

鱼中三卡因残留量的比色测定法

樊梅芳 薛秀鸿 钱红美 林力行 范坤民

(南京药物研究所, 210009)

关键词 三卡因; 残留量测定; 比色法

三卡因又称间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐,商品名 MS-222,用于鱼类在运输、销售、产卵过程中的麻醉镇静剂^[1]。该化合物残留量的测定方法,文献报道了气相色谱法^[2],该方法是将蛋白质沉淀除去后,调节溶液 pH 呈碱性,用苯乙醚提取其游离基间氨基苯甲酸乙酯,然后以碱火焰离子化检测器进行气相色谱法测定。为简化仪器设备和避免有机溶剂毒性,本文报道用比色法测定三卡因的残留量。利用三卡因的水溶性,可被水所提取,该化合物又具有芳伯胺基结构,在酸性条件下能与重氮化偶合试剂显色反应,可用比色法进行测定^[3]。

1 仪器与材料

UV-200 可见紫外分光光度计, LD4-2A 离心机(北京医用离心机厂); WX-80 涡旋混合器(上海第一医学院仪器厂) 亚硝酸钠, 分析纯; 三氯醋酸, 氨基磺酸铵, 盐酸萘乙二胺, 均为化学纯; 三卡因精制品, 本所合成室提供; 新鲜活鱼, 直接从河塘捕捉。

2 方法和结果

2.1 样品的处理

取用药组及空白对照组的鱼,除去鳞、内脏、头和尾,取其半边,去皮、骨和刺,捣碎,在乳钵中研磨成均匀肉泥。取肉泥约 2.5 g(或 5.0 g), 精密称定, 置于匀浆器中, 分次加入

水约 20 ml, 匀浆, 高速匀化 1 min, 将浆液定量转移到 40 ml 刻度离心管中, 加 15% 三氯醋酸 16 ml, 加水至刻度, 摆匀, 离心 20 min (2500 r/min), 将上清液滤到锥形瓶中备用。

2.2 测定方法

精密量取滤液 5.00 ml 置于 10 ml 量瓶中, 依次分别加 0.1% 亚硝酸钠溶液 0.5 ml, 摆匀, 放置 3 min, 加 0.5% 氨基磺酸铵溶液 0.5 ml, 轻轻振摇至无气泡 (N_2) 发生(约 5 min), 加 0.1% 盐酸萘乙二胺溶液 2.50 ml, 加水至刻度, 摆匀, 放置 10 min, 以 3% 三氯醋酸溶液为参比, 在波长 550 nm 处测定其吸收度。

2.3 吸收光谱

将三卡因对照品、空白对照组及三卡因加入到鱼泥中, 制成的三种样品与重氮化偶合试剂显色, 进行可见吸收光谱扫描, 最大吸收峰为 550 nm, 见图 1

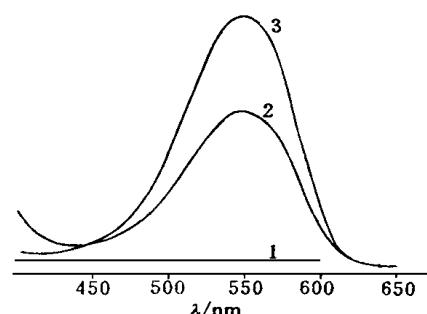


Fig. 1 UV-absorption spectra

1. blank fish 2. tricaine 3. a mixture of tricaine and fish

2.4 标准曲线的绘制

精密称取三卡因精制品约 10 mg, 加水溶解并定容至 1000 ml。精密量取此液 0.00, 0.20, 0.60, 1.00, 1.40, 2.00 ml 分别置于 6 只 10 ml 量瓶中, 分别加入 15% 三氯醋酸 2 ml, 其余按“2.2”项下操作, 得回归方程为 $A = 0.0914C + 0.0036 (n=5)$, $r=0.9998$ 本法最低检测浓度为 $0.2\mu\text{g}/\text{ml}$

2.5 回收率试验

精密量取三卡因精制品溶液(约 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 0.00, 0.20, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20, 1.40 ml 分别置于含有肉泥(草鱼)5 g 的匀浆器中, 按“2.1”和“2.2”项下进行操作, 测得平均回收率为 93.29%。见表 1

Tab 1. The recovery test($n=6$)

Added (μg)	Measured (μg)	Recovery (%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
0.251	0.240	95.62	93.29	3.6
0.621	0.600	96.62		
0.754	0.700	92.84		
1.005	0.960	95.52		
1.256	1.100	87.58		
1.507	1.380	91.57		

2.6 精密度试验

按回收率测定法, 对同一浓度样品进行连续数次测定, 测得结果见表 2

2.7 鱼中残留量测定

取条重约 0.5~1.5 kg 的活草鱼 8 条, 其中 2 条养在河水中作为空白对照, 另 6 条于 30 ppm 三卡因的水溶液中放养, 6 h 后全部取出, 将其中 2 条立即取样, 另 4 条转移到流动河水中放养, 分别于 1, 2 h 后各取样 2

Tab 2. Precision of the method ($n=7$)

Added (μg)	Measured (μg)	Recovery (%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
0.754	0.680	90.19	93.22	4.16
	0.700	92.84		
	0.680	90.19		
	0.720	95.49		
	0.680	90.19		
	0.760	100.79		
	0.700	92.84		

条, 进行残留量测定。在三卡因水溶液中养 6 h 的草鱼, 其残留量为 $2.8\sim3.7\mu\text{g}/\text{g}$; 在流动河水中 1 h 后, 其残留量为 $3.4\mu\text{g}/\text{g}$, 2 h 后药物残留量已明显降低 ($0\sim0.9\mu\text{g}/\text{g}$), 接近于全部排出。

3 讨论

1) 曾分别用 2.5%, 3% 及 3.5% 三种三氯醋酸浓度沉淀蛋白质, 测定结果基本一致, 故仍参照文献 [2] 确定浓度为 3%。

2) 三卡因在水中易溶, 而在 3% 三氯醋酸中难溶, 故在残留量测定时, 预先用水匀浆, 充分匀化, 使样品被水所提取, 而后加三氯醋酸沉淀除去蛋白质。

3) 偶合剂宜新鲜配制, 时间放长, 显色效果降低。比色液在 2 h 内稳定。

参考文献

- 1 Martha Windholz. *The Merck Index: Tenth Edition*. U. S. A. Merck & Co., INC., 1983. 1375
- 2 Sills B, Luhning W. Gas-liquid chromatographic determination of residues of methanesulfonate of *m*-aminobenzoic acid ethyl ester in fish. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 1977, **60** (4): 961
- 3 安登魁主编. 药物分析. 济南出版社, 1992. 797

Colorimetric Determination of Residues of Tricaine in Fish

Fan Meifang, Xue XiuHong, Qian Hongmei, Lin Lixing, Fan Kunmin
Nanjing Institute of Meteria Medica, 210009

Abstract The method for the determination of residues of tricaine (MS-222) in fish muscle was developed. MS-222 reacted with diazotization-coupling reagents in the acidic solution. The analysis was carried out by colorimetry. Tissues with the known additions of 4~24 μg MS-222/g were analyzed, with average recovery of 93.29% and RSD=3.6% ($n=6$).

Key words Tricaine; Determination of residues; Colorimetry