

# Application News

## No. L509

高效液相色谱  
High Performance Liquid Chromatography

### 使用合成抗菌剂筛选系统分析食用肉中残留的合成抗菌剂 (1)

Analysis of Residual Antimicrobials in Meat with Antimicrobial Screening System (Part 1)

日本于 2006 年 5 月开始实施肯定列表制度。该制度对食品中的农药残留、饲料添加剂以及兽药残留做出了规定，原则上禁止销售有害物质超过最大残留限量标准的食品。<sup>1)</sup>

其中，合成抗菌剂属于兽药和饲料添加剂的一种，用于防治牲畜和水产品疾病。其中，喹诺酮类和磺胺类药物是具有代表性的合成抗菌剂。

使用操作简单快捷的合成抗菌剂筛选系统，可对合成抗菌剂中的 24 种成分进行筛选分析。本文向您介绍对合成抗菌剂中常用的喹诺酮类药物（老喹诺酮类和新喹诺酮类）中的 12 种成分进行筛选分析的示例。关于 12 种磺胺类药物（含叶酸拮抗剂等）为目标成分的筛选分析示例，请参考应用报告 No.L510。

#### ■ 合成抗菌剂筛选系统

Antimicrobial Screening System

使用合成抗菌剂筛选系统可对各国合成抗菌剂中的目标成分是否超过最大残留限量标准（MRL: Maximum Residue Limit）进行判定。表 1 为喹诺酮类药物目标成分的 MRL。

该系统采用一体型 HPLC i-Series 以及高灵敏度荧光检测器 RF-20AXS，将预处理方法、分析色谱柱、分析方法文件、UV 光谱库同步，安装后即可立即使用。此外，通过同时分析，可对多种成分同时进行筛选。分析结束后，可立即根据筛选判定结果确认是否超过 MRL。另外，i-Series 内置的光电二极管阵列（PDA）检测器，根据保留时间以及通过 UV 光谱进行化合物识别，实现了检测成分的高精度筛选。

表 1 筛选目标成分的 MRL 和样品溶液浓度  
Maximum Residue Limits and Sample Solution Concentration of Screening Target Compounds

成分名称	MRL (mg/kg)	样品溶液浓度 (mg/L)
1 Marbofloxacin	0.01	0.025
2 Ofloxacin	0.01	0.025
3 Ciprofloxacin	0.01	0.025
4 Danofloxacin	0.01	0.025
5 Enrofloxacin	0.01	0.025
6 Orbifloxacin	0.01	0.025
7 Sarafloxacin	0.01	0.025
8 Difloxacin	0.01	0.025
9 Oxolinic acid	0.01	0.025
10 Nalidixic acid	0.01	0.025
11 Flumequine	0.01	0.025
12 Piromidic Acid	0.01	0.025

#### ■ 预处理步骤

Sample Pretreatment

预处理方法参考了利用 HPLC 进行兽药的同步试验法（牲畜和水产品）<sup>2), 3)</sup>。利用乙腈提取，乙腈/己烷分层后，进行脱脂。将样品蒸发浓缩至近干，然后重新溶解制备样品溶液。图 1 为预处理步骤；图 2 为预处理后的样品溶液浓度。关于预处理法的详情，请参考使用说明书。

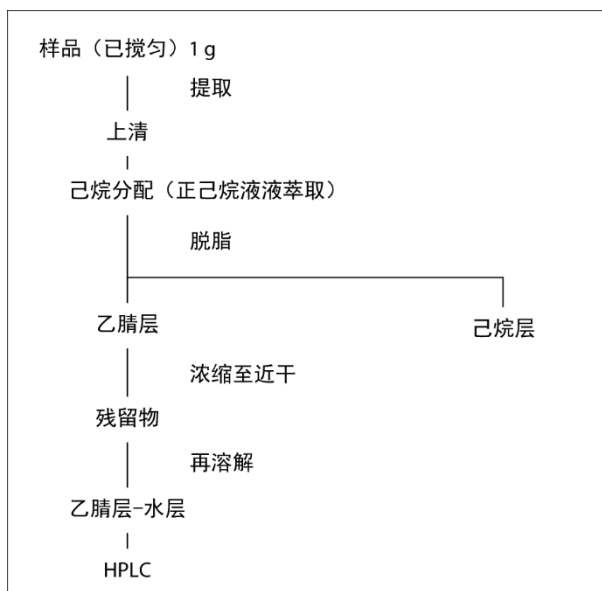


图 1 预处理步骤  
Sample Pretreatment Protocol

表 2 分析条件  
Analytical Conditions

仪器	: LC-2040C 3D, RF-20Axs
色谱柱	: Shim-pack FC-ODS (150 mm L. × 4.6 mm I.D., 3 μm)
流动相	: A) 20 mM 磷酸盐 (钠盐) 缓冲液 含 0.1 M 高氯酸钠 B) 乙腈/甲醇 = 90/10
时间程序	: 梯度洗脱
流速	: 1.0 mL/min
柱温	: 40 °C
进样体积	: 5 μL
检测器	: <LC-2040C 3D> 280 nm <RF-20Axs> Ex at 290 nm, Em at 495 nm Ex at 325 nm, Em at 365 nm
流通池温度	: 40 °C (PDA), 30 °C (RF)

## ■ 食用肉中喹诺酮类药物的分析

Analysis of Quinolones in Meat

将鸡肉和猪肉作为食用肉样品。图 2 为预处理后的基质溶液（蓝线）、向基质溶液中添加了标准溶液的基质标准溶液（红线）以及标准溶液（黑线）的色谱图。为了使喹诺酮类药物分别达到 0.01 mg/kg, 向基质标准溶液中添加了标准溶液。图 2 为分析条件。使用荧光检测器的双波长模式进行分析。新喹诺酮类药物（表 1 的 1~8）在激发波长 290 nm、荧光波长 495 nm 下进行检测，而老喹诺酮类药物（表 1 的 9~11）则在激发波长 325 nm、荧光波长 365 nm 下进行检测。吡咯米酸（表 1 的 12）与其他喹诺酮类药物不同，因其不具有荧光特性，所以使用 PDA 检测器进行检测。在该分析条件下，用了大约 22 分钟对 12 种成分全部进行了分离和洗脱。

## ■ 利用紫外光谱库进行相似度计算

Similarity Calculation Using UV Spectral Library

除了使用 PDA 检测器用来检测吡咯米酸外，也可使用 UV 检测器进行定性分析。并且，还可与谱库中的光谱图进行相似度检索。图 3 为向猪肉基质中添加了限定浓度的标准溶液后得到的吡咯米酸光谱图。由图可知，与谱库中光谱图的相似度为 0.998。

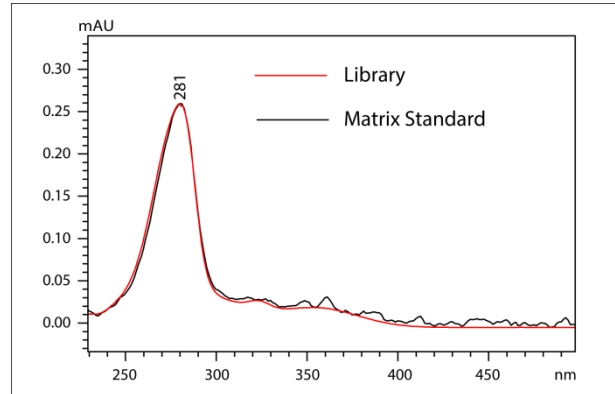


图 3 吡咯米酸的光谱图  
Spectra of Piromidic Acid

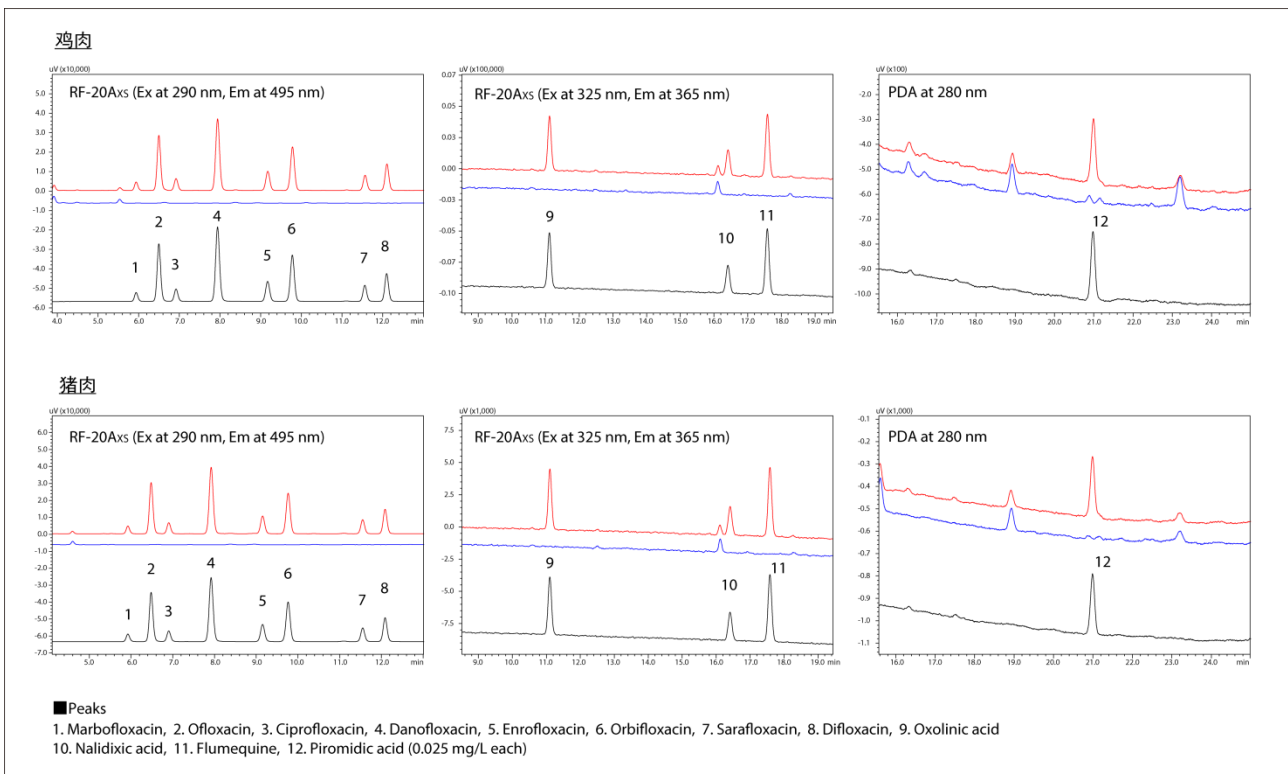


图 2 鸡肉和猪肉基质标准溶液（红线）、基质溶液（蓝线）、标准溶液（黑线）的色谱图  
Chromatograms of Chicken and Pork: Matrix Standard Solution (Red Line), Matrix Solution (Blue Line), Neat Standard Solution (Black Line)

### [参考文献]

- 1) 食品中残留农药等相关新制度（肯定列表制度），厚生劳动省
- 2) 利用 HPLC 进行动物用医药品等的同步试验法 I（牲畜水产品）、食安发第 0124001 号厚生劳动省医药食品局食品安全部长通知（2005 年 1 月 24 日）
- 3) 厚生劳动省监制《食品卫生检查方针（兽药和饲料添加剂篇）》p.26~43,（社）日本食品卫生协会（2003）