

月旭科技肉制品中四环素类抗生素的测定解决方案（部分修改）

1、适用范围

适用于肉制品中土霉素、四环素、金霉素、强力霉素残留量的测定。

2、原理

试样中四环素类抗生素残留用 0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液（pH=4.0±0.05）：甲醇（9:1）提取，经涡旋和离心后，取上层清液，用月旭公司 BRP 固相萃取柱（亲水亲油平衡固相萃取柱）净化，然后用 HPLC 测定，外标法进行定量。

3、试剂

试剂 1：磷酸氢二钠 0.2mol/L：称取十二水合磷酸氢二钠 71.63g，加水溶解，稀释到 1000mL

试剂 2：柠檬酸 0.1mol/L：称取柠檬酸单水合物 21.04g，加水溶解，稀释到 1000mL

试剂 3：移取 625mL 试剂 1 与 1000mL 试剂 2，混匀。

试剂 4：0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine：称取 60.5g 乙二胺四乙酸（EDTA）二钠盐，用试剂 3 溶解并混匀。用 0.1 mol/L 的 HCL 或 NaOH，调节 pH 至 4.0±0.05，4℃保存

试剂 5：Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液：甲醇=（9:1）——提取液

4、提取步骤

称取 5g 已经处理好的猪肉样品，加入 0.5mL 10ug/mL 混标，加入 20mL 提取液，加入 2 颗均质子，涡旋混合 1 min，常温超声 10min，4000r/min 离心 10min，将上

声明:除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-808-6760

邮编：321000

E-mail:guodeyong@welchmat.com

清液转移到 50mL 的容量瓶中，再分别用 15mL、10mL 提取液重复上述提取操作，合并上清液，并用提取液定容到 50mL，转移到离心管中，4000r/min 离心 10min，转移上清液到干净的离心管中，待净化。

5、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom® BRP，规格：200 mg/6mL。

a)活化：5mL 甲醇，5mL 水，弃去

b)上样：移取待净化液 5mL，弃去

c)淋洗：用 5mL 水淋洗小柱，弃去淋洗液，并抽干小柱。

d)洗脱：用 2 mL 甲醇，稍用负压将小柱湿润，再用 20mL 乙酸乙酯洗脱，收集洗脱液，

e)浓缩：将收集的洗脱液在 40 度加热条件下氮吹至近干，大概剩下半滴液体左右，剩下的用氮吹吹干，然后用甲醇复溶并定容到 1 mL，并过 0.22 μ m PTFE 滤膜，上高效液相色谱仪检测。

6、注意事项

(1) 标准是用 0.1 mol/L Na₂EDTA-McIlvaine 进行提取的，但实验效果不佳，后改成 Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液：甲醇=（9:1）

(3) 在过 SPE 小柱的过程中，“活化”和“上样”这两个步骤要注意不要使得小柱干涸，这样会影响小柱的回收率。而在“淋洗”步骤一定要抽干，因为乙酸乙酯和水是不互溶的。

7、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate®Plus-C18 (4.6 x 250 mm, 5 µm)

流动相：A: 0.01 mol/L 草酸溶液 B:乙腈： 甲醇=18:5

洗脱梯度：

时间 min	A: 0.01 mol/L 草酸溶液	B:乙腈： 甲醇=18:5
0	79	21
8	79	21
20	60	40
20.1	79	21
25		

流速：1.0 mL/min

进样量：10 µL

柱温：30 °C

检测波长：350 nm

8、色谱图或者加标回收率结果

声明:除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

邮编：321000

Tel:400-808-6760

E-mail:guodeyong@welchmat.com

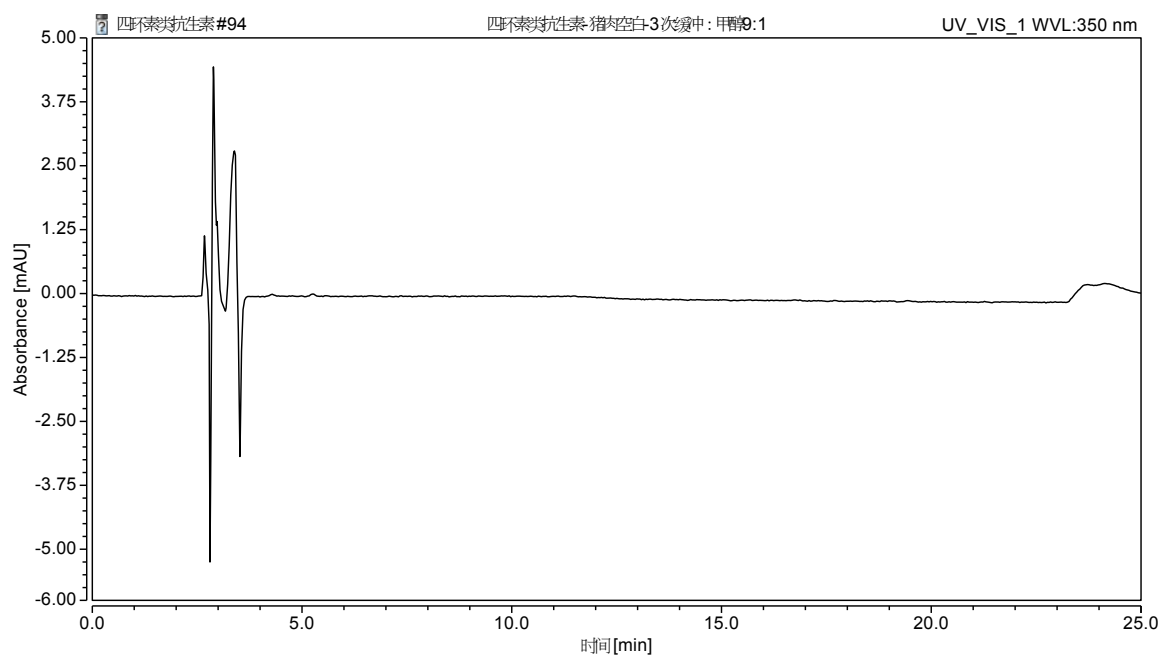


图 1: 猪肉样品色谱图

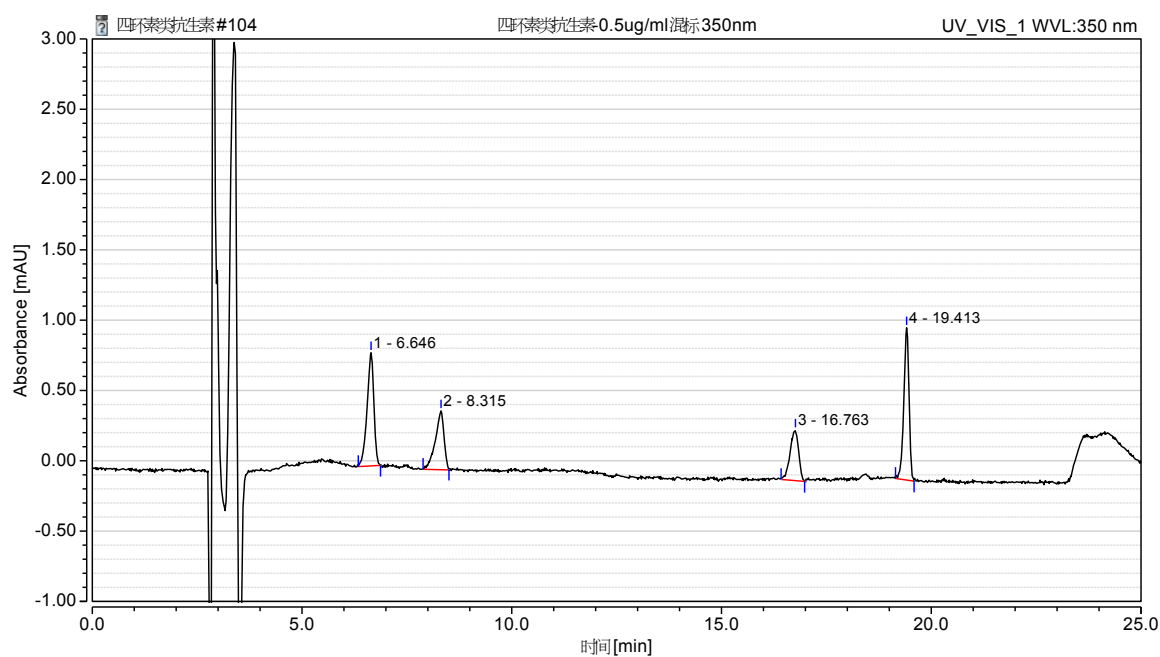


图 2: 对照品 0.5ug/mL 色谱图(从左到右分别是土霉素、四环素、金霉素、强力霉素)

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:guodeyong@welchmat.com

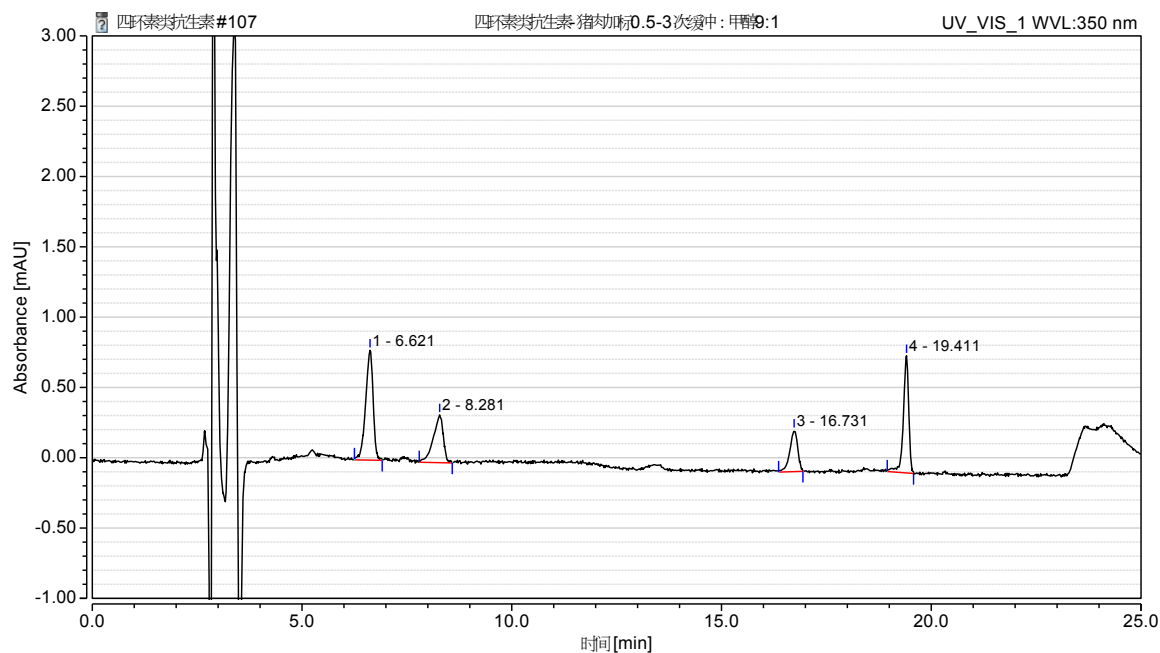


图 3: 猪肉样品加标 0.5ug/mL 图谱

表 1: 加标回收率测定结果

	样品加标 0.5ug/mL	对照品 0.5ug/mL	回收率
土霉素	0.1638	0.151	108%
	0.1616	0.151	107%
	0.1596	0.151	106%
四环素	0.0862	0.0991	87%
	0.0936	0.0991	94%
	0.0889	0.0991	90%
金霉素	0.0665	0.0853	78%
	0.064	0.0853	75%
	0.0659	0.0853	77%
强力霉素	0.1147	0.1578	73%
	0.1244	0.1578	79%
	0.1122	0.1578	71%

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:guodeyong@welchmat.com