

肉制品检测 HPLC解决方案

目录

第1章	肉制品中人工合成着色剂检测	1
1.1	前言	1
1.2	仪器设备与试剂	2
1.3	实验方法	3
1.4	实验结果	5
1.5	结论	10
1.6	参考文献	10
第2章	肉制品中苯并(a)芘检测	11
2.1	前言	11
2.2	仪器设备与试剂	12
2.3	实验方法	13
2.4	实验结果	14
2.5	参考文献	14
第3章	肉制品中四环素类抗生素检测	15
3.1	前言	15
3.2	仪器设备与试剂	15
3.3	实验方法	16
3.4	实验结果	17
3.5	结论	20
第4章	肉制品中药物残留检测	21
4.1	前言	21
4.2	肉制品中氯霉素残留分析实例	21
4.3	肉制品中呋喃唑酮残留分析实例	21
4.4	肉制品中呋喃它酮残留分析实例	22

第1章 肉制品中人工合成着色剂检测

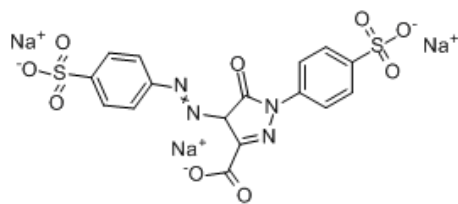
1.1 前言

1.1.1 什么是人工合成着色剂

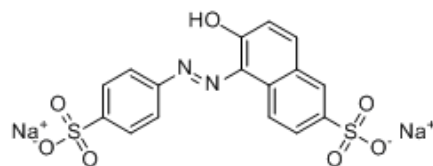
人工合成着色剂主要以苯、甲苯等化工产品为原料，经过磺化、硝化、卤化、偶氮化等一系列有机反应而制得的人工色素。合成着色剂能有效改善食品色泽，被广泛应用于食品加工中，中国食品添加剂使用卫生标准列入的合成色素主要有胭脂红、苋菜红、日落黄、赤藓红、柠檬黄、新红、靛蓝、亮蓝等等。

1.1.2 合成着色剂的性质

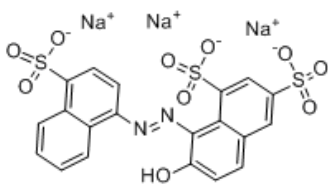
合成着色剂可分为偶氮类和非偶氮类两种结构。在酸碱条件下，两种结构的合成着色剂均稳定。按着色剂的溶解性可分为脂溶性着色剂和水溶性着色剂，脂溶性着色剂由于不溶于水，在体内不易排出，毒性较大等原因，在食品行业已经不允许添加，现在世界各国使用的合成着色剂大部分为水溶性偶氮类着色剂。



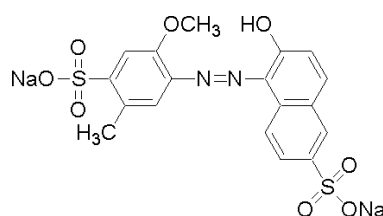
柠檬黄



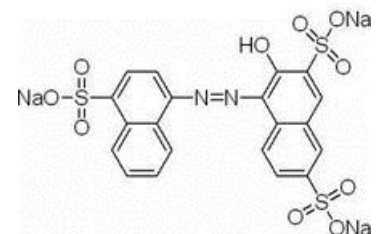
日落黄



胭脂红



诱惑红



苋菜红

1.1.3 合成着色剂的毒性

在肉制品生产中，着色剂虽然可以改变肉制品的色泽，增加消费者的购买欲和食欲，然而它也可以掩盖肉制品中不新鲜原料肉，成为不法销售者获取非法利益的手段。合成着色剂少量食用可经肝肾代谢排出体外，但是若长期或一次性大量食用色素含量超标的食品，可能会引起过敏、腹泻等症状，因而各国都严格控制合成着色剂的使用范围和使用量。肉制品中柠檬黄、日落黄、苋菜红、胭脂红着色剂被列为禁用，而诱惑红限用于西式火腿类、肉灌肠类和可食用动物肠衣类食品。

本实验参考 GB/T 9695.6-2008《肉制品 胭脂红着色剂测定》以及 GB2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》，采用依利特公司生产的高效液相色谱仪，对着色剂标准品，线性以及加标回收率等进行检测方法验证，并且检测实际肉制品中柠檬黄、胭脂红、日落黄、苋菜红、诱惑红的添加情况。

1.2 仪器设备与试剂

表1-1 肉制品中着色剂的检测HPLC系统标准配置

序号	名称	数量
1	UV3100 紫外-可见检测器	1 台
2	P3100 高压恒流泵	2 台
3	S3100 自动进样器(选配)	1 台
4	O3100 色谱柱恒温箱	1 台
5	M3100 溶剂管理器	1 台
6	TD-1-15 型梯度混合器	1 个
7	色谱数据工作站	1 套
8	Supersil ODS2 5 μm 4.6×250mm	1 支

注：或同等配置的其他型号高效液相色谱仪。

表1-2 肉制品中着色剂检测所需试剂

序号	试剂	纯度
1	甲醇	色谱纯
2	乙酸铵	分析纯
3	纯化水	自制
4	石油醚	分析纯
5	氨水	分析纯
6	甲酸	分析纯
7	无水乙醇	分析纯
8	SPE柱	PA-1500mg/6mL
9	柠檬黄、胭脂红、日落黄、苋菜红、诱惑红	标准品

表1-3 肉制品前处理所需设备

序号	名称
1	涡旋混合器
2	分析天平
3	均质机
4	离心机
5	氮吹仪
6	固相萃取仪

实验过程中其它玻璃器皿还包括棕色容量瓶（50mL、100mL）、移液枪（0~1000 μ L）、移液枪枪头（1mL、5mL）、一次性PVC手套、一次性口罩、50mL塑料离心管、10mL塑料离心管等若干。

1.3 实验方法

1.3.1 试剂及相关溶液配制

0.02mol/L 乙酸铵溶液：称取 1.54g 乙酸铵样品于 1000mL 水中充分溶解后，然后 0.45 μ m 滤膜过滤后备用。

甲醇-甲酸溶液：量取甲醇60mL，甲酸40mL，混合均匀即得。

乙醇-氨水溶液：量取无水乙醇70mL，氨水溶液20mL、水10mL，混合均匀即得。

5%氨化甲醇溶液：取氨水 5mL，加入甲醇至 100mL 即得。

混标储备液：准确称取柠檬黄、胭脂红、日落黄、苋菜红、诱惑红标准品各 10mg，至 100mL 容量瓶中，用水溶解后定容即得 100 μ g/mL 的混标溶液。

标准混合工作液：移取不同体积的混标溶液，用流动相稀释，得到的浓度分别为 100 μ g/mL、50 μ g/mL、40 μ g/mL、20 μ g/mL、10 μ g/mL、5 μ g/mL、1 μ g/mL。

1.3.2 样品前处理

- 1) 将切碎的肉样，用打肉机将肉搅成糊状，并用均质机对肉制品进行均质化后，精密称取一定量的样品2.0g(精确至0.01g)，置于50mL离心管中，加入20mL石油醚，涡旋1min后，5000r/min离心5min，弃去石油醚上清液，重复操作一次。
- 2) 氮气吹干剩余石油醚，加入5mL乙醇氨涡旋1min，超声30min，以10000r/min的速度离心5min，移取上清液至10mL离心管中，重复操作一次，合并上清液。
- 3) 上清液75℃下氮气吹至2mL左右，水洗转移至10mL离心管中，用柠檬酸调节PH值至6左右，取8mL样品上SPE小柱待净化。

SPE 小柱的活化：聚酰胺 PA-1 (6mL/500mg) 经 5mL 甲醇和 5mL 纯化水活化后，上样。

上样和洗脱：先用 2ml 纯化水冲洗，然后用 2mL 甲醇-甲酸溶液冲洗，抽干小柱，用 5mL 5% 的氯化甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，于 65℃ 条件下氮气吹干后，用 1mL 流动相溶解定容后，经 0.45 μm 滤膜过滤，取溶液 10 μL 进样。

1.3.3 色谱条件

流动相A：0.02mol/L乙酸铵溶液，流动相B：甲醇；梯度洗脱

色谱柱：Supersil ODS2 5 μm 4.6×250mm

柱温：35℃

流量：1.0mL/min

进样体积：10 μL

表1-4 梯度表

时间/min	A%	B%
初始的	80	20
6	65	35
15	40	60
20	80	20
30	80	20

表1-5 时间波长程序表

时间/min	保留时间	检测波长/nm
0	6.7	428
6.7	2.5	521
9.2	2.5	483
11.7	2.5	500
14.2	5.0	507

1.4 实验结果

1.4.1 着色剂标准品分析结果

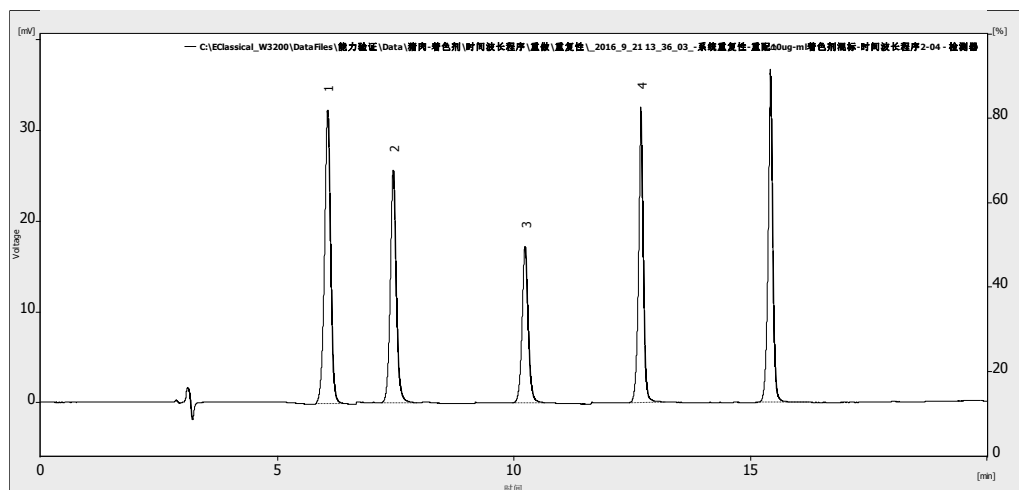


图1-1 人工合成色素混合标准品分离色谱图 (10 μ g/mL)

1.柠檬黄; 2.苋菜红; 3.胭脂红; 4.日落黄; 5.诱惑红

表1-6 着色剂标准品分析色谱参数

物质	保留时间 (min)	峰高/mAU	拖尾因子	分离度
柠檬黄	6.082	32.289	0.966	---
苋菜红	7.468	25.660	1.071	6.310
胭脂红	10.253	17.228	1.079	12.887
日落黄	12.705	32.520	0.962	12.016
诱惑红	15.443	36.736	0.964	14.573

1.4.2 系统重复性

10.0 μg/mL的着色剂的混标工作液，连续进样7针，得到的色谱图和数据如下：

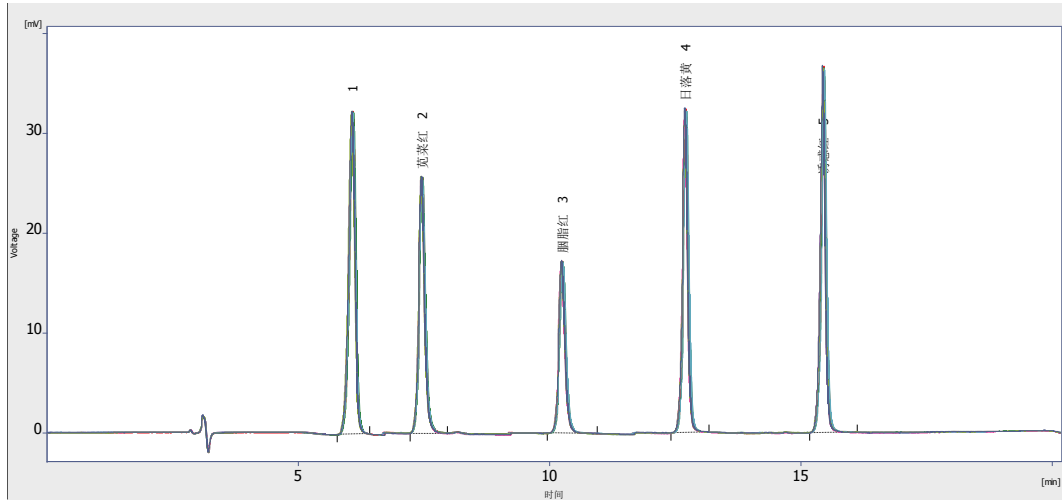


图1-2 系统重复性叠加谱图 (n=7)

表1-7 系统重复性参数表

编号	柠檬黄/min	苋菜红/min	胭脂红/min	柠檬黄/min	诱惑红/min
1	6.075	7.463	10.251	12.703	15.44
2	6.092	7.479	10.269	12.723	15.466
3	6.099	7.485	10.277	12.731	15.468
4	6.082	7.468	10.253	12.705	15.443
5	6.074	7.461	10.246	12.699	15.44
6	6.088	7.481	10.276	12.733	15.474
7	6.067	7.458	10.249	12.702	15.443
平均值	6.082	7.471	10.260	12.714	15.453
RSD%	0.19	0.14	0.13	0.12	0.10

从各目标化合物连续七针的保留时间结果知道，系统的重复性良好，可以保证数据的重复性和准确性。

1.4.3 标准品线性相关性

配制浓度分别为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.4 $\mu\text{g/mL}$ 、0.8 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 、8.0 $\mu\text{g/mL}$ 、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 的着色剂的混标工作液，按浓度由低至高进样，以标准品浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，着色剂的标准溶液线性相关性结果如下。

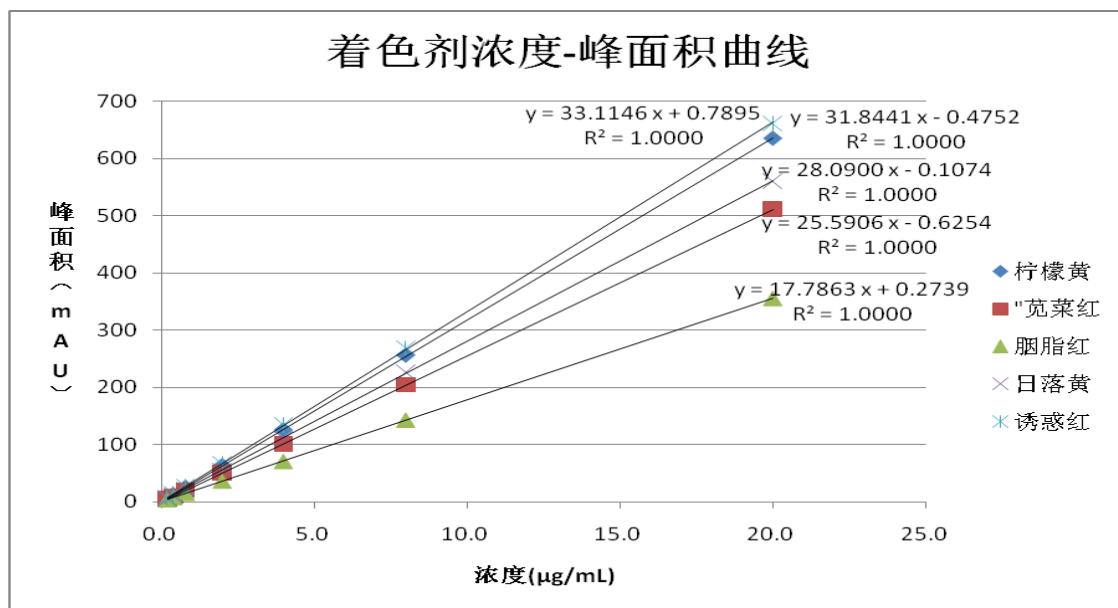


图 1-3 着色剂标准溶液浓度-峰面积校准曲线（时间波长程序）

表 1-8 着色剂标准溶液的线性参数表

标准品	线性浓度范围	线性相关系数 (R)	线性方程
柠檬黄	0.2~20 $\mu\text{g/mL}$	1.0000	$y = 31.8441x - 0.4752$
苋菜红	0.2~20 $\mu\text{g/mL}$	1.0000	$y = 25.5906x - 0.6254$
胭脂红	0.2~20 $\mu\text{g/mL}$	1.0000	$y = 17.7863x + 0.2739$
日落黄	0.2~20 $\mu\text{g/mL}$	1.0000	$y = 28.0900x - 0.1074$
诱惑红	0.2~20 $\mu\text{g/mL}$	0.9999	$y = 33.1146x + 0.7895$

图 1-3 和表 1-8 结果表明，这 5 种色素在 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 至 20.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，仪器检测具有良好的线性相关性。

1.4.4 最小检出限

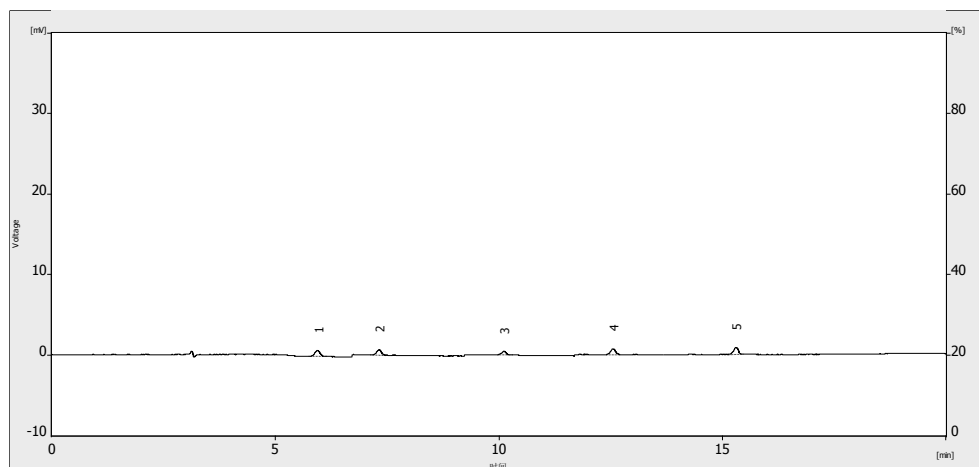


图1-4 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 着色剂混标溶液

本系统的基线噪声为 $25\mu\text{V}$ ，根据3倍信噪比，仪器的最小检出限分别为柠檬黄 20ng/mL ，苋菜红 22ng/mL ，胭脂红 33ng/mL ，日落黄 20ng/mL ，诱惑红 17ng/mL 。根据前处理方法计算，各目标物的方法检出限分别为柠檬黄 $12.5\mu\text{g/kg}$ ，苋菜红 $13.8\mu\text{g/kg}$ 胭脂红 $20.6\mu\text{g/kg}$ ，日落黄 $12.5\mu\text{g/kg}$ ，诱惑红 $10.6\mu\text{g/kg}$ 。

表1-9 肉制品中个着色剂的的检出限表

检出限	柠檬黄	苋菜红	胭脂红	日落黄	诱惑红
仪器检出限 (ng/mL)	20.0	22	33.0	20.0	17
方法检出限 ($\mu\text{g/kg}$)	12.5	13.8	20.6	12.5	10.6

1.4.5 加标回收率

采用方法中描述的前处理过程,对空白、猪肉样品以及加标样品进行处理后,采集数据,并计算所对应的加标回收率结果见表 1-10。

表 1-10 测得的样品峰面积数据

加标浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	样品峰面积 (mAU.sec)				
	柠檬黄	苋菜红	胭脂红	日落黄	诱惑红
空白	0	0	0	0	0
猪肉	0	0	0	0	0
5 $\mu\text{g/mL}$ 加标	66.288	46.916	33.491	56.045	67.897
回收率 (%)	91.4	87.5	92.5	90.3	105.9
10 $\mu\text{g/mL}$ 加标	113.604	90.941	67.688	120.562	134.535
回收率 (%)	79.7	83.6	89.9	98.9	98.5

1.4.6 实际样品分析

按照上述方法对市场上的几种肉制品中着色剂的含量情况分析结果如下:

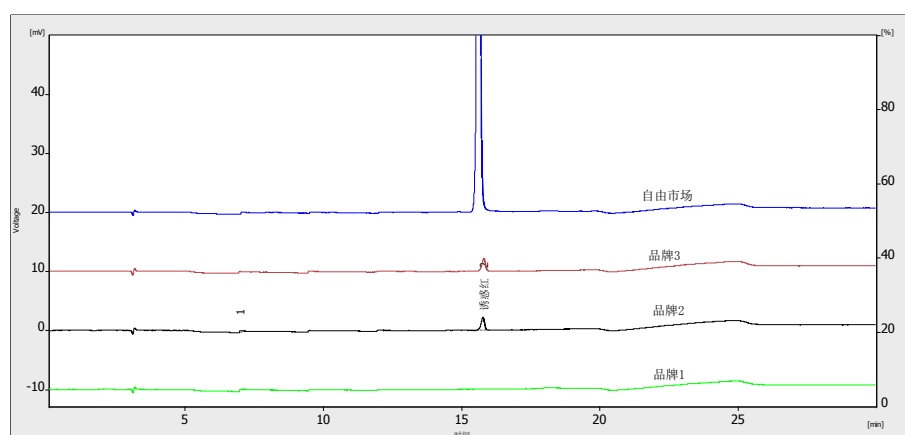


图1-5 市售肉制品着色剂含量色谱图

(绿色-品牌1午餐肉, 黑色-品牌2骨汤火腿, 红-品牌3熏烤火腿, 蓝-自由市场烤肠)

根据前处理方法，计算得到的各肉制品中着色剂的含量见表1-11：

表1-11 肉制品中着色剂含量表

样品	含量 (µg/g)				
	柠檬黄	苋菜红	胭脂红	日落黄	诱惑红
品牌1午餐肉	0	0	0	0	0
品牌2骨汤火腿	0	0	0	0	0.80
品牌3熏烤火腿	0	0	0	0	0.74
自由市场烤肠	0	0	0	0	30.56

1.5 结论

采用依利特公司 EClassical 3100 高效液相色谱仪，参考 GB/T 9695.6-2008《肉制品 胭脂红着色剂测定》以及 GB 5009.35-2016《食品中合成着色剂的测定》并对实验条件做进一步优化后，对合成着色剂标准品以及市售肉制品进行检测，检测结果表明该系统线性良好，并且仪器灵敏度高、定性和定量准确，良好的仪器精密度，完全能满足肉制品中着色剂的含量测定。

1.6 参考文献

[1]GB 5009.35-2016《食品安全国家标准 食品中合成着色剂的测定》

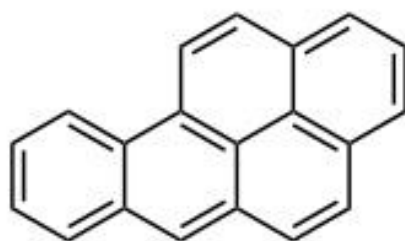
[2]GB/T 9695.6-2008《肉制品 胭脂红着色剂测定》

[3]GB 2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》

第2章 肉制品中苯并(a)芘检测

2.1 前言

苯并芘又称苯并(a)芘(Benzoapyrene), 英文缩写 BaP, 化学式: $C_{20}H_{12}$, 由一个苯环和一个芘分子稠合而成的多环芳烃类化合物, 是一种常见的高活性间接致癌物, 具有强烈的致癌作用, 苯并芘在工业上无生产和使用价值, 一般只作为生产过程中形成的副产物随废气排放。苯并芘被确认为是第一个化学环境致癌物。



苯并芘分析结构式

苯并芘在环境中存在广泛, 来源主要有两个方面: 一是工业生产和生活过程中煤炭、石油和天然气等燃料不完全燃烧产生的废气, 包括汽车尾气、橡胶生产以及吸烟产生的烟气等, 通过对水源、大气和土壤的污染, 可以进入到蔬菜、水果、粮食、水产品和肉类等人类赖以生存的食物中; 二是食物在熏制、烘烤和煎炸过程中, 脂肪、胆固醇、蛋白质和碳水化合物等在高温条件下会发生热裂解反应, 再经过环化和聚合反应就能够形成包括苯并芘在内的多环芳烃类物质, 尤其是当食品在烟熏和烘烤过程中发生焦糊现象时, 苯并芘的生成量将会比普通食物增加 10~20 倍。

目前, 由食品污染所导致的疾病已成为全世界最为广泛关注的卫生问题之一, 其中食品污染问题中苯并芘的污染又最为常见和广泛。因此, 清楚认识和了解苯并芘, 并采取有效检测方法及防治措施来减少其危害便成为刻不容缓的问题。

为满足对肉类食品中苯并芘的检测需要, 依利特公司结合食品安全国家标准《GB/T 5009.27-2015 食品中苯并(a)芘的测定》中的检测方法及《GB 2762-2005 食品中污染物限量》中的相关标准, 提出了肉类食品中苯并芘的全套解决方案, 包括前处理设备、试剂、前处理方法直至到液相色谱方法。相关人员可参考本实验中的方法, 进行肉类食品中苯并芘的检测。

2.2 仪器设备与试剂

表2-1 设备标准配置

序号	名称	数量
1	荧光检测器	1台
2	P3100高压恒流泵	1台
3	S3100自动进样器（选配）	1台
4	O3100色谱柱恒温箱	1台
5	7725i手动进样阀	1个
6	色谱数据工作站	1套
7	AD适配器	1台
8	SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 \times 150mm	1支

表2-2 所需试剂

序号	试剂	纯度
1	甲醇	色谱纯
2	无水硫酸钠	分析纯
3	苯	分析纯
4	环己烷	分析纯
5	二甲基甲酰胺	分析纯
6	氧化铝	中性
7	硅镁型吸附剂	60~100目
8	去离子水	18.2M Ω
9	苯并芘标准品	TCI(上海)

表2-3 主要前处理设备

序号	名称
1	脂肪提取器
2	层析柱
3	紫外灯
4	氮吹仪
5	旋转蒸发仪
6	漩涡混合器

实验过程中其它玻璃器皿还包括容量瓶(100mL、50mL、25mL、10mL)、具塞锥形瓶(250mL)、移液枪(0~1000 μ L, 0~5000 μ L)、移液枪枪头(1mL, 5mL)、分液漏斗(250mL、500mL)一次性PVC手套、一次性口罩、进样针、滤膜、玻璃棉等若干。

2.3 实验方法

2.3.1 标准溶液配制

苯并芘标准储备液（100mg/L）：准确称取5.0 mg苯并芘样品（精确到0.1mg）至50mL容量瓶中，用甲醇溶解定容。

苯并芘标准工作液：用流动相稀释苯并芘标准储备液分别配置浓度为0.1 μ g/L, 0.4 μ g/L, 2.0 μ g/L, 5.0 μ g/L, 10 μ g/L, 20 μ g/L的苯并芘标准工作液。

2.3.2 样品前处理

2.3.2.1 提取

称取50.0g切碎混匀的试样，用无水硫酸钠搅拌（试样与无水硫酸钠的比例为1:1或1:2，如水分过多中则需在60 $^{\circ}$ C左右先将试样烘干），装入滤纸筒内，然后将脂肪提取器接好，加入100mL环己烷于90 $^{\circ}$ C水浴上回流提取6~8h，提取液倒入250mL分液漏斗中，用6~8mL环己烷淋洗纸筒，洗液合并于250mL分液漏斗中，以环己烷饱和过的二甲基甲酰胺提取三次，每次40mL，振荡1min，合并二甲基甲酰胺提取液，用40mL经二甲基甲酰胺饱和过的环己烷提取一次，弃去环己烷层。二甲基甲酰胺提取液合并于预先装有240mL硫酸钠溶液（20g/L）的500mL分液漏斗中，混匀，静置数分钟后，用环己烷提取两次，每次100mL，振荡3min，环己烷提取液合并于第一个500mL分液漏斗中。

2.3.2.2 净化

- 于层析柱下端填入少许玻璃棉，先装入 5~6cm 的氧化铝，轻轻敲管壁使氧化铝层填实，无缝隙，顶面平齐，再同样装入 5~6cm 的硅镁型吸附剂，上面再装入 5~6cm 无水硫酸钠，用 30mL 正己烷淋洗装好的层析柱，待环己烷液面流下至无水硫酸钠层时关闭活塞。

- 将试样环己烷提取液倒入层析柱中，打开活塞，调节流速为每分钟 1mL，必要时可用适当方法加压，待环己烷液面下降至无水硫酸钠层时，用 30mL 苯洗脱，此时应在紫外灯下观察，以蓝紫色荧光物质完全从氧化层洗下为止，如 30mL 苯不足时，可适当增加苯量。收集苯液于 50~60 $^{\circ}$ C 旋蒸或氮吹至干，然后再用 1mL 甲醇溶解，涡旋 30s 后，过滤即得。

2.3.3 色谱条件

流动相：甲醇/水=90/10(V/V)

色谱柱：SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 \times 150mm

流速：1.0mL/min

进样量：20 μ L

柱温：35 $^{\circ}$ C

波长：激发 290nm，发射 430nm

2.4 实验结果

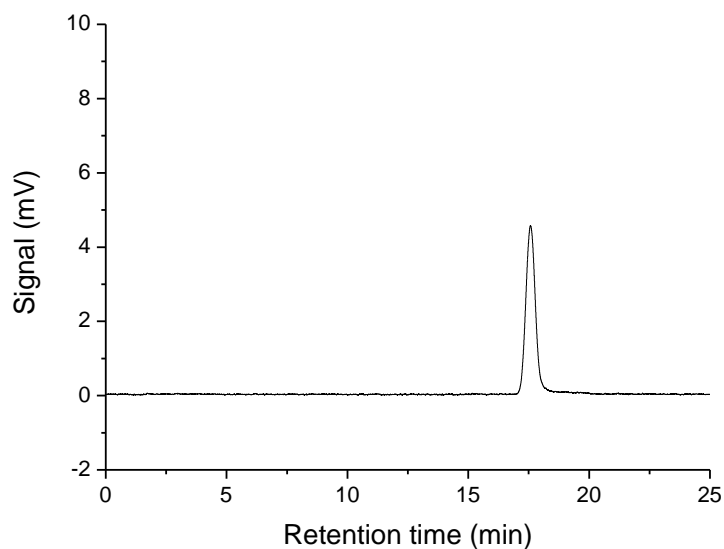


图2-1 苯并芘标准品色谱图

2.5 参考文献

[1]GB 5009.35-2016 《食品安全国家标准 食品中合成着色剂的测定》

[2]GB/T 9695.6-2008 《肉制品 胭脂红着色剂测定》

[3]GB 2760-2014 《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》

第3章 肉制品中四环素类抗生素检测

3.1 前言

四环素类抗生素主要包括土霉素、金霉素和四环素，此类抗生素具有广谱抗生活性，有良好的杀菌抑菌作用，不仅对革兰氏阳性，革兰氏阴性和支原体，甚至对立克次体和衣原体之类的微生物都有活性。因此四环素类抗生素作为一种饲料添加剂大量而广泛地用于畜禽养殖业，但是这类药物长期使用就会在动物体内累积，从而在动物性食品中残留，若长期食用这些动物性食品及其制品就会危害人类的身体健康。

本实验参考 GB/T5009.116-2003《畜、禽肉中土霉素、四环素、金霉素残留量的测定（高效液相色谱法）》，采用依利特公司生产的高效液相色谱仪，对四环素类抗生素标准品，加标线性以及实际样品等实验进行检测方法验证，并随机在大连肉制品市场购买了若干品牌以及自由市场的猪肉制品进行考察，检测市售猪肉中土霉素、金霉素、四环素的残留情况。

3.2 仪器设备与试剂

表3-1 猪肉中四环素类抗生素的检测HPLC系统标准配置

序号	名称	数量
1	UV3100紫外-可见检测器	1台
2	P3100高压恒流泵	1台
3	S3100自动进样器(选配)	1台
4	7725i手动进样阀	1个
5	O3100色谱柱恒温箱	1台
6	3100系统工具包	1台
7	色谱数据处理工作站	1套
8	SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 \times 250mm	1支

注：或同等配置的其他型号高效液相色谱仪。

表3-2 猪肉中四环素类抗生素检测所需试剂

序号	试剂	纯度
1	乙腈	色谱纯
2	磷酸二氢钠	分析纯
3	硝酸（35~37%）	分析纯
4	纯化水	自制

表3-3 猪肉样品前处理配置

序号	名称
1	涡旋混合器
2	离心机

实验过程中其它玻璃器皿还包括棕色容量瓶(50mL、100mL)、移液枪(0~1000 μ L)、移液枪枪头(1mL)、一次性PVC手套、一次性口罩、50mL塑料离心管、10mL塑料离心管、进样针等若干。

3.3 实验方法

3.3.1 试剂及相关溶液配制

0.01mol/L的磷酸二氢钠水溶液：称取磷酸二氢钠1.56g，溶于100mL水，经0.45 μ m的微孔滤膜过滤后备用。

土霉素标准溶液：称取土霉素10mg，用0.1mol/L的盐酸溶液溶解并定容至10mL，此溶液含有土霉素的浓度为1mg/mL。

四环素标准溶液：称取四环素10mg，用0.01mol/L的盐酸溶液溶解并定容至10mL，此溶液含有土霉素的浓度为1mg/mL。

金霉素标准溶液：称取土霉素10mg，用纯化水溶解并定容至10mL，此溶液含有土霉素的浓度为1mg/mL。

混合标准溶液：量取四环素标准溶液1mL，土霉素标准溶液1mL，金霉素标准溶液2mL于10ml容量瓶中，加纯化水至刻度即得，现用现配。

3.3.2 样品前处理

● 试样测定

称取5.00g切碎的肉样置于50mL锥形瓶中，加入5%的高氯酸25mL，于振荡器上振荡提取10min，移入离心管中，以2000r/离心3min，取上清液经0.45 μ m滤膜过滤，取溶液10 μ L进样，记录峰高，从工作曲线上查的含量。

● 工作曲线

分别称取7份切碎肉样，每份5.00g（精确到0.01），分别加入混合标准溶液0、25、50、100、150、200、250 μ L（含土霉素、四环素各为0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0 μ g，含金霉素为0、5.0、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0 μ g），按照试样测定方法，以峰高为纵坐标，以抗生素含量为横坐标，绘制工作曲线。

3.3.3 色谱条件

流动相：乙腈/磷酸二氢钠缓冲溶液=27/73

色谱柱：SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 \times 250mm

流量：1.0mL/min

检测波长：355nm

进样体积：20 μ L

柱温：30 $^{\circ}$ C

3.4 实验结果

3.4.1 典型分析谱图

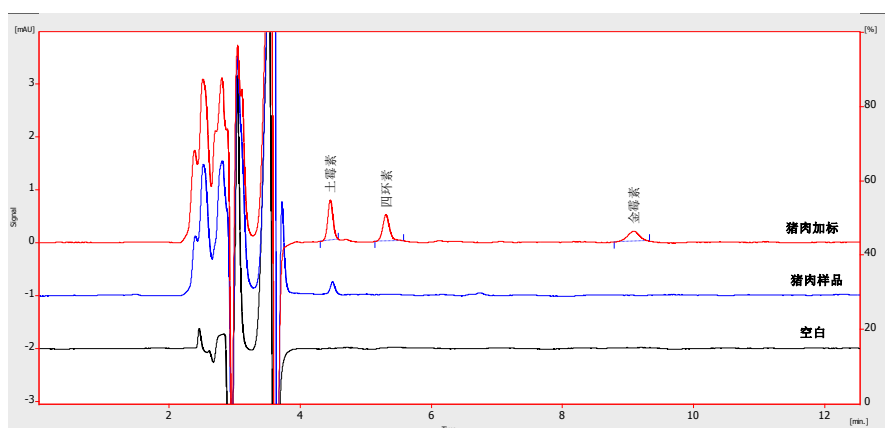


图3-1 空白、猪肉样品、样品加标叠加谱图

表3-4 四环素类标准品分析色谱参数

物质	保留时间 (min)	拖尾因子	分离度
土霉素	4.408	1.18	1.4
四环素	5.239	1.13	3.5
金霉素	8.961	0.96	11.0

3.4.2 线性

3.4.2.1 标准品线性

配制浓度分别为 0.1 μg/mL、0.2 μg/mL、0.4 μg/mL、0.8 μg/mL、1.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL 的四环素类抗生素的混标工作液，按浓度由低至高进样，以标准品浓度为横坐标，峰高为纵坐标，绘制校准曲线，四环素类抗生素的标准溶液线性相关性结果如下。

表 3-5 四环素类抗生素标准溶液的线性参数表

物质	线性方程	相关系数
土霉素	$y = 5.8641x - 0.5381$	0.9999
四环素	$y = 4.8635x - 0.6172$	0.9999
金霉素	$y = 1.0541x - 0.4349$	0.9996

所以土霉素、四环素、金霉素在 0.1 μg/mL 至 10.0 μg/mL 浓度范围内，仪器检测具有良好的线性相关性，相关系数 R 大于 0.999。

3.4.2.2 加标线性

以加标浓度为横坐标，样品加标峰高为纵坐标，绘制校准曲线，得到的线性曲线和方程如下。

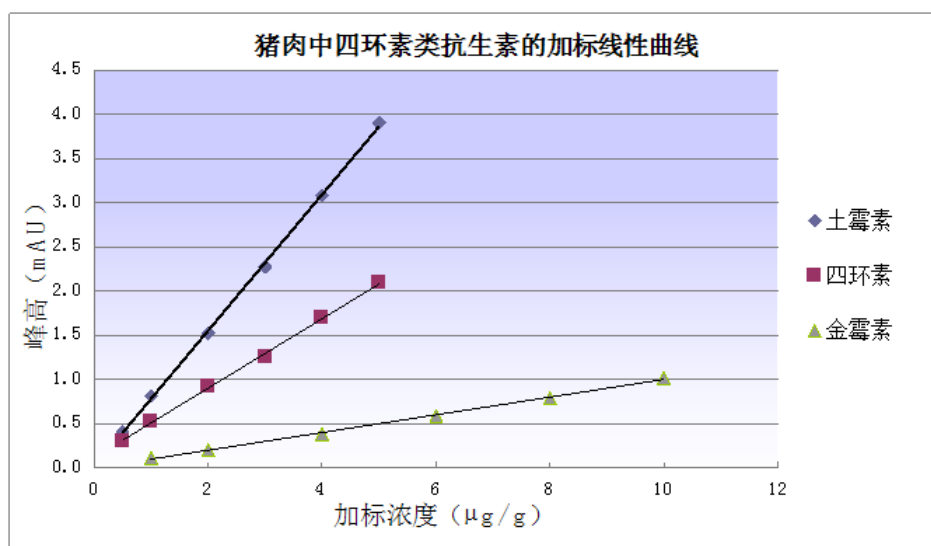


图 3-2 猪肉中四环素类抗生素加标线性曲线

表 3-6 四环素类抗生素加标线性参数表

标准品	加标浓度范围	线性相关系数 (r)	线性方程
土霉素	0.05~5 μg/mL	0.9996	$y = 0.7701x + 0.00126$
四环素	0.05~5 μg/mL	0.9994	$y = 0.3928x + 0.1169$
金霉素	0.1~10 μg/mL	0.9991	$y = 0.1003x - 0.0009$

3.4.3 检出限

表 3-7 四环素类抗生素分析的仪器检出限与定量限

标准品	仪器检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	仪器定量限 ($\mu\text{g/mL}$)	方法检出限 (mg/kg)	方法定量限 (mg/kg)
土霉素	0.007	0.032	0.035	0.16
四环素	0.008	0.036	0.04	0.18
金霉素	0.05	0.111	0.25	0.56

3.4.4 方法准确性

根据加标线性结果, 计算加标回收率, 其中每个加标平行两个样品, 回收率在 90%~110% 之间。

3.4.5 方法重复性

同一份猪肉样品, 平行处理 3 次, 计算猪肉中四环素类抗生素含量的 RSD 值, 具体结果如表 3-8 所示。

表 3-8 猪肉中四环素类抗生素分析重复性结果 (n=3)

No		1	2	3	RSD
含量 (mg/kg)	土霉素	0.227	0.243	0.231	6.81%
	四环素	未检出	未检出	未检出	---
	金霉素	未检出	未检出	未检出	---

3.4.6 实际样品分析

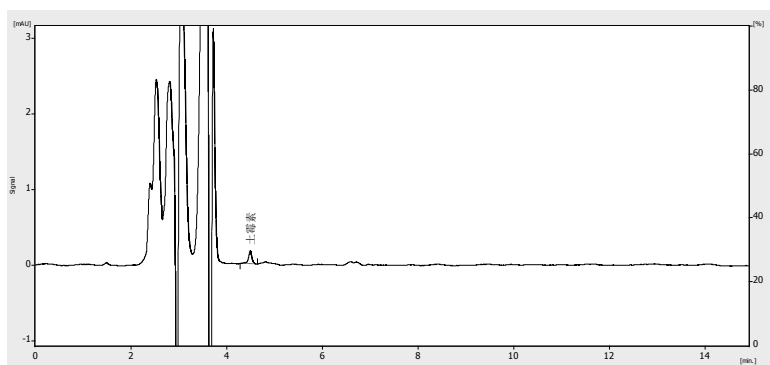


图 3-3 猪肉样品中四环素类抗生素的分析谱图

该猪肉中检测出土霉素, 其含量为 0.2mg/kg , 超过了国家规定 0.1mg/kg 的标准。因此人们日常生活中还是要从正规渠道购买品牌肉制品, 不要随意在一些无证照的市场购买生鲜肉制品。

3.5 结论

采用依利特公司 EClassical 3100 高效液相色谱仪，按照 GB/T5009.116-2003《畜、禽肉中土霉素、四环素、金霉素残留量的测定（高效液相色谱法）》方法检测，检出限分别为土霉素 0.035mg/kg、四环素 0.04mg/kg、金霉素 0.25mg/kg，线性关系良好，线性相关系数均在 0.999 以上，回收率在 90%~110%之间。因此，该方法灵敏度高、定性和定量准确，并且具有非常好的精密度，能满足肉制品中四环素类抗生素残留痕量检测的需求。

第4章 肉制品中药物残留检测

4.1 前言

现代化的畜禽喂养过程中，必须防止由于病毒、细菌、真菌导致的各种疾病。为防止和控制这类疾病，畜禽企业普遍使用抗生素类药物。动物服用了这类药物，会在体内残留，进而危害人类的健康。

食用含有药物残留的食品，使人类的健康受到了极大的威胁，引起了世界各国的关注。因此，对食品中药物残留的问题，必须加以检测，以保证食品安全。

4.2 肉制品中氯霉素残留分析实例

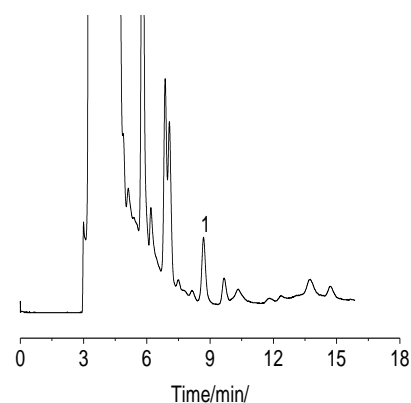
流动相：甲醇/水=48/52

色谱柱：Supersil ODS2 5 μ m 4.6 \times 250mm

流速：1mL/min

检测波长：UV270nm

进样量：20 μ L



4.3 肉制品中呋喃唑酮残留分析实例

流动相：乙腈/水=25/75

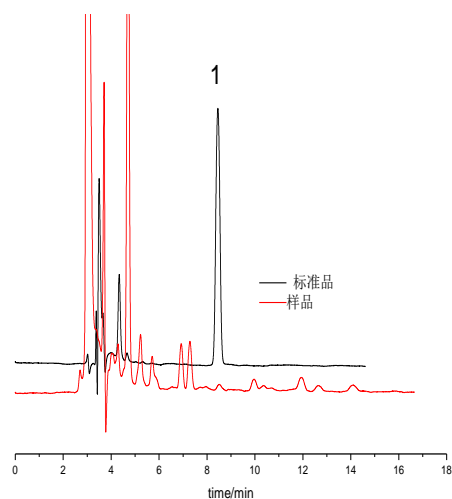
色谱柱：Supersil ODS2 5 μ m 4.6 \times 250mm

流速：1mL/min

检测波长：UV367nm

进样量：20 μ L

1.呋喃唑酮



4.4 肉制品中呋喃它酮残留分析实例

流动相：乙腈/0.1%磷酸水溶液=10/90

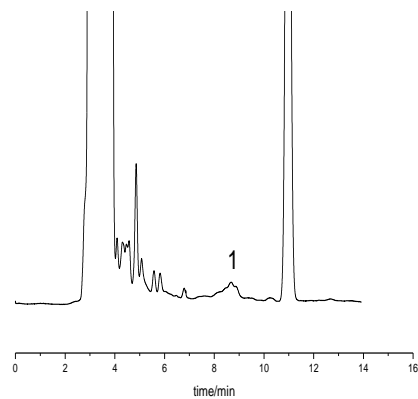
色谱柱：Supersil ODS2 5 μ m 4.6 \times 250mm

流速：1mL/min

检测波长：UV361nm

进样量：20 μ L

1.呋喃它酮



大连公司

公司地址：高新园区七贤岭学子街 2-2 号
公司电话：0411-84753333(总机)-转销售部
公司传真：0411-84732323
客服电话：400-66-35483
公司网址：<http://www.eliteHPLC.com>



苏州公司

苏州工业园区金鸡湖大道 99 号苏州纳米城西北区 14 栋 501
电话：0512-67997572

北京办事处

地址：北京市朝阳区汤立路 201 号东亚奥北中心南区 4 号楼 2 单元 2307 室
电话：13624984285

济南办事处

地址：山东省济南市历下区奥体西路 1222 号力高国际 10 楼 1-1816 室
电话：18842689516

上海办事处

地址：徐汇区梅陇路 130 号华东理工大学实验四楼 204 室
电话：15140566435

武汉办事处

地址：武汉市洪山区鸿桂苑东区 1 栋 1 单元 2501
电话：18842683216

南京办事处

地址：江苏省南京市建邺区云锦路 45 号万达东坊 14 幢 608 室
电话：13951643881

厦门办事处

地址：厦门市集美区鱼福三里 383 号 127 单元
电话：18842685196

西安办事处

地址：陕西省西安市西稍门十字西南角柠檬宫舍 11505 室
电话：18842681836

广州办事处

地址：广州市白云区东兴二街 3 号擎山苑 C2 栋 1404 房
电话：18842683616

成都办事处

地址：成都武侯区九兴大道 6 号高发大厦 A 座 610
电话：18842681865