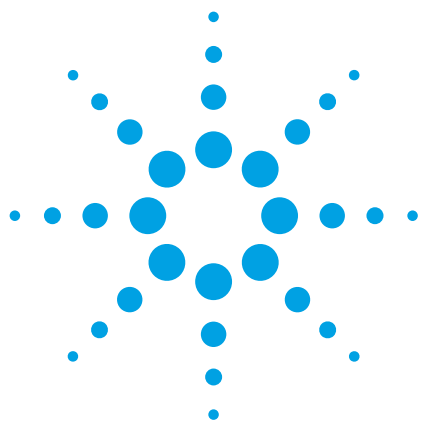




使用固相萃取-高效液相色谱法 测定动物性食品中甲氧苄啶 残留量

应用简讯

食品检测与农业

作者

孙锦兰

安捷伦科技（中国）有限公司

前言

甲氧苄啶 (Trimethoprim) 是一种广谱抗菌药，抗菌谱与磺胺类药物类似，可作为兽药用作抗菌剂，也可用于球虫病的治疗。在水产养殖中甲氧苄啶往往与磺胺类药物合用，作为磺胺类药物的增效剂。本方法参照食品安全国家标准 GB 29702-2013，建立了一种水产品中甲氧苄啶残留分析的高效液相色谱法。该方法适用于鱼、虾、蟹可食组织中甲氧苄啶残留量的检测。

甲氧苄啶的分析

对试料进行样品前处理。称取试料（大黄鱼、草虾和大闸蟹的肌肉） 5 ± 0.05 g，于 50 mL 具塞离心管中，依次加入三氯甲烷 15 mL、甲醇 14 mL、0.1 mol/L 硫酸溶液 6 mL，旋涡混合 2 min，5000 rpm 离心 5 min，取上清液于 250 mL 分液漏斗中。残渣中加入甲醇 14 mL 和 0.1 mol/L 硫酸溶液 6 mL，重复提取一次，合并两次上清液于分液漏斗中。加 2 mol/L 氢氧化钾溶液 2 mL、二氯甲烷 30 mL，振摇 2 min，静置分层，取下层液于 100 mL 鸡心瓶中。分液漏斗中加二氯甲烷 30 mL，重复提取一次，合并两次下层液，于 40 °C 下旋转蒸发至近干，用 5% 乙酸溶液 6 mL 溶解残余物，作为备用液。



Agilent Technologies

所得备用液经 Agilent Bond Elut Plexa PCX 固相萃取柱净化，复溶后用滤膜过滤，之后使用配备了 Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱的高效液相色谱系统对其中的甲氧苄啶残留量进行分析，同时利用 Agilent Poroshell 120 SB-C18 色谱柱进行快速分离的对比，如图 1 所示为固相萃取操作流程，如表 1 所示为液相色谱分析条件。

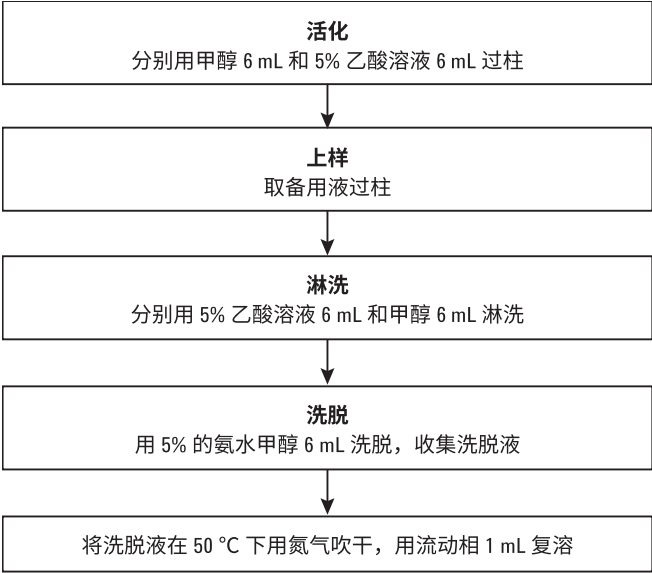


图 1. 固相萃取操作流程

表 1. 液相色谱条件

色谱柱 1	ZORBAX SB-C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm
流速	1 mL/min
进样量	20 μL
检测器	紫外检测器
检测波长	230 nm
流动相	甲醇: 0.5% 高氯酸溶液 = 27:73 (v/v)
色谱柱 2	Poroshell 120 SB-C18, 4.6 × 100 mm, 2.7 μm
流速	1 mL/min
进样量	8 μL
检测器	紫外检测器
检测波长	230 nm
流动相	甲醇: 0.5% 高氯酸溶液 = 27:73 (v/v)

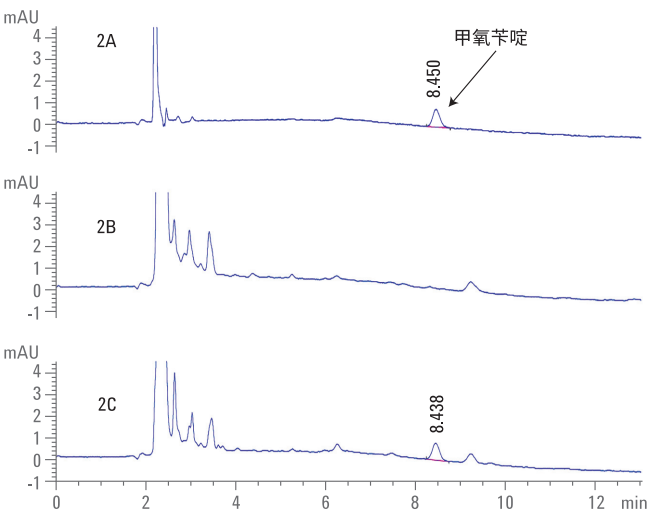


图 2. 采用 ZORBAX SB-C18 色谱柱以常规速度分析 0.1 μg/mL 甲氧苄啶标准溶液 (2A)、大黄鱼肌肉空白试样 (2B)、大黄鱼肌肉空白添加 20 μg/kg 甲氧苄啶试样 (2C) 所得色谱图

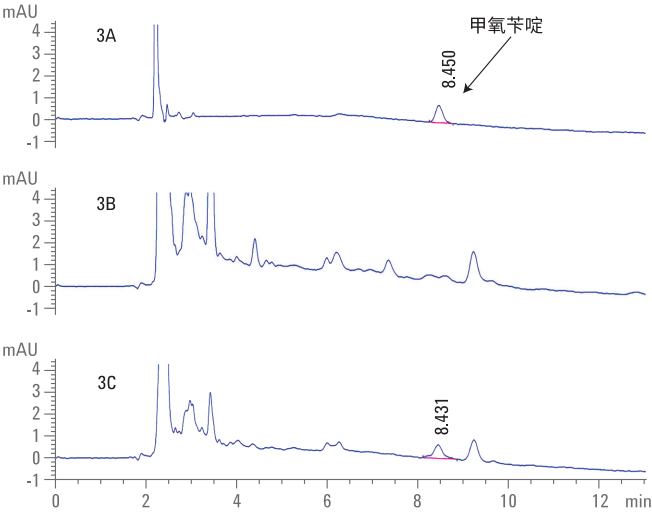


图 3. 采用 ZORBAX SB-C18 色谱柱以常规速度分析 0.1 μg/mL 甲氧苄啶标准溶液 (3A)、草虾肌肉空白试样 (3B)、草虾肌肉空白添加 20 μg/kg 甲氧苄啶试样 (3C) 所得色谱图

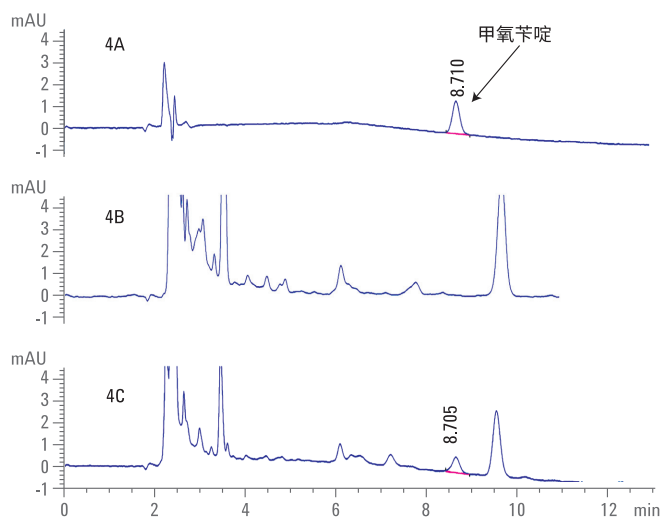


图 4. 采用 ZORBAX SB-C18 色谱柱以常规速度分析 0.2 µg/mL 甲氧苄啶标准溶液 (4A)、大闸蟹肌肉空白试样 (4B)、大闸蟹肌肉空白添加 20 µg/kg 甲氧苄啶试样 (4C) 所得色谱图

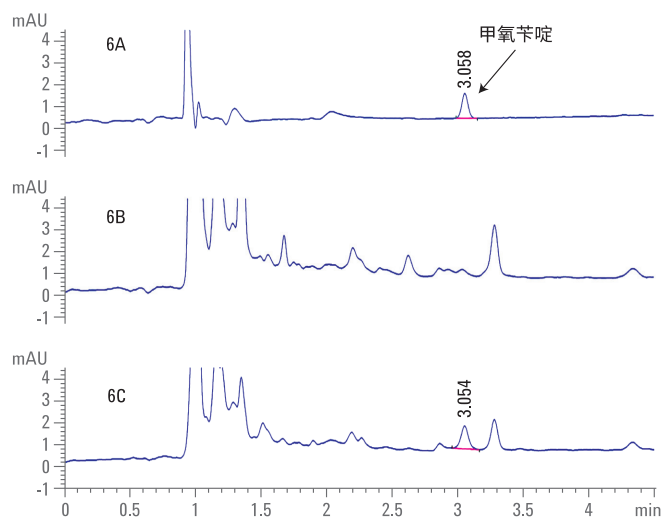


图 6. 采用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱快速分析 0.1 µg/mL 甲氧苄啶标准溶液 (6A)、草虾肌肉空白试样 (6B)、草虾肌肉空白添加 20 µg/kg 甲氧苄啶试样 (6C) 所得色谱图

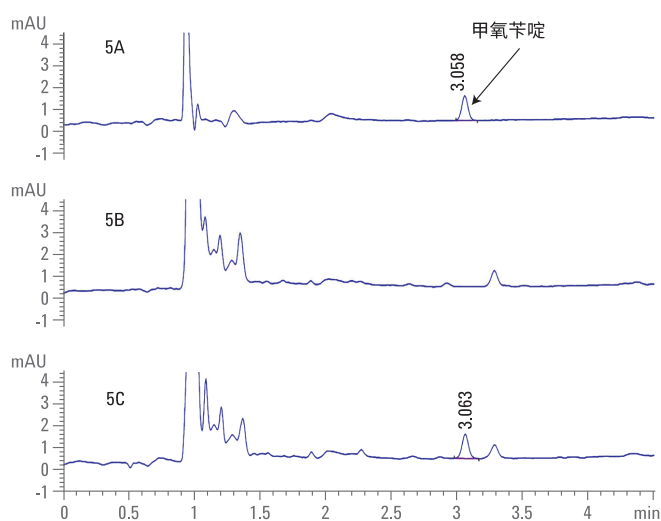


图 5. 采用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱快速分析 0.1 µg/mL 甲氧苄啶标准溶液 (5A)、大黄鱼肌肉空白试样 (5B)、大黄鱼肌肉空白添加 20 µg/kg 甲氧苄啶试样 (5C) 所得色谱图

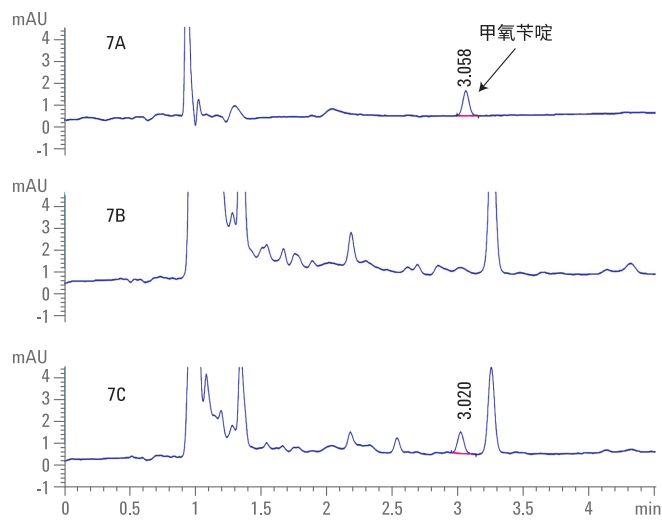


图 7. 采用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱快速分析 0.1 µg/mL 甲氧苄啶标准溶液 (7A)、大闸蟹肌肉空白试样 (7B)、大闸蟹肌肉空白添加 20 µg/kg 甲氧苄啶试样 (7C) 所得色谱图

本文分别采用 ZORBAX SB-C18 色谱柱和 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱对不同基质中的甲氧苄啶进行有效分析。如图 2-7 所示，在甲氧苄啶分析中，Poroshell 120 SB-C18 色谱柱在满足分离要求的前提下，具有分离速度更快、灵敏度更高等优势，因此本文选用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱进行后续实验。

通过计算得到采用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱分析水产品中甲氧苄啶的固相萃取-高效液相色谱法的定量限为 20 µg/kg；在 0.05 µg/mL-1 µg/mL 浓度范围内，甲氧苄啶具有良好的线性相关性，相关系数 R² 为 0.9999，如图 8 所示；在 20-100 µg/kg 的添加水平下，不同基质空白样品加标回收率为 87.4%-95.8%，RSD(%) ≤ 5.02 (n = 6)，如表 2 所示。通过上述实验结果表明该方法的准确度和精密度完全满足食品安全国家标准 GB 29702-2013 的分析要求。

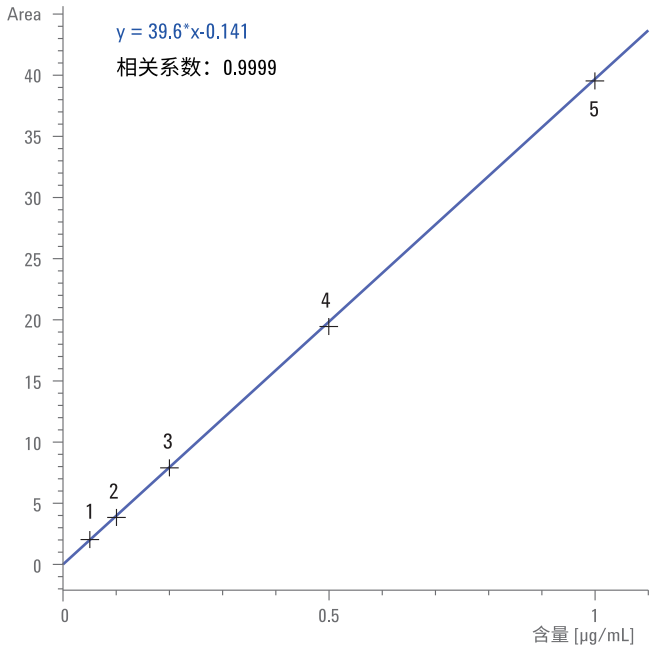


图 8. 甲氧苄啶的校正曲线（采用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱）

表 2. 空白样品加标回收率（采用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱）

基质种类	添加水平 (µg/kg)	回收率 (%)	%RSD (n = 6)
大黄鱼	20	89.2	2.34
	50	91.3	4.18
	100	93.4	3.25
草虾	20	90.5	5.02
	50	87.4	2.28
	100	93.3	4.39
大闸蟹	20	92.4	3.45
	50	95.8	4.86
	100	94.2	3.60

消耗品订购信息

Agilent Bond Elut Plexa PCX 固相萃取柱：
60 mg，3 mL，部件号 12108603

Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱：
4.6 × 250 mm，5 µm，部件号 880975-902

Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱：
4.6 × 100 mm, 2.7 µm，部件号 695975-902

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

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，2016

2016 年 11 月 14 日，中国印刷

5991-7647CHCN



Agilent Technologies