

研究简报

饲料添加剂 D-生物素的高效液相色谱分析

许鹏翔 袁东星

(厦门大学环科中心, 厦门 361005)

摘要 本文采用高效液相色谱法测定饲料中添加剂 D-生物素的含量, 方法简便、准确, 重现性好, 适用于饲料中 D-生物素的分析。

关键词 D-生物素 高效液相色谱法 饲料

D-生物素(维生素H), 也称生物活素Ⅰ, 分子式为 $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ 。饲料级2% D-生物素是以无机载体和谷物粉为稀释剂将D-生物素配成含量为2%的饲料添加剂, 其重量百分含量一般在1.8~2.4%之间。饲料中D-生物素的经典分析方法是分光光度法^[1]。该法样品制备复杂, 所需试剂种类较多, 耗时长。本文作者采用高效液相色谱法分离分析D-生物素。实验表明, 方法简便、省时、准确, 且重现性好。

1 实验

1.1 仪器

美国 Waters 高效液相色谱系统, 包括 Waters510 泵, WatersU6k 进样阀(进样量 20 μ L), Waters484 紫外可见分光光度检测器, 上海大华仪表厂自动台式记录仪。

美国 Beckman DU-8 紫外分光光度计。

1.2 试剂

甲醇(HPLC级), 磷酸二氢钠(A. R), 磷酸氢二钠(A. R), 二次去离子水。

D-生物素标样购自美国 Chem Service 公司, 饲料添加剂样品由厦门华鼎动物饲料保健品公司提供。

1.3 样品制备

准确称取试样约 150mg, 置于 25mL 容量瓶中。加入约 20mL 二次水, 于水浴中温热 15 分钟, 冷却后定容至刻度, 混匀。取 10mL 于离心管中, 高速离心后待用。称取约 5.0mg D-生物素标品, 溶于二次水并定容至 25mL, 此液作为标准液。

1.4 色谱分析

色谱柱为 Waters μ bondpak C_{18} 柱, 粒度 5 μ m, 内径 4.1mm, 长度 300mm。流动相为 20% (V/V) 甲醇水溶液, 其中含 2mmol NaH_2PO_4 , 流速 1mL/min。检测波长设在 214nm。定量分析采用标准工作曲线法, 分析结果以峰高计算。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

取D-生物素标准液,以二次水为参比,在190nm至350nm区间用Beckman紫外分光光度计进行扫描。紫外吸收光谱图表明,标液在207nm左右有最大吸收。考虑到波数太低时干扰较大,本实验选择214nm为液相色谱的检测波长。

2.2 流动相中甲醇和缓冲剂浓度的选择

配制一系列不同浓度的甲醇水溶液作流动相,选择流动相中的最佳甲醇浓度。实验表明,以20% (V/V) 甲醇水溶液为流动相时,色谱保留时间适中。固定流动相中甲醇浓度为20% (V/V),往流动相中添加一定量的 NaH_2PO_4 和(或) Na_2HPO_4 作为缓冲剂,以改善峰型。实验表明,含20% (V/V) 甲醇水流动相中加入2mmol NaH_2PO_4 时,D-生物素的色谱保留时间合适,为7分钟,能与样品中的未知峰(色谱保留时间约为6分钟)完全分离,且峰型对称。

2.3 样品测试

对D-生物素样品进行分析,求得饲料中添加的D-生物素的含量为2.31%,符合其指标要求。对同一样品连续测定和不同时间对同一样品分别测定的结果表明,方法的重现性好,令人满意。

3 结语

本研究工作建立了饲料添加剂2%D-生物素的高效液相色谱分析法,方法简便、准确,且重现性好,适用于饲料中D-生物素的分析。

参 考 文 献

1. 梁东生,张辉编. 饲料添加剂分析手册. 国家饲料质量检验测试中心(北京),1994:157-158

Analysis of Feed Additive D-Biotin by HPLC

Xu Pengxiang Yuan Dongxing

(Environ. Sci. Res. Center, Xiamen Univ., Xiamen 361005)

Abstract A method for the determination of feed additive D-biotin by HPLC is described. The results have shown that the method is simple, accurate, and can be used to determine D-biotin in feed.

Key words D-biotin, high performance liquid chromatography, feed