将其与其他杂质物质分离后，可以使用荧光检测器轻松进行测定。此外，使用本系统，可以实现装置从启动到停止的自动化。

图 2 为进样 20 μL 的 0.1 μg (效价) / mL 拉沙洛西钠标准液后得到的色谱图，分析条件如表 1 所示。一次分析只需不到 10 分钟的时间，可快速进行分析。

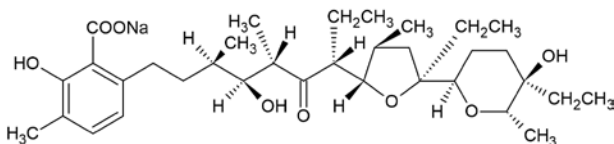


图 1 拉沙洛西钠的结构式

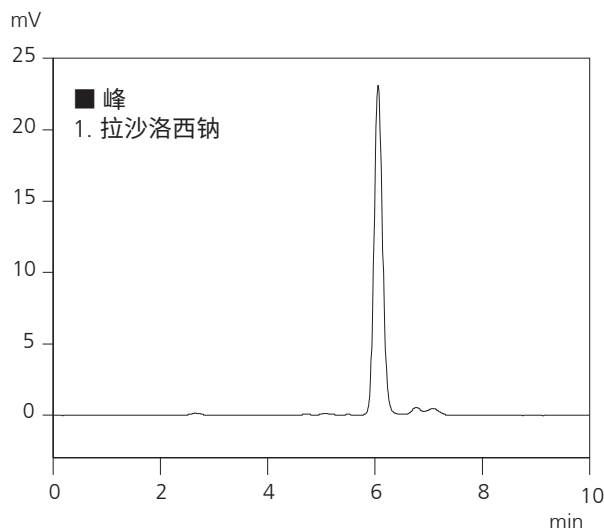


图 2 拉沙洛西钠的色谱图

表 1 分析条件

系统	: Nexera lite
色谱柱	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (250 mm × 4.6 mm 内径, 5 μm) ^{*1}
流动相	: 水 / 甲醇 / 乙酸 = 60 : 940 : 1 (v : v : v)
流速	: 1.0 mL/min
柱温	: 40°C
进样量	: 20 μL
样品瓶	: 岛津 LabTotal™ LC 1.5 mL 样品瓶, 玻璃 ^{*3}
检测	: RF-20Axs Ex: 310 nm, Em: 420 nm

* 1 P/N: 227-31020-06

* 2 在 1000 mL 水中溶解 2.72 g KH₂PO₄，随后通过添加 H₃PO₄ 溶液将 pH 调整至 2.9 至 3.1

* 3 P/N: 227-34001-01

线性

《饲料分析标准》规定，1~15 μg (效价) / mL 的拉沙洛西钠标准溶液进样 20 μL，根据色谱图创建标准曲线。图 3 所示为根据该标准创建的标准曲线。线性相关系数 (r^2) 大于 0.999，线性良好。

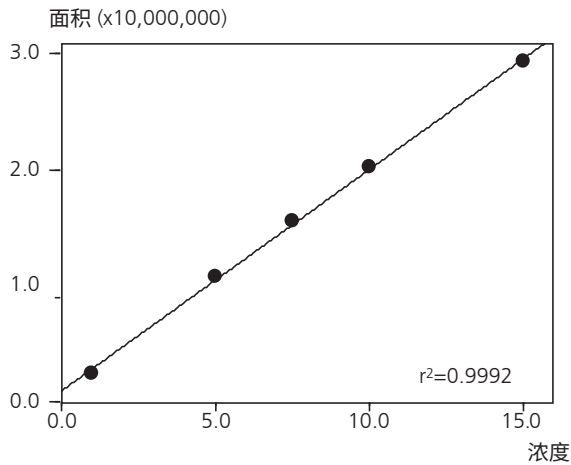


图 3 拉沙洛西钠标准溶液的标准曲线
(浓度: 1~15 μg (效价) / mL)

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 1 μg (效价) / mL。进样 20 μL 相当于规定最低浓度的十分之一，即 0.1 μg (效价) / mL 的溶液，连续分析 6 次。表 2 所示为保留时间、峰面积、各平均值和重现性 (%RSD)。即使在低浓度下也获得了良好的重现性，由此可知，可在很宽的浓度范围内进行稳定的分析。

表 2 0.1 μg (效价) / mL 标准溶液的保留时间和峰面积的重现性

No.	保留时间	峰面积
1 st	6.059	252485
2 nd	6.060	251855
3 rd	6.059	251517
4 th	6.060	252350
5 th	6.059	252333
6 th	6.059	250069
平均值	6.059	251768
RSD(%)	0.009	0.361

饲料分析

根据农林省制定的《饲料及饲料添加剂组分标准等相关省令》³⁾，规定在用于鸡饲料（包括肉仔鸡）时，作为饲料添加剂所含的拉沙洛西钠的量应为 75 g (效价) / t。因此，鸟类饲料规定的拉沙洛西钠检出浓度是否可以通过 HPLC 法进行分离和定量。

根据图 4 所示的“饲料分析标准”中所述的饲料萃取程序，在 10.0 g 鸟饲料中加入相当于规定浓度的拉沙洛西钠，并确认了分离度和加标回收率。此时，溶液中的拉沙洛西钠浓度为 7.5 μg (效价) / mL。图 5 所示为进样该溶液 20 μL 进行分析时的色谱图，表 3 所示为加标回收率。可在不受夹杂组分影响的情况下对拉沙洛西钠进行分离和定量。

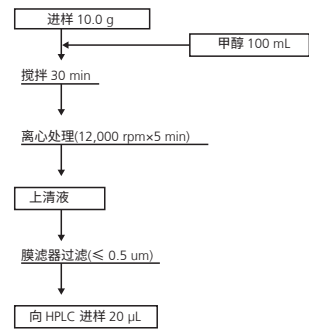


图 4 饲料的萃取程序

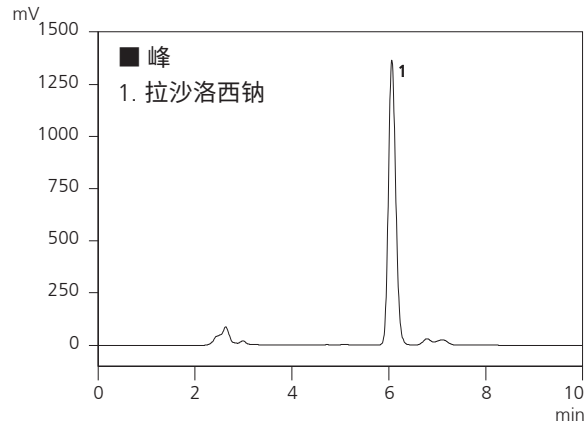


图 5 添加拉沙洛西钠的鸟类饲料萃取液的色谱图

表 3 拉沙洛西钠的加标回收率

饲料中的浓度	加标回收率
75 g (效价) / t	96.9%

结论

在本文中，我们介绍了使用配备有荧光检测器的 Nexeralite 分析饲料中的聚醚类抗生素拉沙洛西钠的示例。使用 HPLC 法，每次分析可在 10 分钟内快速完成分析，并在较宽的浓度范围内具有良好的重现性。此外，该装置从启动到停止均自动化，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。