

# 高效液相色谱测定鱼体组织中鱼静安的浓度

崔治建<sup>1</sup> 易有荣<sup>1</sup> 汪艳<sup>1</sup> 付亚平<sup>1</sup> 任洁<sup>2</sup>

(1 武汉大学医学院实验测试中心 武汉 430071 2 湖北省水产科学研究所 武汉 430071)

**摘要** 利用高效液相色谱(HPLC)建立了测定鱼体的鱼血,鱼脑,鱼肉和鱼肝中的鱼静安(MS-222)的浓度方法,样品用重蒸水匀浆,离心15min(12000r/min),将上清液用0.45 $\mu$ m过滤膜过滤,用YWGC18分析柱,流动相为0.2mol/min磷酸缓冲液(pH 3.1) 甲醇=85 15,紫外测试波长223nm,平均回收率鱼血87.78%,鱼脑95.30%,鱼肉92.30%,鱼肝77.00%。

**关键词** 高效液相色谱 MS-222 鱼血 鱼脑 鱼肉 鱼肝

鱼静安(MS-222)分子式为 $C_{10}H_{15}NO_5S$ ,分子量261,是美国FDA(Food and Drug Administration)批准惟一能用于食用鱼的麻醉剂。鱼静安是活鱼长途运输中保活率行之有效的鱼用麻醉剂,此药品具有使用浓度低,入静快,作用时间长,复苏快,无残留,无毒副作用等优点<sup>[1]</sup>。测定鱼体不同部位的鱼静安浓度实用意义不同,为了便于运输,首先应使鱼大脑神经麻醉,然而生活中大量食用的是鱼体的体部,所以测定鱼肉,血,肝脏部位残存量的浓度,是进一步提高食用鱼的安全性和可靠性<sup>[2~3]</sup>。有关文献报道用比色法和气相色谱法作为鱼静安的分析方法<sup>[4]</sup>,但在应用中发现,用比色法分析时背景颜色对分析的准确度影响明显,用气相色谱方法分析时,样品的前处理较繁琐,待测组分的收集不够完全。本文应用HPLC测定鱼静安在鱼体组织中的含量,该法操作简单,快速,分离效果及重现性和回收率均好,为水产科研提供准确可靠的数据,并为使用此药品的方法起着一定性的指导意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试鱼:彭泽鲫,取于湖北省水产研究所,养殖鱼平均体长13.42 $\pm$ 2.15cm,平均全长16.24 $\pm$ 1.96cm,平均体重78.0 $\pm$ 3.5g,试验前在清水中驯养72h。

### 1.2 方法

活鱼浸泡:在规格60cm $\times$ 30cm $\times$ 30cm的玻璃

水族箱内配制重量百分浓度为20 $\times 10^{-4}$ %的MS-222药液40L,将经驯养的彭泽鲫25尾放入药液中浸浴48h后再转入清水中,按转入清水0h,6h,12h,24h,48h分别取出。

## 2 实验

### 2.1 仪器与试剂

日本岛津LC-6A高效液相色谱仪,SPD-6AV紫外可见分光光度检测器,C-R3A数据处理机,7125型进样阀(美国Rheodyne),FB-400型微型离心机(Max12000r/min)R2000型1/105单盘电子天平(西德Sartorius),MS-222(湖北水产研究所提供),磷酸氢二钠,磷酸二氢钠,无水甲醇,磷酸均为国产分析纯,水为重蒸馏水。

### 2.2 色谱条件

色谱柱:YWGC18(200mm $\times$ 4.6mm,10 $\mu$ m),保护柱(美国Alltech20mm $\times$ 2.0mm),流动相为0.2mol/L磷酸盐缓冲液(pH 3.1) 甲醇=85 15,流速0.7ml/min,检测波长223nm。

### 2.3 样品预处理

试验鱼先用注射器在鱼鳃部抽取血液样品后,离心(12000r/min)15min,取上清液,按30 $\mu$ l/ml,加入重蒸馏水,旋涡振荡1min,用过滤膜(0.45 $\mu$ m)过滤,再依次称取鱼脑,鱼肉,鱼肝各组织的重量,按30mg/ml加入重蒸馏水匀浆,取1ml匀浆液旋涡振荡1min离心15min(12000r/min),将上清液用过滤膜(0.45 $\mu$ m)过滤,各取50 $\mu$ l过滤液进行分析。

3 结果与讨论

3.1 色谱分离

图 1 为本实验条件下测得标准和鱼血,鱼脑,鱼肉及鱼肝中的鱼静安的色谱图,保留时间为 7.2min。

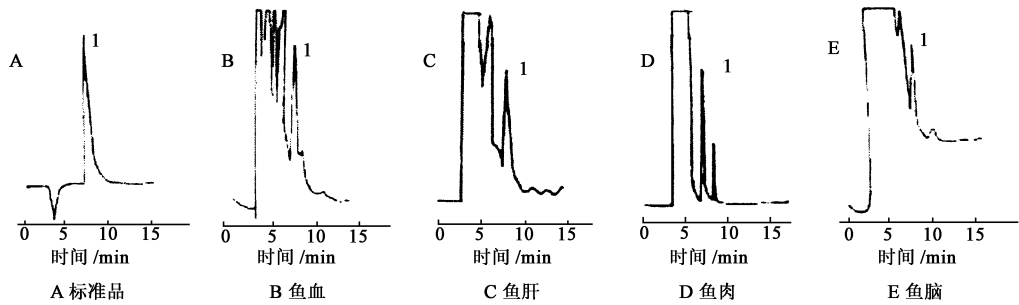


图 1 鱼各组织的色谱图

3.2 方法的重复性

将鱼血,鱼脑,鱼肉及鱼肝各一样品在相同条件下重复进行 5 次。鱼静安的变异系数,鱼血 CV % = 3.5 % ,鱼脑 CV % = 2.5 % ,鱼肉 CV % = 1.8 % ,鱼脑 CV % = 2.8 % 。

3.3 标准曲线

取空白鱼血,鱼脑,鱼肉及鱼肝匀浆液分别配制成含有 MS-222, 10μg/ml, 20μg/ml, 40μg/ml, 80μg/ml, 100μg/ml 的溶液,按样品处理方法处理进行分析,所得标准工作曲线的回归方程如下:

鱼血:  $y = 0.5258 + 0.0894x$  相关系数  $r = 0.9939$   
鱼脑:  $y = 0.9804 + 5.3740x$  相关系数  $r = 0.9971$   
鱼肉:  $y = 0.9362 + 0.5224x$  相关系数  $r = 0.9996$   
鱼肝:  $y = 0.1000 + 0.1100x$  相关系数  $r = 0.9965$

3.4 回收率试验

表 1 鱼血组织中外加 MS-222 相对回收率

外加浓度 (μg/ml)	检出浓度 (μg/ml)	相对回收率 (%)	回收率平均值 (%)
10	10.000	100	87.78
20	16.665	83	
40	32.000	80	

表 2 鱼脑组织中外加 MS-222 相对回收率

外加浓度 (μg/ml)	检出浓度 (μg/ml)	相对回收率 (%)	回收率平均值 (%)
10	10.653	106	95.30
20	18.177	91	
40	35.911	89	

3.5 最大吸收波长的选定

由 MS-222 标准溶液在 U-3400 紫外自动分光光度计扫描光谱图可知 MS-222 的  $\lambda_{max} = 223\text{nm}$ 。

表 3 鱼肉组织中外加 MS-222 相对回收率

外加浓度 (μg/ml)	检出浓度 (μg/ml)	相对回收率 (%)	回收率平均值 (%)
10	8.772	88	92.30
20	19.743	99	
40	35.825	90	

表 4 鱼肝组织中外加 MS-222 相对回收率

外加浓度 (μg/ml)	检出浓度 (μg/ml)	相对回收率 (%)	回收率平均值 (%)
10	6.700	67	77.00
20	16.666	83	
40	32.000	80	

3.6 流动相的选择

MS-222 是可离解的物质,仅选择甲醇水作流动相,MS-222 保留时间短,与样品中的杂质峰分离不开,选择磷酸盐缓冲液通过调节 pH 可抑制 MS-222 的离解,使其保留时间与样品中的杂质峰得到理想的分离。

3.7 pH对保留时间的影响

不同的 pH 对 MS-222 的保留时间有所改变,结果见图 2。通过实验确定, pH 在 3.1 ~ 3.2 比较理想, pH 超过此值 MS-222 与样品中的杂质峰重叠。

3.8 甲醇浓度对保留时间的影响

流动相中加入甲醇可使样品的谱图保留时间得到改变,通过实验加入 15 % 甲醇可得到比较理想的色谱图,结果见图 3。

3.9 测定清水中鱼体组织 MS-222 的浓度

将活鱼放在浓度  $20 \times 10^{-6}$  的 MS-222 药液中浸浴 48h,使其体内 MS-222 达到平衡状态后,将活鱼全部转入清水中,分别随机选取 0, 6, 12, 24, 36, 48h 的活鱼,取鱼体各组织按样品预处理进行分析,发

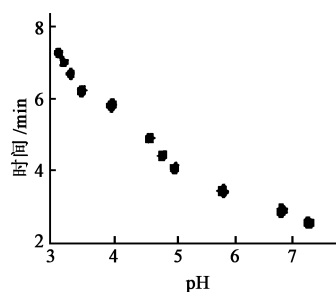


图2 pH对保留时间的影响

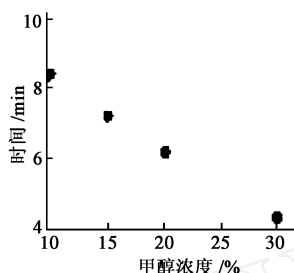


图3 甲醇浓度对保留时间的影响

现活鱼肉,鱼肝,鱼脑组织的MS-222含量随着其在清水中蓄养时间的延长而逐渐降低,鱼肉12h后,鱼肝24h后,鱼脑30h后,基本排除完。而鱼血中的MS-222浓度在6h时反略有上升,这可能是因为鱼体内MS-222在排除的同时,还有一个重新分布的过程,再随时间的延长逐步降低,48h后基本排除完。从以上实验来看将经MS-222药液处理过的活鱼在清水中蓄养一段时间后再食用是比较安全

的。结果见图4。

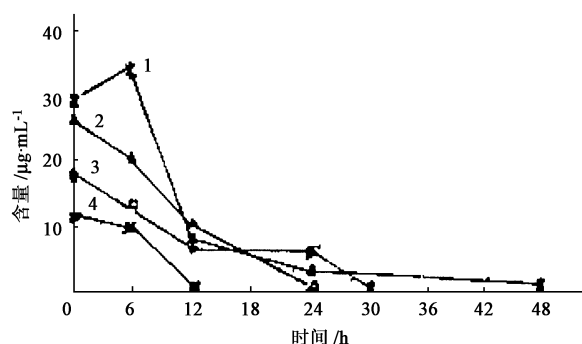


图4 鱼各组织中MS-222的浓度

1 鱼血;2 鱼肝;3 鱼脑;4 鱼肉

本方法操作简单,快速,为水产业科研提供了可靠的科研数据,并对使用此麻醉剂的方法有一定的指导意义。

### 参考文献

- [1] 任洁,丁玉娟,徐士桢. MS-222 幼蟹成活保护作用的初步研究. 淡水渔业,1994,(6):25~26
- [2] 任洁. MS-222 在活鱼运输中的应用研究. 淡水渔业,1993,(6):29~32
- [3] 陈守义. 鱼类麻醉剂在活鱼运输中应用. 水产科学,1992,11(10):21
- [4] Stilla J B, Luhning C W. Gas-Liquid Chromatographic Determination of Methanesulfonate of M-Amino Benzoic Acid Ethyl Ester in Fish. J Anal Chem,1997,60(4):961~962

## Determination of Finguel in Fish Using High Performance Liquid Chromatography

Cui Yejian<sup>1</sup> Yi Yourong<sup>1</sup> Wang Yan<sup>1</sup> Fu Yaping<sup>1</sup> Ren Jie<sup>2</sup>

(1 Testing Center Medical College Wuhan University Wuhan 430071)

(2 Hubei Fisheries Science Research Institute 430071)

**Abstract** This paper reports high performance liquid chromatographic method for determination of Finguel (MS-222) in the blood of fish, the brain of fish, the flesh of fish and the liver of fish using YWG-C18 10μm column with 0.2mol/L phosphate buffer (pH 3.1) Methanol (85:15) as mobile phase, and detected at 223nm. The flow rate was 0.7ml/min. The average recovery, the blood of fish was 87.78%, the brain of fish was 95.30%, the flesh of fish was 92.3%, the liver of fish was 77.00%.

**Key words** High performance liquid chromatography MS-222 The blood of fish The brain of fish The flesh of fish The liver of fish