

采用柱后反应法分析饲料中聚醚类抗生素

独立行政法人，肥饲料检查所福风事务所
饲料科主任检查官 早川俊明



有关饲料中的营养性和安全性的成分按照饲料分析基准进行分析检查。对饲料分析基准在独立行政法人肥饲料检查所逐次进行开发新的分析法和改进已有的分析法。

饲料中添加的抗生素，为促进有效地利用饲料中所含的营养成分的目的，按照农林水利省令指定为饲料添加剂。

现在，饲料分析基准的抗生素的定量法基本上采用微生物学的定量法，但是，由于微生物学的定量法使用试验菌，须在 35 ~ 37 下培养 14 ~ 16 小时，需用 2 天时间才能判明结果。

近年来，从提高抗生素分析的快速性和简便性的观点出发，有不少采用高速液相色谱仪分析的报告。属于聚醚类抗生素的盐霉素 4-甲基盐霉素和莫能菌素最多采用高效液相色谱法，分析采用与香兰素进行显色反应的检测方法，而莫能菌素采用柱后反应衍生（可见检测器），定量法作为 AOAC 法。

对于饲料中的盐霉素钠和莫能菌素钠分析，在肥饲料检查所进行了以 AOAC 法为基础的应用于饲料基准的研究，结果取得了良好的成绩，特此，介绍该定量法如下（表 1 为分析操作顺序，表 2 为 HPLC 测定条件，图 1 为色谱图）。

本方法是以 Komarowsky 反应芳香族醛和高级醇的显色反应为基础，香兰素反应原理如图 2 所示。

表 1 分析操作顺序

分析试样 10g 200mL 带塞三角烧瓶
甲醇-水 (9+1) 100mL
提取 搅拌器搅拌 20 分钟
过滤 (5 种 A)
HPLC (0.45 μ m 膜过滤器过滤)

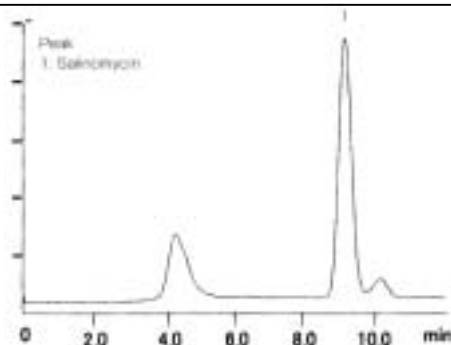


图 1 饲料中的盐霉素分析例

关于盐霉素的香兰素显色，与反应有关的羟基必需产生正碳离子。如图 3 所示，在盐霉素上除 20 位外，9 位和 28 位存在 2 级和 3 级醇羟基，但是由于 9 位的羟基是 羟基酮结构，形成分子内氢键，因此，不接受在强酸存在下的脱水。另外，聚醚为环状的配位，在它的中心收入金属离子，由此可知醚氧或羟基、酮基与金属离子配位。因此，28 位的羟基是 1 位的羰基与分子内氢键结成，不能形成与 9 位羟基同样的正碳离子状态，盐霉素中 20 位的羟基可与香兰素显色。

今后仍将继续研究在饲料添加剂中指定的抗生素方面比高效液相色谱法更适用的方法，这是饲料分析基准化的预定计划。

最后向帮助提供资料的科研制药株式会社表示感谢。

参考文献 早川俊明、舟津正人：饲料研究报告 V01、26 P51-59 (2001)
早川俊明、牧野大作：饲料研究报告 Vol. 26 P60-68(2001)

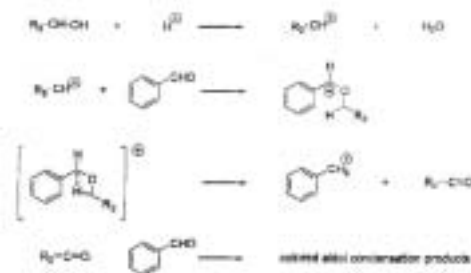


图2 香兰素显色原理
(科研制药株式会社提供)

表2 HPLC 测定条件

分析装置	岛津 LC-10A 系统
柱	ODS 柱 (4.6mm i.d.×150mm, 5 μm)
洗脱液	甲醇-水-醋酸 (94+6+0.1)
检测器	紫外可见光光度检测器 (520nm)
反应液	甲醇-硫酸-香兰素 (95+2+3.V/V/W)
流速	洗脱液 0.6mL/min, 反应液 0.6mL/min
反应箱温度	95
反应管	0.5mmi.d.×5,000mm

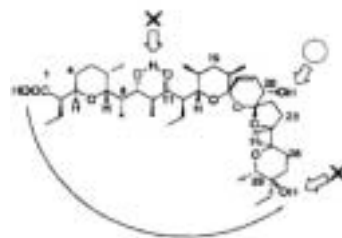


图3 盐霉素显色有关的羟基
(科研制药株式会社提供)