

固相萃取-高效液相色谱法测定鱼组织中的吡喹酮和克螨特残留

吴晓苹^{1,2}, 王玲^{1,3}, 施点望¹, 陈天文¹, 谢增鸿¹, 阎超²

(1. 福州大学化学系, 福建 福州 350002; 2. 上海通微分析技术有限公司, 上海 201203;
3. 宁夏大学化学化工学院, 宁夏 银川 750021)

关键词: 固相萃取(solid-phase extraction); 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography); 吡喹酮(praziquantel); 克螨特(propargite); 鱼组织(fish tissues)

中图分类号: O658 文献标识码: B 文章编号: 1000-8713(2005)04-0434-01

吡喹酮和克螨特是新型抗寄生虫药, 在水产养殖中被作为渔药复配剂。二者均为受热易分解物质, 其残留分析可采用色谱法^[1-3]、光谱法^[4]以及生物检测法^[5], 但对二者的同时分离检测未见报道。本研究采用固相萃取-高效液相色谱 SPE-HPLC 同时测定了鱼组织中二者的残留。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

SY-5000 型液相色谱仪(北京分析仪器厂), Varian UV-100 紫外检测器, 固相萃取柱(大连依利特公司); 吡喹酮、克螨特对照品由福建省淡水研究所提供, 含量均大于 99% ; 甲醇(色谱纯, 上海化学试剂研究所); 其他试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

色谱条件: 色谱柱为 Micro-Pak C₁₈(150 mm × 4.6 mm i. d. , 10 μm); 流动相为甲醇-水(体积比为 90:10); 流速 1.1 mL/min ; 柱温为室温; 检测波长 222 nm ; 进样量 20 μL。在上述条件下两物质于 3 min 内完全分离(见图 1-a)。

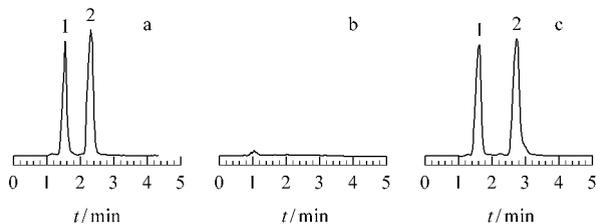


图 1 混合标准品(a)、鱼肌肉空白样品(b)和鱼肌肉加标样品(c)的色谱图
1. 吡喹酮(0.6 g/L); 2. 克螨特(0.6 g/L)。

样品预处理: 将新鲜带皮鲫鱼肌肉组织清洗干净, 匀浆。称取 3.0 g 于 25 mL 离心管中, 加入 1.2 g 无水硫酸钠、9.0 mL 乙酸乙酯, 匀质提取 2 min, 以 2 500 r/min 转速离心分离 10 min。取上层乙酸乙酯溶液。残渣继续同法提取 2 次。合并乙酸乙酯提取液, 用氮气吹干。然后加入 1.0 mL 正己烷清洗, 用氮气吹干, 重复两次, 用 1.0 mL 甲醇溶解残余物。将甲醇提取液通过预先用甲醇处理过的正相 SiO₂ 固相萃取柱后, 收集流出液, 过 0.45 μm 滤膜供高效液相色谱分析。

2 结果与讨论

2.1 方法的线性范围及检测限

配制质量浓度为 0.02 ~ 1.50 g/L 的吡喹酮和克螨特系

列混合标准液进行色谱分析。吡喹酮和克螨特的线性范围分别是 0.02 ~ 1.50 g/L 及 0.04 ~ 1.40 g/L, 相关系数分别为 0.997 7 及 0.999 4 ; 方法的最低检出质量浓度(S/N = 2) 分别为 1.1 mg/L 及 1.2 mg/L。

2.2 样品前处理

2.2.1 提取条件的选择 比较了常用的提取溶剂乙酸乙酯、二氯甲烷、乙腈等的提取效果。结果表明以乙酸乙酯作为提取溶剂时浸出杂质少且易排除基质干扰, 回收率高。不过, 采用中等极性溶剂乙酸乙酯提取样品时可能会提取出类脂物, 本文选用正己烷脱脂剂结合 SPE 法去除类脂物, 总体提取效果好。

2.2.2 固相萃取体系的选择 以甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯等溶剂以及流动相溶解待测物提取物, 然后过 SPE 柱。实验表明当使用 100% 甲醇溶解残余物过柱时, 去除杂质的效果最好, 待测物在填料上的保留也较小, 测得的回收率高且重现性佳, 从而达到简便快速纯化样品的目的。

2.3 方法回收率与精密度实验

分别称取鲫鱼肌肉样品 5.0 g, 添加不同量的吡喹酮和克螨特标准混合液进行 SPE-HPLC 分析(每个浓度水平下平行测定 5 份样品) 色谱图见图 1, 计算平均回收率和相对标准偏差(RSD), 结果见表 1。

表 1 样品的加标回收率和精密度

化合物	加入量/mg	检测量/mg	回收率/%	RSD/%
吡喹酮	0.20	0.15 ± 0.01	74.00 ± 3.34	2.87
	0.60	0.47 ± 0.02	79.11 ± 3.40	2.42
	1.06	0.89 ± 0.02	84.13 ± 2.05	1.54
	1.34	1.16 ± 0.02	86.63 ± 1.52	1.15
克螨特	0.21	0.17 ± 0.02	81.55 ± 5.34	3.39
	0.59	0.51 ± 0.02	85.86 ± 3.20	2.87
	1.07	0.98 ± 0.03	91.71 ± 2.96	1.83
	1.34	1.26 ± 0.02	94.64 ± 1.75	1.37

参考文献:

[1] Riditid W, Wongnawa M, Mahatthanatrakul W, Punyo J, Sunbhanich M. J Pharm Biomed Anal, 2002, 28(1): 181
[2] Blasco C, Picó Y, Font G. J AOAC Int, 2002, 85(3): 704
[3] 姜欣, 侯春青. 农药, 2000, 39(9): 21
[4] 孙志良, 刘湘新, 肖洪波. 中国兽药杂志, 2000, 35(1): 12
[5] Xiao S H, Catto B A, Webster L T Jr. J Chromatogr B, 1983, 275 : 127

收稿日期 2004-08-02

作者简介: 吴晓苹, 女, 博士, Tel (0591)7892415, E-mail: wapple@fzu.edu.cn.

通讯联系人: 谢增鸿, 教授, Tel (0591)7893229, E-mail: zhxie@fzu.edu.cn.

基金项目: 国家“十五”食品安全重大专项资助课题(2001BA804A26), 福建省重大科技项目(2002Y051, 2003Y005)。