

饲料中土霉素的检测

土霉素属于四环素类抗生素，对革兰氏阴性菌和阳性菌均有抑制作用，同时对立克次体、螺旋体及某些原虫亦具有抑制作用。作为饲料添加剂，它有促进动物生长的作用，但长期使用会产生耐药性和药物残留。因此，为了规范饲料及养殖环节中土霉素药物的违规使用，保障人们的餐桌安全及身体健康，选择一个行之有效的方法对饲料中土霉素含量进行监控显得尤为重要。

HPLC 是近几年发展起来的检测土霉素的方法，主要是采用反相分析系统，使用紫外检测器检测，HPLC 方法具有快速、高效、灵敏、定量准确的优点，而且不受样品的沸点、热稳定性和分子量等的限制，已经成为检测土霉素的主要测定方法。

本文根据 GB/T22259-2008《饲料中土霉素的测定高效液相色谱法》，采用日立 Primaide 高效液相色谱仪和紫外检测器，检测仔猪饲料中的土霉素，和其他杂质得到很好的分离，重现性良好。

- 仪器

- 1) 四元梯度泵 PM1110
- 2) 自动进样器 PM1210
- 3) 柱温箱 PM1310
- 4) 紫外检测器 PM1410
- 5) PM 色谱工作站。

- 色谱条件

色谱柱：Hitachi LaChrom C18(5 μ m) 4.6mmI.D.x250mmL

柱温：45 $^{\circ}$ C

流速：1.0 mL/min

检测波长：353nm

进样量：20 μ L

流动相：0.01M 磷酸二氢钠 (pH=3.5) : 乙腈 =86:14

- 溶液制备

称取一定量土霉素标准品于 10ml 容量瓶，用 0.05M 盐酸溶解并定容，作为贮备

液；然后稀释得到浓度为 15 μ g/ml 的标准品溶液，用 0.45 μ m 滤膜过滤，进样测定。

称取 10g 饲料样品于 250mL 具塞锥形瓶中，准确加入 100ml 0.05mol/L 盐酸溶液，超声提取 10min 后静置，取上清液于离心管中，10000 转/分钟离心 5min，用 0.45 μ m 滤膜过滤，进样测定。

● 实验结果

1、标样测定

根据 GB/T22259-2008 的色谱条件，调节乙腈和磷酸缓冲液的比例，在乙腈：缓冲盐=14:86 的条件下，土霉素和杂质峰的分离很好，因此选择该比例进行实验，出峰时间为 9.767min，图 1 为土霉素标样的色谱图。

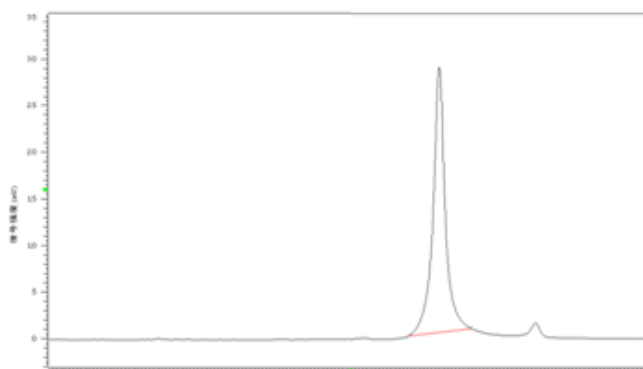


图 1 土霉素标样色谱图

2、检出限

对土霉素标准溶液逐级稀释，进样测定，在信噪比 S/N=3 时得到土霉素的检出限为 0.025 μ g/ml。

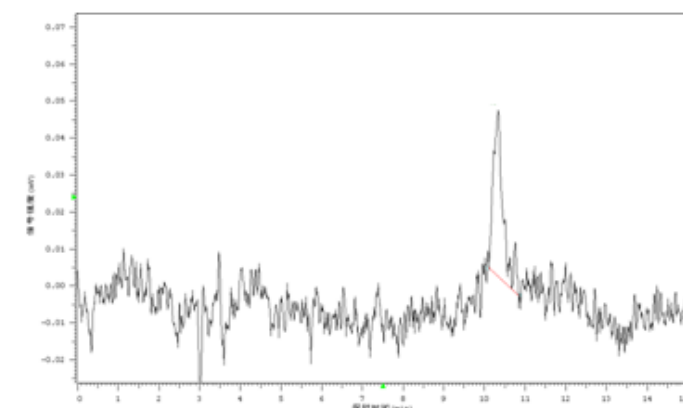


图 2 检出限色谱图

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

3、重复性实验

对土霉素标样溶液重复进样 6 次，6 针峰面积的相对标准偏差为 0.32%，重现性较好，结果见下表：

表 1 土霉素标样 6 针峰面积的重现性

	Rep-1	Rep-2	Rep-3	Rep-4	Rep-5	Rep-6	Average	SD	RSD(%)
Area	665986	665473	662461	667307	665937	661971	664856	2139.76	0.32

4、饲料样品检测

某仔猪饲料经前处理后测定 在 9.767min 未检测到土霉素残留 实验结果见图 3。

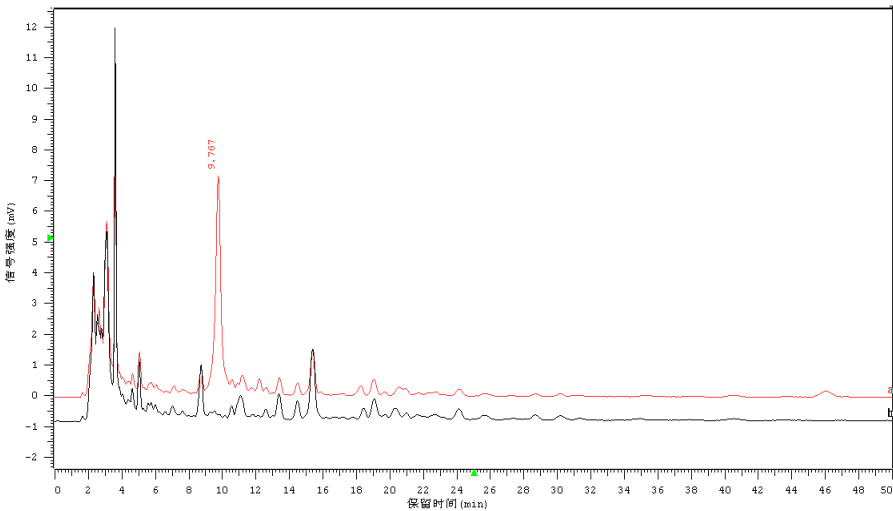


图 3 饲料样品与加标样品重叠色谱图

● 结论

采用日立 Primaide 高效液相色谱仪四元梯度配紫外检测器 在上述色谱条件下，准确测定了土霉素的含量，并和其他杂质得到很好的分离，重现性良好，最低检测限可达到 0.025μg/ml；对饲料样品中该项目进行了检测，未检出残留。该方法简便实用，适用于常规限量检测。