

饲料添加剂 D-生物素的 HPLC 测定法

陈瑞莲^{1,2}, 梁焯琼^{1,2}

(1广东省饲料产品质量监督检验站,佛山 528000;2 佛山市质量计量监督检测中心食品部,佛山 528000)

[中图分类号]S816.7

[文献标识码]C

[文章编号]1005-8613(2009)06-0035-02

生物素也称 VH,溶于稀碱溶液中,微溶于水 and 乙醇,不溶于大多数常见有机溶剂,在自然界普通存在于动植物组织内。生物素在生物代谢中起着重要的作用,当动物缺乏时,表现出生长缓慢,食欲不振,皮肤炎症等症状。目前,生物素已广泛用作饲料添加剂及畜禽饲料添加剂。生物素的主要商品形式为 2%的 D-生物素,由生物素、山梨酸和糊精等制成,外观为白色至浅褐色的细粉。我们在多年的检测中发现 D-生物素添加剂在常见溶剂中十分难溶,不利于检测工作的开展。我国尚未制订饲料添加剂 D-生物素的国家标准。本文介绍生物素的检测方法具有简便、快速、准确等特点,仅供广大饲料工作者参考。

1 材料与方法

1.1 仪器

高效液相色谱仪(Waters 2695,紫外检测器),TB-214 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),超声波清洗器(天津市恒奥科技发展有限公司),微滤膜(日本津腾)。

1.2 试剂

D-生物素对照品由美国 Sigma 公司提供,含量 $\geq 99.0\%$,乙腈为色谱纯,三氟醋酸及氢氧化钠均为分析纯,实验用水为去离子水。

1.3 色谱条件

色谱柱:Supelco C18 柱(15cm \times 4.6mm,5 μ m)
流动相:0.05%三氟醋酸-乙腈(90:10),用 5mol \cdot L⁻¹NaOH 调到 pH 值为 2.5。

流速:1.0mL \cdot min⁻¹

检测波长:210nm

柱温:40 $^{\circ}$ C

1.4 对照品溶液的制备

准确称取生物素对照品 10mg 于 50mL 容量瓶中,加流动相适量溶解后(可在超声波水浴中处理 15min),用流动相稀释至刻度。

1.5 供试品溶液的制备

准确称取样品 500mg 于 50 mL 容量瓶中,加流动相适量溶解后(可在超声波水浴中处理 15min),用流动相稀释至刻度。

2 结果与分析

2.1 流动相体系的确定

经大量试验发现,D-生物素饲料添加剂在水溶液、甲醇、乙醇等常见溶剂中的溶解度很低,而选用 0.05%三氟醋酸作为溶剂则溶解效果好。若选用甲醇作为流动相的有机部分,发现谱图上 D-生物素的峰形不对称,有拖尾现象,改用乙腈后则明显得到改善,峰形对称,分离效果较好,出峰时间在 8.5min 左右,色谱图详见图 1。

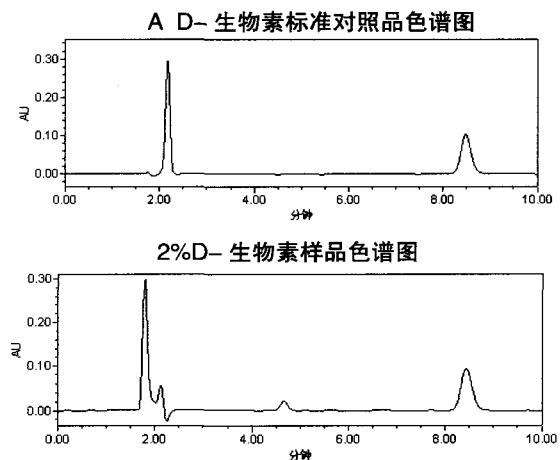


图 1 D-生物素高效液相色谱图

2.2 方法的线性关系

配制浓度分别为 5 μ g \cdot mL⁻¹、50 μ g \cdot mL⁻¹,

蛋壳的开发与利用

张晓旭

(扬州大学文汇路校区动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

[中图分类号]S816.79

[文献标识码]C

[文章编号]1005-8613(2009)06-0036-03

我国是世界上禽蛋生产和消费最多的国家,随着禽蛋生产与消费的日益增加,其不可食用部分——蛋壳就大量产生,按通常蛋壳在全蛋重量中的比重 12% 计算,中国每年生产出 400 多万 t 蛋壳,但在加工利用方面,蛋壳的开发研究很薄弱,目前的利用主要还是农村小规模的手工生产或者一些科研教学单位的实验性生产,并没有规模性的生产厂家。食品加工厂、糕点厂、孵化场、酒家等大量消费鸡蛋的单位将大量的废弃蛋壳扔进垃圾堆,对环境造成污染。若能将这些废弃蛋壳收集起来,加工利用,既避免了对环境的污染,又增加了经济效益。

1 蛋壳的组成

蛋壳的物理组成主要是两部分:真壳与壳内膜。但由于蛋清的粘附性,打蛋后壳膜上包被着蛋

清,可以说废弃蛋壳由蛋壳、壳内膜和残留蛋清三部分组成。其中蛋壳占全蛋重量的 11%~13%;壳内膜约占蛋壳重量的 4%~5%;残留蛋清占蛋壳重的 25%。

1.1 蛋壳的成分

蛋壳即真壳中 CaCO_3 的含量高达 93%,Ca 元素含量大于 36%,远高于动物骨的含钙量(12%),同时蛋壳中有机质的含量很低(一般在 3%~4%),因此用蛋壳制备钙制剂的产率很高,同时蛋壳钙表面存在大量的微孔,也利于吸收。蛋壳的碳水化合物含量虽然极少,但也是极好的营养成分,主要有多糖、氨基半乳糖、己糖胺、葡萄糖胺、甘露糖、半乳糖、果糖等。

1.2 蛋壳膜的成份

蛋壳膜是位于蛋壳与蛋清之间的纤维状薄膜,有一定弹性,色泽洁白,质地均匀。厚度大约为

[收稿日期]2009-05-12

$100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $250 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $300 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $350 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $400 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准溶液,测定生物素的吸收峰面积。以生物素的吸收峰面积(Y)对生物素浓度(X)作图,求得回归方程为:
 $Y=1963.2X-1129.8$ ($R^2=0.99997$), 在 $5\sim 400 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内有良好的线性关系。

2.3 回收率及精密度试验

表 1 回收率试验结果(n=9)

样品序号	加入量(%)	实测值(%)	回收率(%)	精密度(%)
1	0.200	0.198	99.00	0.66
2	1.05	1.04	99.05	0.50
3	2.06	2.05	99.51	0.45

分别配制 0.2%、1.0% 及 2.0% 的对照品溶液,加入糊精作为空白辅料,按照 1.5 下方法制成供试品溶液,分别进样(进样次数 n=9)、记录峰面积并

计算回收率及精密度,结果见表 1。从表 1 可以看出,生物素的加标回收率达到 99.00% 以上,精密度达到 0.45%~0.66%。

3 结论

随着科学技术的发展,国内外报道了许多生物素的测定方法,而近年来常用的测定方法包括有微生物法、高效液相色谱法、生物传感器法、毛细管电泳法、荧光法、酶联免疫法及微分脉冲伏安法等,以及 GB/T 17778-2005《预混合饲料中 D-生物素的测定》,这些方法均是针对各种样品中微量的生物素含量而开展。笔者多年从事饲料样品相关检测,针对 2% 生物素饲料单制剂溶解度较差特性,建立了上述高效液相色谱法检测 D-生物素的方法,试验结果表明该方法简便、快速、准确,对各相关检测机构和生产企业有一定的参考价值。