

使用固相萃取结合液相色谱荧光检测器对猪组织中的氟甲喹和恶喹酸残留进行分析

作者

苏美丞, 贾曼, 陈刚
中国农业科学院农业质量和标准
检测技术研究所

吴翠玲, 肖尧, 张聪聪
安捷伦科技(中国)有限公司

李丹
中国兽医药品监察所

前言

噁喹酸和氟甲喹属于第二代喹诺酮类抗菌药, 氟甲喹也是目前唯一不与人类共用的一种广谱型抗菌兽药, 属于氟哌酸的替代产品。这类药物具有很强的杀菌活力, 对动物的细菌性疾病有很好的疗效。这类药物一般毒性较低, 安全范围大^[1]。但是随着噁喹酸和氟甲喹在兽医临床上的广泛应用, 由于其耐药性和潜在的致癌性, 欧盟、日本及我国均制定了其在动物组织中的最高残留限量。农业部第 235 号公告中规定的猪肉肌肉、肝脏和脂肪组织中氟甲喹的最大残留限量分别为 500 µg/kg、500 µg/kg 和 1000 µg/kg, 猪肌肉、肝脏和脂肪组织中噁喹酸的最大残留限量则分别为 100 µg/kg、50 µg/kg 和 50 µg/kg^[2]。

氟甲喹和恶喹酸的分析

本方法采用 Agilent Bond Elut C18 固相萃取柱结合液相色谱-荧光检测器, 成功开发出了不同猪组织中氟甲喹和噁喹酸的分析方法。该方法的样品前处理流程和色谱条件如图 1 和表 1 所示。



* 洗脱液: 0.02 mol/L 磷酸溶液:乙腈:四氢呋喃= 68:16:16

图 1. 样品前处理流程图

表 1. 液相色谱条件

色谱	Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统
检测器	荧光检测器 (FLR)
色谱柱	Agilent Zorbax Elipse PLus C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm
流动相	0.02 mol/L 磷酸溶液:乙腈:四氢呋喃 (68:16:16), 使用前经 0.2 μm 微孔滤膜过滤
流速	0.8 mL/min
检测波长	激发波长 325 nm, 发射波长: 369 nm
柱温	30 °C
进样量	20 μL

该方法在噁唑酸、氟甲喹 5–500 ng/mL 范围内表现出良好的线性, 如图 2 所示。

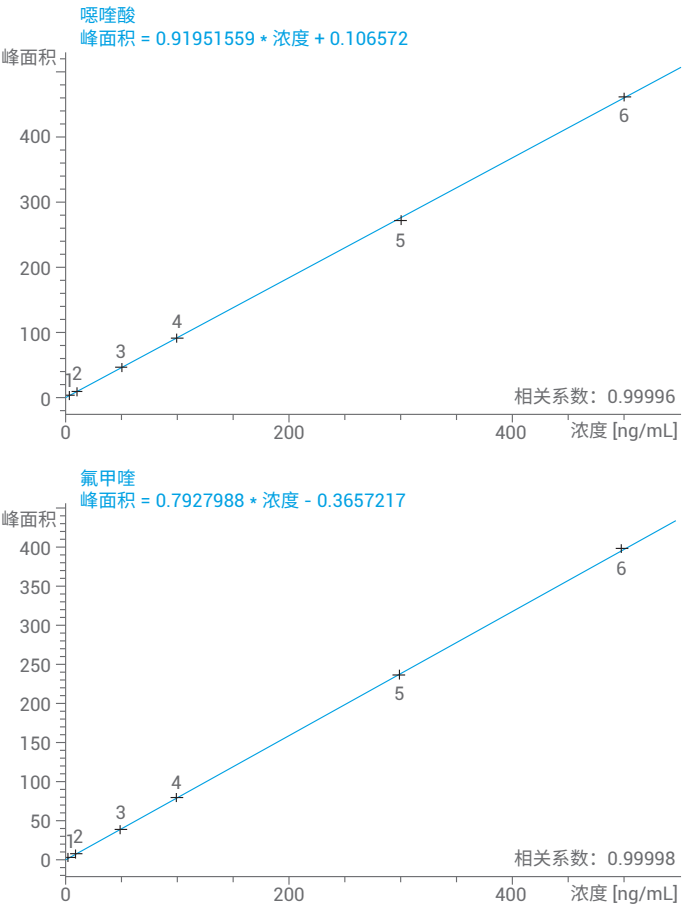


图 2. 噁唑酸、氟甲喹的标准曲线

从图 3 的色谱对比图中可以看出, Agilent Bond Elut C18 固相萃取柱可以对猪各种基质进行很彻底的净化, 氟甲喹和噁唑酸出峰位置无基质干扰, 可以进行准确的定性和定量分析。该方法的定量限为 20 μg/kg, 以三倍信噪比计算得到方法检测限为 5 μg/kg。

在 20、100 和 300 $\mu\text{g/kg}$ 的加标水平下，三种猪组织中的氟甲喹和噁唑酸的平均回收率范围分别为 71.8%–99.5% 和 75.8%–99.9%，且相对标准偏差小于 15%，如表 2–4 所示。

综上所述，该方法具有良好的精密度和稳定性，适用于检测不同猪肉组织中的氟甲喹和噁唑酸残留量。

表 2. 猪肉中氟甲喹、噁唑酸加标回收实验结果

检测 药物	加标 浓度 ($\mu\text{g/kg}$)	测定 批次	回收率 (%)			批内 RSD	批间 RSD	平均 回收率 (%)
氟甲喹	20	I	76.3	79.3	81.3	3.2	6.3	78.9
		II	78.7	79.6	78.0	1.0		78.8
		III	87.0	91.6	84.6	4.0		87.7
	100	I	94.4	89.3	85.2	5.2	5.1	89.6
		II	92.1	93.7	87.9	3.3		91.2
		III	95.9	99.7	99.9	2.3		98.5
	300	I	98.9	98.1	96.7	1.1	1.8	97.9
		II	95.6	98.5	98.1	1.6		97.4
		III	90.2	99.7	93.9	5.1		94.6
噁唑酸	20	I	79.1	80.8	84.3	3.3	7.9	81.4
		II	85.2	77.8	80.3	4.7		81.1
		III	89.4	93.7	95.7	3.5		93.0
	100	I	86.6	86.8	87.6	0.6	8.5	87.0
		II	87.2	85.3	85.9	1.2		86.1
		III	99.8	100.1	99.9	0.2		99.9
	300	I	100.0	99.6	92.0	4.6	1.1	97.2
		II	99.9	97.8	98.8	1.1		98.9
		III	99.5	99.6	98.3	0.7		99.1

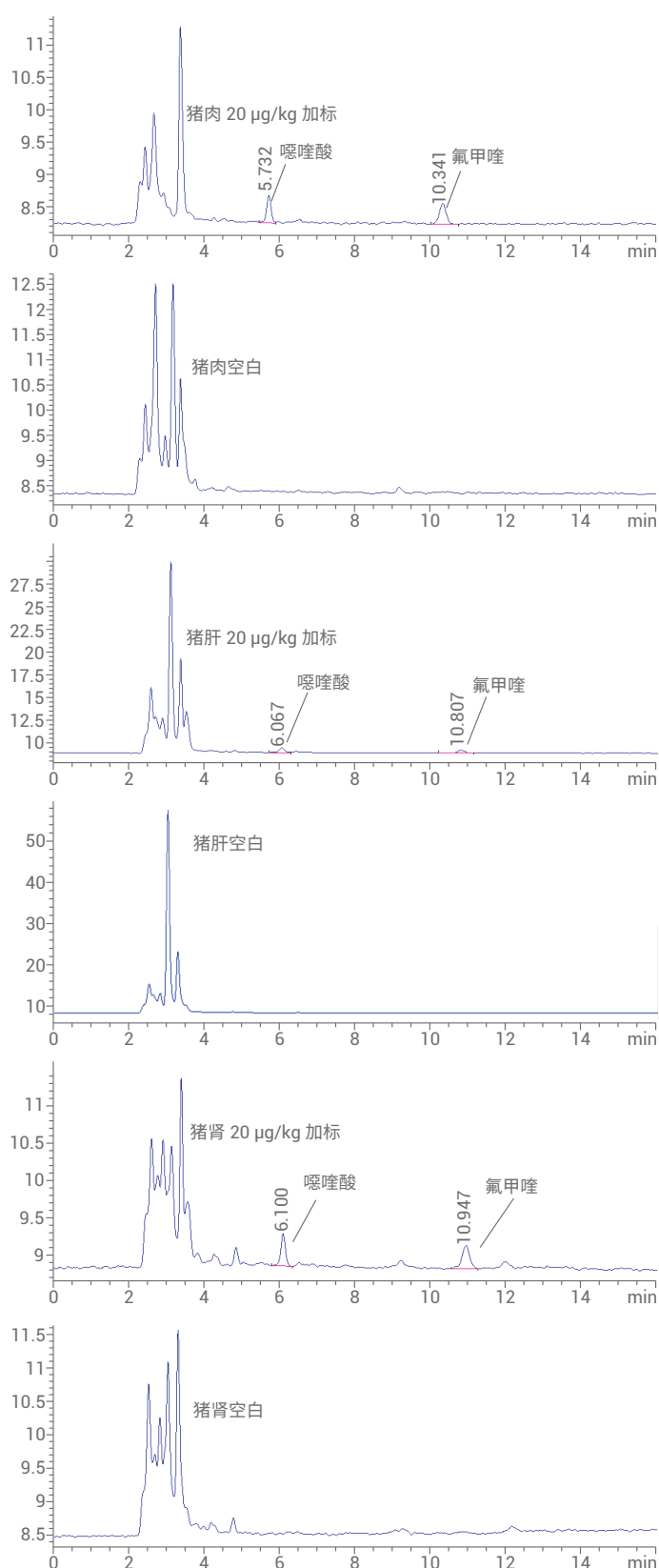


图 3. 不同基质中 20 $\mu\text{g/kg}$ 加标水平样品和空白样品的色谱图

表 3. 猪肝中氟甲唑、噁唑酸加标回收实验结果

检测 药物	加标 浓度 (µg/kg)	测定 批次	回收率 (%)			批内 RSD	批间 RSD	平均 回收率 (%)
氟甲唑	20	I	91.5	98.6	93.7	3.9	2.7	94.6
		II	100.0	99.9	98.8	0.7		99.6
		III	97.9	99.8	97.3	1.4		98.4
	100	I	78.0	83.7	71.2	8.8	9.2	77.6
		II	72.5	72.7	70.4	1.8		71.8
		III	85.3	83.1	90.2	4.0		86.2
	300	I	91.1	83.9	92.3	4.9	11.2	89.1
		II	92.2	98.6	97.9	3.6		96.2
		III	79.9	74.3	76.5	3.7		76.9
噁唑酸	20	I	79.5	80.7	77.1	2.4	9.1	79.1
		II	79.6	84.2	78.0	3.2		81.3
		III	98.4	95.6	86.2	7.4		93.4
	100	I	75.6	81.4	73.4	5.6	12.3	76.8
		II	76.3	75.9	75.4	0.6		75.9
		III	95.6	87.7	98.4	5.6		93.9
	300	I	83.0	86.6	81.9	3.0	9.7	83.8
		II	80.3	82.1	76.6	3.7		79.7
		III	96.1	92.8	98.5	2.9		95.8

表 4. 猪脂肪中氟甲唑、噁唑酸加标回收实验结果

检测 药物	加标 浓度 (µg/kg)	测定 批次	回收率 (%)			批内 RSD	批间 RSD	平均 回收率 (%)
氟甲唑	20	I	80.4	80.3	83.8	2.4	6.6	81.5
		II	92.1	99.8	86.1	7.4		92.7
		III	82.8	86.1	85.8	2.1		84.9
	100	I	78.7	79.6	84.0	3.5	1.5	80.8
		II	80.2	77.9	81.2	2.1		79.8
		III	81.6	81.1	83.9	1.8		82.2
	300	I	81.4	80.0	77.5	2.5	2.3	79.6
		II	80.7	79.0	76.2	2.8		78.6
		III	82.7	83.0	80.9	1.4		82.2
噁唑酸	20	I	77.6	82.6	72.5	6.5	4.4	77.6
		II	90.3	75.4	76.8	10.2		80.8
		III	86.5	80.9	86.6	3.9		84.6
	100	I	78.4	83.5	81.2	3.1	2.5	81.1
		II	79.6	81.2	81.1	1.1		80.6
		III	87.1	80.8	85.1	3.8		84.4
	300	I	78.6	80.6	80.9	1.6	1.8	80.0
		II	80.0	84.9	82.0	3.0		82.3
		III	82.9	81.5	83.4	1.2		82.6

参考文献

1. 李倩, 张玉洁等. 高效液相色谱法检测多种动物组织中噁唑酸和氟甲唑残留量的研究, 中国兽医杂志 2015, 49(8): 35-38
2. 中华人民共和国农业部公告第 235 号 动物性食品中兽药最高残留限量

消耗品订购信息

消耗品	部件号
Agilent Bond Elut C18, 100 mg, 3 mL, 50/包	12102099
Agilent Bond Elut C18, 100 mg, 3 mL, 500/包	52102024
Agilent Zorbax Eclipse PLUS C18, 4.6 × 250 mm, 5.0 µm	959990-902
Agilent VacElut 20 固相萃取装置	12234104
Agilent Captive 尼龙膜, 0.2 µm, 13 mm	51914286

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn



微信搜一搜

Q 安捷伦视界

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2019
2019年9月5日，中国出版
5994-1389ZHCN