

喹乙醇在猪组织中残留的数学模型分析*

陶琳丽, 高士争, 葛长荣, 杨秀娟, 张锦红, 张曦**
(云南农业大学, 云南省动物营养与饲料重点实验室, 云南 昆明 650201)

摘要: 试验采用高效液相色谱法检测猪组织(肌肉、肝脏、肾脏)中的喹乙醇残留量, 通过对饲料中喹乙醇添加量和组织中喹乙醇残留量的分析, 建立数学模型。研究表明, 饲料中喹乙醇的添加量在 75 ~ 125 $\mu\text{g/g}$ 的范围内, 饲料添加量与猪组织(肌肉、肾脏、肝脏)的残留数学模型分别为: $y = 0.0496x + 0.544$; $y = 2.9338e^{0.0106x}$; $y = 2.9959e^{0.0112x}$ 。

关键词: 猪组织; 喹乙醇; 残留; 数学模型

中图分类号: S 828.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X(2009)03-0394-05

Analysis on Mathematical Model for Olaquinox Residues in Pig Tissues

TAO Lin-li, GAO Shi-zheng, GE Chang-rong, YANG Xiu-juan, ZHANG Jin-hong, ZHANG Xi
(Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science of Yunnan Province,
Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: The technique of the high liquid chromatography (HLC) was used to determinate olaquinox residues amount in pig tissues, and the mathematical model of olaquinox residues regularity was established by analyzing different olaquinox addition level in feed and residues in tissues. The result showed, during 75 $\mu\text{g/g}$ to 125 $\mu\text{g/g}$ feed addition level, linear regressions between feed added and muscle, kidney, liver residues of Olaquinox were $y = 0.0496x + 0.544$, $y = 2.9338e^{0.0106x}$, $y = 2.9959e^{0.0112x}$ respectively.

Key words: tissues; olaquinox; residues; mathematical model

喹乙醇(Olaquinox, OL), 又称倍育诺、快育诺、喹酰胺醇, 属于喹噁啉类。由德国 Bayer 制药公司于 1965 年合成生产, 20 世纪 70 年代在国外便推广用作畜禽饲料添加剂^[1]。喹乙醇促进生长的原理是通过抵制有害菌生长, 影响动物体内营养物质代谢, 特别是内分泌系统, 促进合成, 提高饲料中能量和氮的利用率, 促进营养物质的吸收及营养物质(尤其是蛋白质)的沉积, 提高饲料转化率, 促进猪、禽、鱼、虾的生长^[2]。在

混合物或片剂中稳定性良好, 可与矿物质、微量元素和常用饲料添加配伍混用^[3]。喹乙醇对光敏感, 光照易导致降解^[4]。早期喹乙醇被认为是一种高效、低毒、低残留的优良抗菌促生长剂, 对喹乙醇的抗药性^[5]及药物残留对人体健康的影响等方面所积累的资料还很少。但近些年来, 很多学者对喹乙醇的毒性重新做了深入系列的研究与评价, 认为它是一种基因毒剂和生殖诱变剂, 有致突变、致畸作用, 畜禽产品中残留的喹乙醇可致染色

收稿日期: 2008-03-10 修回日期: 2008-09-08

* 基金项目: 国家科技支撑计划(2006BAD14B03-6)

作者简介: 陶琳丽(1974-), 女, 云南曲靖人, 硕士, 讲师, 主要从事动物营养研究。

** 通讯作者 Corresponding author: 张曦(1960-), 男, 河北正定人, 教授, 硕士生导师, 主要从事动物营养研究。E-mail: zhangxi_km@hotmail.com

体断裂, 能诱发机体出现细胞突变等^[6]。我国农业部于1997年新颁布的《允许作饲料药物添加剂的兽药品种及使用规定》中, 已删除了喹乙醇作鸡饲料添加剂的内容; 农业部于2003年发布的第235号文件中允许喹乙醇作为猪饲料添加剂, 但规定了最高残留限量, 肌肉和肝脏的残留量分别为4 $\mu\text{g/g}$, 50 $\mu\text{g/g}$ 。由于喹乙醇在体内作用时间和代谢时间较长, 在不同组织中的残留量亦不相同, 本试验旨在研究不同饲料添加水平下, 猪组织中喹乙醇残留情况, 建立数学模型, 为残留监测提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选择日龄相近 [(60.0 \pm 1.0) kg], 体格健

壮的DLY三元杂交(长白 \times 约克 \times 杜洛克)商品猪20头, 随机分为4组, 每组5头, 试验猪分为4组, 对照组为基础饲料, 未添加喹乙醇, 1组、2组、3组饲料分别在基础饲料的基础上分别添加75 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg的喹乙醇。饲喂期70 d, 体重达90 kg屠宰, 肌肉采集股二头肌, 肝采集左叶, 肾采集左肾, 各50 g作为分析样本, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。

1.2 日粮

日粮的设计参照中国猪饲养标准和美国NRC饲养标准。供试猪同一阶段的基础日粮配方及营养水平相同, 在基础日粮配方均一致的基础上, 添加不同浓度梯度的喹乙醇(见表1)。

表1 日粮配方及营养水平

Tab. 1 The formula of diets and nutrient level

原料组成 formula of basal diets	对照组 control group	1组 group 1	2组 group 2	3组 group 3
玉米/% maize	67.2	67.2	67.2	67.2
豆粕/% soybean meal	15.5	15.5	15.5	15.5
麦麸/% wheat bran	17	17	17	17
磷酸氢钙/% Dicalcium phosphate	2	2	2	2
食盐/% salt	0.3	0.3	0.3	0.3
喹乙醇/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) Olaquinox	0	75	100	125
营养成分含量 nutrient level				
消化能/ ($\text{MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$) digestion energy	13.13	13.13	13.13	13.13
粗蛋白质/% crude protein	13.7	13.7	13.7	13.7
赖氨酸/% Lysine	0.65	0.65	0.65	0.65
蛋氨酸+胱氨酸/% Methionine + cystine	0.58	0.58	0.58	0.58
钙/% Calcium	0.57	0.57	0.57	0.57
磷/% Phosphorus	0.75	0.75	0.75	0.75

1.3 仪器与药品

高效液相色谱仪(1100LC, 美国惠普公司, 配紫外检测器); 色谱柱: (ODSC₁₈ 150 mm \times 4.6 \times 5, 美国Agilent); 紫外分光光度计(HP845, 美国惠普公司); 离心机(RC25C, RC3C, 美国杜邦公司); 电子天平(AG245, 瑞士梅特勒公司, 感应量0.01 mg); 回旋振荡器(HY-5, 金坛富华仪器有限公司); 真空泵(2XZ-0.5, 上海鑫磊真空设备有限公司); 旋转蒸发器(RE-52A, 上海亚荣生化仪器厂); 快速混匀器(XK96-A, 姜堰市新康医疗器械有限公司)。标准品: 喹乙醇纯度 $\geq 99\%$ (Sigma公司); 甲醇和

乙腈(色谱纯), 美国Fisher公司; 三氯乙酸(分析纯, 批号20040316), 天津市风船化学试剂科技有限公司。

1.4 试验部分

1.4.1 溶液的配制

150 g/L的三氯乙酸溶液: 称取150.00 g三氯乙酸, 用蒸馏水溶解, 定容于1 L容量瓶中, 摇匀即得。

5%甲醇溶液: 移取50 mL甲醇溶液, 用蒸馏水定容至1 L容量瓶中, 摇匀即可。

15%甲醇溶液: 移取150 mL甲醇溶液, 用蒸馏水定容至1 L容量瓶中, 摇匀即可。

标准贮备溶液：准确称取 10.000 mg 喹乙醇标准品，置于 10 mL 棕色容量瓶中，用流动相溶解并稀释至刻度，获得 1 mg/mL 的标准贮备液，置于 4 °C 冰箱中避光保存。

1.4.2 组织样品的提取与净化

准确称取 5 g 组织样品（肌肉、肝脏、肾脏），加入等量蒸馏水（5 mL），其中肝脏加入 5 mL 饱和 NaCl 溶液，分别用玻璃匀浆机匀浆，取匀浆液 5 g 置于 50 mL 离心管中，加入 2 mL 150 g/L 三氯乙酸，振荡，加入 20 mL 5% 甲醇溶液，摇匀，中速避光振荡 10 min，超声 10 min，4 500 r/min 离心 10 min，取上清液于蒸发皿中，余浆分别用 10 mL 5% 甲醇重复提取 2 次，合并上清液于蒸发皿中。置 70 °C 烘箱中烘 40 min，残渣用 2 mL 15% 甲醇溶解，过滤膜，上机测定。

1.4.3 组织样品中的喹乙醇残留量测定

组织中的喹乙醇残留量由 HPLC - UVD 测定。流动相：乙腈：0.017 mol/L 磷酸 = (6:4)；流动相流速：1.0 mL/min；检测波长：267 nm；进样量：20 μ L；柱温：室温。

2 结果与分析

应用 1.4 确立的方法对所采集的样品，包括肌肉、肝脏、肾脏样品进行检测，确立各组织中的喹乙醇的残留量。得出如下数据（见表 2）。

表 2 不同处理组猪组织喹乙醇的残留量

Tab. 2 The residue amount of olaquinox
in muscle, liver and kidney μ g/g

饲料添加量 feed addition	残留量 residue		
	肌肉 muscle	肾脏 kidney	肝脏 liver
75	4.215	6.369	7.153
75	3.892	5.914	6.673
75	4.583	6.589	7.236
75	4.539	7.045	7.562
75	4.254	7.002	7.508
100	5.659	8.325	8.573
100	5.873	8.592	8.673
100	5.646	8.395	8.253
100	4.973	8.148	8.042
100	5.038	8.053	8.549
125	6.668	10.842	12.569
125	6.757	10.973	12.653
125	6.493	10.938	12.392
125	7.002	11.382	12.851
125	6.962	11.729	12.628

对不同组织中的喹乙醇残留量采用单因素方差分析（ANOVA），同时，对不同饲料添加量，和喹乙醇残留量进行相关分析，通过直线模型和曲线模型比较^[7]，确立适宜的数学模型。所有统计分析均在 SPSS11.0 软件中进行^[8]。

2.1 饲料中喹乙醇添加量和肌肉中喹乙醇残留量回归关系的模型比较

为确定饲料中喹乙醇添加量和肌肉中喹乙醇残留量回归关系，以饲料中喹乙醇添加量为横坐标，肌肉中喹乙醇残留量为纵坐标作散点图，分析散点图拟合趋势，直线模型和曲线模型的拟合程度均较高，如图 1a, 1b 所示。为比较直线模型与曲线模型的拟合程度，将曲线模型进行直线化^[9]，见图 1c，对直线化的曲线模型和直线模型的进行假设检验。直线模型的 $F_{(2,12)} = 169.259$ ，直线化曲线模型的 $F_{(2,12)} = 172.727$ ，两者均大于 $F_{0.01(2,12)} = 99.42$ ，表明回归关系极显著，即直线回归和曲线回归模型均适用于饲料中喹乙醇添加量和肌肉中喹乙醇残留量的回归关系。直线模型 $r = 0.9637$ ，直线化曲线模型 $r = 0.9602$ ，两种模型都说明饲料添加量（ x ）与肌肉残留量（ y ）之间的相关系数都达到了极显著（ $r_{0.01} = 0.661$ ），但从图 1 中可以看出，直线模型 a 的决定系数明显大于直线化的曲线模型 c 的决定系数，说明拟合出的直线模型 $y = 0.0496x + 0.544$ 是更适宜的。这表明，在饲料中喹乙醇的添加量在 75 ~ 125 μ g/g 的范围内，随饲料添加量的增加，肌肉中喹乙醇残留量是呈直线极显著增加。

2.2 饲料中喹乙醇添加量和肾脏中喹乙醇残留量回归关系的模型比较

为确定饲料中喹乙醇添加量和肾脏中喹乙醇残留量回归关系，以饲料中喹乙醇添加量为横坐标，肾脏中喹乙醇残留量为纵坐标作散点图，分析散点图拟合趋势，直线模型和曲线模型的拟合程度均较高，如图 2a, 2b 所示。为比较直线模型与曲线模型的拟合程度，将曲线模型进行直线化^[9]，见图 2c，对直线化的曲线模型和直线模型的进行假设检验，直线模型 $F_{(2,12)} = 251.276$ ，直线化曲线模型的 $F_{(2,12)} = 309.064$ ，两者均大于 $F_{0.01(2,12)} = 99.42$ ，表明回归关系极显著。直线模型 $r = 0.9751$ ，直线化曲线模型 $r = 0.9785$ ，两种

模型都说明饲料添加量 (x) 与肾脏残留量 (y) 之间的相关系数都达到了极显著 ($r_{0.01} = 0.661$), 但从图2中可以看出, 直线模型a的决定系数明显大于直线化的曲线模型c的决定系数, 说明拟

合出的曲线模型 $y = 2.9338 e^{0.0106x}$ 是更适宜的。这也表明, 在饲料中喹乙醇的添加量在 75 ~ 125 $\mu\text{g/g}$ 的范围内, 肾脏中喹乙醇残留量是呈指数曲线极显著增加。

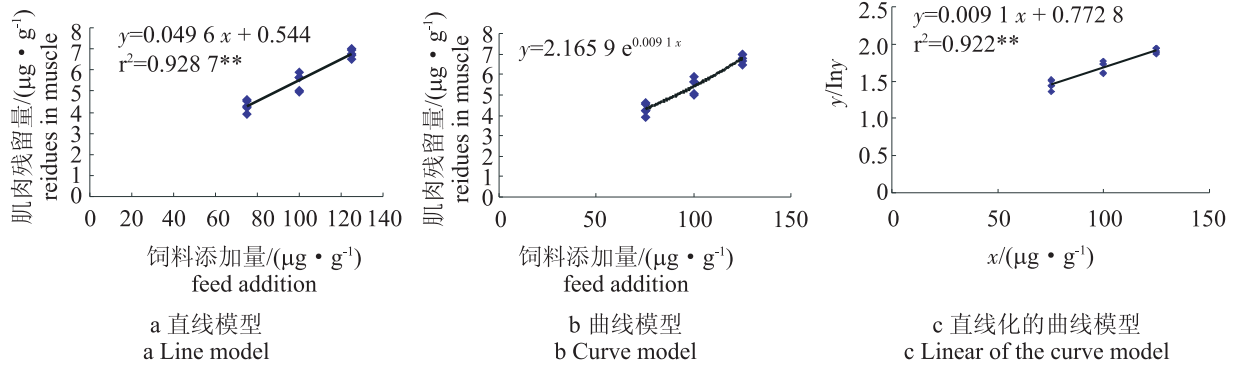


图1 饲料中喹乙醇添加量和肌肉中喹乙醇残留量相关回归分析
Fig. 1 Linear regression between feed addition and muscle residues of olaquinox

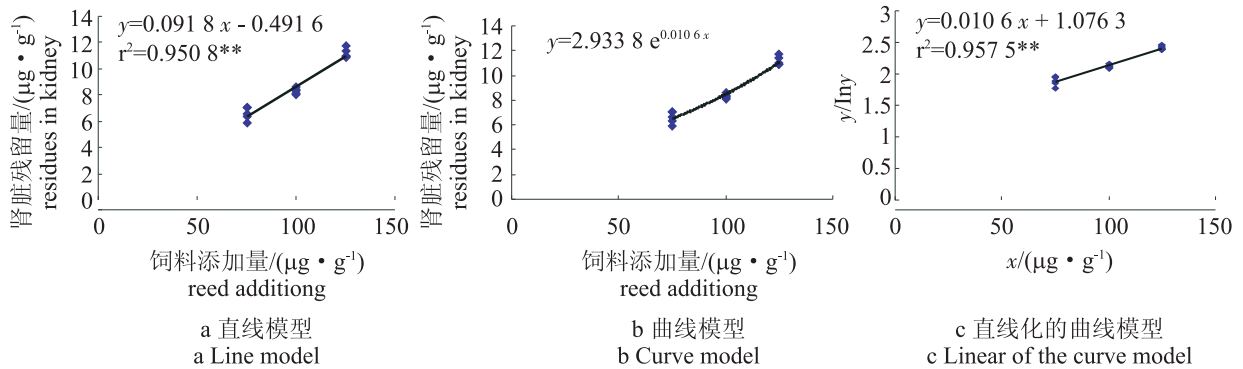


图2 饲料中喹乙醇添加量和肾脏中喹乙醇残留量相关回归分析
Fig. 2 Linear regression between feed addition and kidney residues of olaquinox

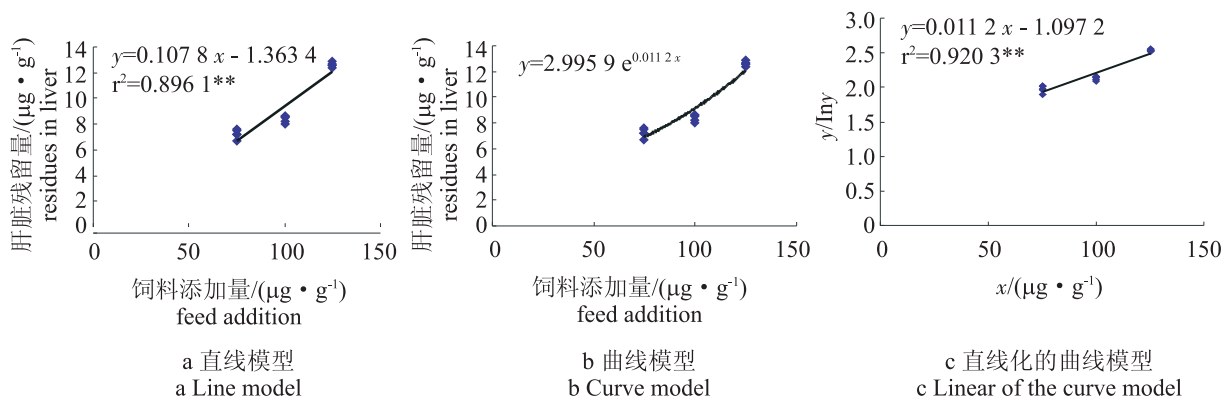


图3 饲料中喹乙醇添加量和肝脏中喹乙醇残留量相关回归分析
Fig. 3 Linear regression between feed addition and liver residues of olaquinox

2.3 饲料中喹乙醇添加量和肝脏中喹乙醇残留量回归关系的模型比较

为确定饲料中喹乙醇添加量和肝脏中喹乙醇残留量回归关系,以饲料中喹乙醇添加量为横坐标,肝脏中喹乙醇残留量为纵坐标作散点图,分析散点图拟合趋势,直线模型和曲线模型的拟合程度均较高,如图 3a, b 所示。为比较直线模型与曲线模型的拟合程度,将曲线模型进行直线化^[9],见图 3c,对直线化的曲线模型和直线模型进行假设检验,直线模型 $F_{(2,12)} = 112.06$,直线化曲线模型的 $F_{(2,12)} = 153.128$,两者均大于 $F_{0.01(2,12)} = 99.42$,表明回归关系极显著。说明直线回归和曲线回归模型均适用于饲料中喹乙醇添加量和肝脏中喹乙醇残留量的回归关系。直线模型 $r = 0.9466$,直线化曲线模型 $r = 0.9593$,两种模型都说明饲料添加量 (x) 与肝脏残留量 (y) 之间的相关系数都达到了极显著 ($r_{0.01} = 0.661$),但从图 3 中可以看出,直线模型 a 的决定系数明显大于直线化的曲线模型 c 的决定系数,说明拟合出的曲线模型 $y = 2.9959 e^{0.0112x}$ 是更适宜的。这表明,在饲料中喹乙醇的添加量在 $75 \sim 125 \mu\text{g/g}$ 的范围内,肝脏中喹乙醇残留量是呈指数曲线极显著增加。

3 结论

通过对不同饲料添加水平,猪肉、肾脏、肝脏中喹乙醇残留大小的直线回归模型和曲线回归模型的显著性检验以及决定系数分析,结果表明,在饲料中喹乙醇的添加量在 $75 \sim 125 \mu\text{g/g}$ 的范围内,肌肉中的喹乙醇残留量呈直线显著增加,肝脏和肾脏中残留量呈指数曲线显著增加。饲料添加量与猪组织(肌肉、肾脏、肝脏)的残留数学

模型分别为: $y = 0.0496x + 0.544$; $y = 2.9338 e^{0.0106x}$; $y = 2.9959 e^{0.0112x}$ 。根据本试验建立的喹乙醇残留数学模型,在实际生产中,通过对饲料中喹乙醇含量的检测,可以计算出肌肉、肾脏、肝脏中喹乙醇的残留量,从而实现间接活体残留监测。

[参考文献]

- [1] 曾振灵. 高效液相色谱法测定血浆或组织中吡喹酮、氯霉素及利血平的浓度 [J]. 华南农业大学学报, 1993, 14 (1): 36-40.
- [2] 曾振灵, 董漓波. 喹乙醇在鸡组织中的消除及残留研究 [J]. 畜牧兽医学报, 1995, 26 (4): 34-38.
- [3] 朱柱振, 陈杖榴. 喹乙醇在鸡体内的药物动力学及组织浓度研究 [J]. 畜牧兽医学报, 1992, 24 (3): 20-23.
- [4] 董漓波, 曾振灵. 喹乙醇对鸡的毒性及组织药物浓度研究 [J]. 华南农业大学学报, 1993, 14 (4): 35-40.
- [5] ALTHAUS F R. Safety and concerns of growth promoters [C] //In: BLUM JW, ELSASSER T, GUILLOTEAU P (eds), Proceedings of an International Symposium on Growth in Ruminants: Basic Aspects, Theory and Practice for the Future, 1998. Berne, Switzerland; University of Berne, 1998: 20-22.
- [6] 邓云波, 段苏华, 陈启友. 喹乙醇的特性及其合理使用 [J]. 湖南饲料, 2004, (1): 5-16.
- [7] 吴占福. 生物统计学 [M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [8] 鲁绍雄, 连林生. SAS 在统计分析系统在畜牧科学中的应用 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2003.
- [9] 李春喜, 姜丽娜, 邵云. 生物统计学 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2005.