

高效液相色谱法测定畜、禽肉中土霉素的残留量

修丽华¹, 王陆玲², 许跃东³, 姜世娟¹, 迟惠¹, 宋永健¹, 郭伟伟¹, 王娟¹

(1. 长春市产品质量监督检验院, 吉林 长春 130012) (2. 吉林工程技术师范学院, 吉林 长春 130012) (3. 吉林省安特膜有限公司, 吉林 长春 130022)

摘要: 土霉素属抗生素类药物, 无公害食品标准规定应在 0.1 mg/kg 以下。按 GB/T5009.116-2003 国家推荐方法检测, 方法检出限为 0.15 mg/kg, 很难满足判定要求。本文通过优化条件, 摸索出一个简捷、快速、经济, 又能保证一定精度的测定方法来满足分析要求。本方法加标回收率在 96.0%~108.2% 之间, 线性系数 $R=0.9999$, 检出限 0.08 mg/kg, 分析时间仅为 9 min, 完全能够满足分析要求, 具有广泛的应用前景。

关键词: 高效液相; 土霉素; 残留

中图分类号: TS251.8; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2007)10-0088-03

Determination of Oxytetracylin in Meat by HPLC

XIU Li-hua¹, WANG Lu-ling², XU Yue-dong³, JIANG Shi-juan¹, CHI Hui¹, SONG Yong-jian¹, GUO Wei-wei¹,
WANG Juan¹

(1. Changchun Products Quality Supervisor and Testing Department, Changchun 130012, China) (2. Jilin Teacher's Institute of Engineering and Technology, Changchun 130012, China) (3. Ante Membrane Co. Ltd of Jilin Province, Changchun 130022, China)

Abstract: According to the standards of pollution-free foods, the limit of oxytetracylin, a kind of antibiotic drug, is below 0.1 mg/kg. So it is difficult to satisfy the judgment using the method of GB/T5009.116-2003 as the detection limit of this method is 0.15 mg/kg. In this paper, an easy, quick, economic and accurate method for Oxytetracylin Residues detection is described. The recovery rate of this method is between 96.0% and 108.2% and the linearity coefficient is 0.9999. Besides, the detection limit and the analysis time of this method are 0.08 mg/kg and 9 min, respectively. This method shows a great application prospects.

Key words: HPLC; oxytetracylin; residues

兽药残留问题广泛存在于粮食、食品、饲料、进出口贸易等相关领域中, 直接关系到国家利益和人们的生命安全及社会的稳定。人长期摄入含兽药的动物性食品后, 药物不断在人体内蓄积, 当积累到一定程度后, 就会对人体产生毒性作用, 引起过敏和变态反应, 严重者可危及生命。兽药残留是指动物产品的任何可食部分所含兽药的母体化合物或其代谢物, 以及与兽药有关的杂质的残留。兽药残留既包括原药也包括药物在动物体内的代谢产物。主要的残留兽药有抗生素类、磺胺药类、呋喃药类、抗球虫药、激素药类和驱虫药类。土霉素属于抗生素类兽药残留。兽药通常是通过在预防和治疗动物疾病用药、在饲料添加剂中使用以及在食品保鲜中引入药物而带来对食品的污染。绝大多数兽药排入环境以后, 仍然具有活性, 会对土壤微生物、水生生物及昆虫等造成影响。动物

作者简介: 修丽华(1970-), 高级工程师, 主要从事产品分析方法的研究

疫病威胁, 导致滥用药物。由于我国目前动物疫病时有发生, 给养殖业带来极大威胁, 且造成很大经济损失, 一些养殖场(户)为减少动物疫病的发生及死亡, 提高成活率, 增加经济效益, 滥用药物, 特别是滥用抗生素。

因此加强兽药残留的检测分析工作尤为重要, 势在必行。本文拟就对动物性肉制品中土霉素的检测分析发表一些见解, 摸索出一个简捷、快速、经济, 又能保证一定精度的测定方法来满足分析要求, 供同仁参考。

1 实验部分

1.1 仪器与设备

Waters Allance 2695 高效液相色谱仪、PDA2996 检测器+自动进样器、柱温箱、Empower 色谱工作站、分析天平、高速离心机、超声波水浴锅、抽滤瓶、过滤头、过滤膜等。

1.2 试剂与标准品

乙腈: 色谱纯; 高氯酸: 优级纯; 磷酸二氢钠: 优级纯; 超纯水: 电阻率 18.2 MΩ

标准物质: 盐酸土霉素: 纯度 96.2%, 购于百灵威化学品部 (美国进口)。

1.3 标准溶液

标准贮备液: 称取上述标准物质 0.0103 g (精确到±0.0001 g), 用 0.1 mol/L 盐酸溶液溶解并定容至 10.00 mL, 此溶液每毫升含土霉素 1.03 mg。

标准使用液: 取标准贮备液 1.00 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 加超纯水至刻度。此溶液每毫升含土霉素 0.103 mg, 临用时现配。

1.4 实验方法

色谱条件:

色谱柱: SunFire-c18, 4.6×150 mm×5 μm 粒径;

检测波长: 276 nm; 柱温: 30 °C±5 °C, 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL

流动相: 流动相配比如下 (表 1):

表 1 流动相配比表

| 时间/min | 流量/(mL/min) | 通道 A | 通道 B |
|--------|-------------|------|------|
| / | 1.00 | 10 | 90 |
| 2 | 1.00 | 10 | 90 |
| 12 | 1.00 | 60 | 40 |
| 14 | 1.00 | 60 | 40 |
| 16 | 1.00 | 10 | 90 |

注: A-乙腈, 色谱纯; B-0.01 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (称取 1.56 g, 精确到±0.01 g, 磷酸二氢钠溶于超纯水中, 定容到 100 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 备用)。

定量方法: 取 20 μL 进样, 根据保留时间定性, 以峰面积计算, 以外标法定量。

1.4.1 样品制备及分析步骤

试样测定^[1]: 称取 5.00 g (±0.01 g) 切碎的肉样, 置于 50 mL 锥形瓶中, 加入 5% 高氯酸 25.0 mL, 于超声水浴中超声 5 min, 移入到离心管中, 以 8000 r/min 高速离心 5 min, 取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 滤液待测。

1.4.2 工作曲线: 分别称取 5 份切碎的肉样, 每份 5.00 g (±0.01 g), 分别加入标准使用液 0 μL、20 μL、50 μL、100 μL、200 μL, 按 1.3.1 方法操作, 根据保留时间定性, 以峰面积为纵坐标, 以土霉素含量为横坐标, 绘制工作曲线, 工作曲线 R=0.9999。标准样品图谱见图 1。

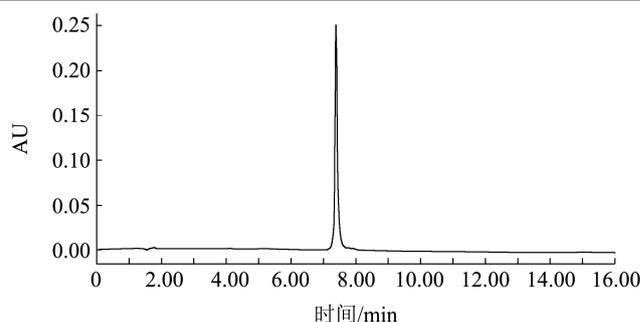


图 1 土霉素标准样品图谱

1.4.3 结果计算

按下式计算: $X=A/m$

式中: X-试样中土霉素含量, mg/kg; A-试样溶液测得土霉素质量, μg; m-试样质量, g。

2 实验结果与讨论

2.1 肉样提取的关键: 肉组织比较复杂, 其中的蛋白质较难分离, 本文采用高氯酸提取 (用其他的酸效果不好) 提取较好, 再经过高速离心, 可较好地去除蛋白质及杂质等物质, 得到进样溶液。

2.2 波长的选择^[2-3]: 通过对土霉素的高氯酸溶液进行 210~400 nm 扫描, 发现在 255~280 nm 和 340~355 nm 之间均有吸收, 在 255~280 nm 之间, 吸收峰较强, 本实验选择 276 nm 作为方法的固定波长。

2.3 标准及样品: 在本方法的实验条件下, 盐酸土霉素标样与原料及杂质得到了很好的分离。

2.4 加标回收率: 向 5 份肉样中分别加入不同量的土霉素标准溶液, 按本法提取、测定并计算回收率, 结果见表 2。

表 2 加标回收率试验结果 (n=5)

| 样品 | 样品中含量/(mg/kg) | 加入量/(mg/kg) | 测得总量/(mg/kg) | 回收率/% |
|----|---------------|-------------|--------------|--------|
| 1 | 0.000 | 0.100 | 0.097 | 96.00 |
| 2 | 0.000 | 0.200 | 0.2001 | 100.05 |
| 3 | 0.000 | 0.400 | 0.395 | 98.75 |
| 4 | 0.000 | 0.800 | 0.802 | 99.88 |
| 5 | 0.000 | 1.000 | 1.002 | 108.2 |

2.5 检出限: 本方法检出限 0.08 mg/kg。

3 结论

实验表明, 本方法加标回收率在 96.0%~108.2% 之间, 线性系数 R=0.9999, 检出限为 0.10 mg/kg, 低于 GB/T5009.116-2003 的检出限, 完全能够满足一般

(下转第 82 页)