

站内搜索:

类别: 全部类别

全部范围

搜索

点击下载读者调查表

会员登录

用户名:

密码:

验证码: 9700

登陆

注册

相关文章

- 饲用油脂的质量指标及掺假的...
- 气相色谱法测定猪肉脂肪酸组...
- 抗坏血酸(VC)微囊的质量检...
- 气相色谱-质谱联用法测定饲料...
- 饲料中三种硝基喹啉类药物的...
- 几种重要蛋白原料的掺假与鉴...
- 豆粕中尿素酶活性检测方法的...
- 不确定度评定在饲料卫生学毒...
- 凯氏定氮法测定饲料中粗蛋白...
- 黄曲霉毒素检测方法的研
- 饲料中盐酸多巴胺的HPLC检测...

合作伙伴



氯霉素残留检测方法



作者:孙立君 孙丽琴

期号:2006年第22期

1 氯霉素的残留检测方法

氯霉素残留检测方法的建立始于20世纪70年代,到现在为止,国内外已相继建立起了气相色谱、液相色谱、薄层色谱、放射性分析、微生物法及免疫学检测等方法。最为灵敏的气相色谱检测方法是Jacobson等(1974)提出的。德国Russel首先报道了液相色谱法检测氯霉素的残留。Arnold和Somogyi建立了放射免疫分析试验方法, Campbell等建立了酶联免疫吸附测定法。另外还有采用单克隆抗体竞争性酶联免疫法测定猪肌肉组织中氯霉素残留,检测限为25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。更灵敏的亲合素-生物素酶联免疫吸附测定法也已成功建立,检测限达10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。目前已有测定氯霉素的试剂盒,如EMIT试剂盒、Lacart Test试剂盒。

1.1 国外检测方法介绍

Nagata等(1992)报道了用液相色谱法测定动物肌肉和养殖鱼肌肉中的甲砒氯霉素和氯霉素的残留。试样用乙酸乙酯提取,提取液浓缩干燥后的残留物溶于3%的NaCl溶液中,用正己烷脱脂,水相用乙酸乙酯萃取,乙酸乙酯萃取液浓缩干燥后用正丁烷溶解,通过Sep-paK Horisil柱净化后,用ODS柱分离,225、227 nm检测,当氯霉素为0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ 时,平均回收率大于74.1%,检出限量为0.01 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。Arnold等报道了肉、蛋、奶中氯霉素的放射免疫痕量分析,对于用氯霉素治疗的动物组织和其它可食用产品,此方法检出限量为0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上的氯霉素残留能被准确定量,在蛋、肉中平均回收率为85%,在奶中回收率高于95%。Gwendolyn等(1984)用竞争酶联免疫法测定牛肌肉组织中氯霉素的残留,最低检出限量可达1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,特异性也很好。另外还有采用单克隆抗体竞争性酶联免疫法测定猪肌肉组织中氯霉素残留的报道。随着研究工作的深入发展,已有测定氯霉素的试剂盒投放市场,如EMIT试剂盒,用于经氯霉素治疗后人血清中氯霉素含量的分析,此试剂盒主要适用于医用日常分析,该方法与高效液相色谱法及微生物学方法相比较具有明显的优点。D J Berry等曾提出用EMIT试剂盒的酶免疫法代替高效液相色谱法,但大量试验发现,它的灵敏度不高,只能检测25 mg/kg 以上氯霉素的含量。后来荷兰推出了测定氯霉素残留的酶联免疫测定试剂盒Quik card,现又称Lacart test试剂盒,该试剂盒可测定牛、羊、猪等肌肉中氯霉素的残留,检出限量为1~3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。也有人用它检测牛奶中氯霉素的残留,试样不经预处理检出限量为5~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,样品经预处理及浓缩后检出限量可达1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下。也有关于用它检测鸡蛋、尿液中氯霉素的报道。另外,还有用单克隆抗体亲合素-生物素酶联免疫法测定猪肌肉组织和牛奶中氯霉素的残留。

1.2 国内检测方法介绍

陈家华(1998)建立了家禽组织中氯霉素残留的快速检测,用乙酸乙酯提取样品,将氯霉素硝基基团在酸性条件下用氢还原,按照Nielsen(1975)的纯脘NET(N-1-萘乙二胺盐酸盐0.8%+EDTA0.1%)溶液衍生偶合法,形成红紫色的N-1-萘乙二胺氯霉素筛选家禽是否含有氯霉素,氯霉素检测限为10 ng/g ,样品中含四环素类、青霉素类、氨基糖苷类、红霉素、新霉素、头孢菌素类均不干扰测定。为了快速、简便、灵敏地测定牛奶中的氯霉素残留,中国疾控中心营养与食品安全所的蒋定国、杨大进等(2003)建立了高效液相色谱分析法。此分析法把牛奶样品先用含有1%高氯酸的乙酸乙酯沉淀蛋白质和提取氯霉素,提取液浓缩干燥后用0.5 mol/l 高氯酸溶液溶解,以正己烷去除脂溶性杂质,在波长278 nm处用高效液相色谱仪测定氯霉素。此方法最低检出浓度为11 $\mu\text{g}/\text{kg}$,氯霉素浓度在20~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内,平均回收率为88.0%~97.7%,RSD为53%~64%,适于牛奶中氯霉素残留的检测。何方洋等(2002)用重氮化方法将氯霉素与牛血清白蛋白(BSA)和卵清蛋白(OVA)偶联,制备免疫抗原和包被抗原,用ELISA方法进行鉴定。将偶联抗原用弗氏佐剂乳化后免疫德国大白兔,制备多克隆抗体,并用硫酸铵沉淀法初步纯化,用亲和层析法进一步纯化,用所得抗体建立竞争酶联免疫吸附分析法(ELISA)检测氯霉素,检测限为0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。ELISA方法检测氯霉素反应原理是利用抗原与抗体的特异性免疫化学反应的基本原理进行的。整个反应当中,样品中氯霉素含量越多,反应呈色就越淡;反之,样品中氯霉素含量越少,则呈色越深。

① ELISA方法的检测过程

将3 g 样品剪碎后放入50 ml离心管中,加入6 ml乙酸乙酯,并以均质机均质约1 min,震荡约30 s,离心10 min(3 000 r/min)。取2 ml上清液(乙酸乙酯)至玻璃管中,于50 $^{\circ}\text{C}$ 下氮气吹干,在此玻璃管中加入正己烷2 ml,先将残余物完全溶解后(若未能完全溶解,可能会导致回收率降低),再加入1 ml萃取稀释液,震荡约30 s,离心10 min(3 000 r/min)。用吸管吸去上层液(正己烷)及弃掉中间乳化层部分,再吸取下层液(水层)备用。

若有乳化现象,先将大部分上层液(正己烷)取出后,再将玻璃管置入80 $^{\circ}\text{C}$ 水中,水浴加热约5~10 min,改善乳化情形后再以萃取稀释液稀释5倍(即下层液50 μl 加萃取稀释液200 ml)。

② 操作步骤

于适当微孔中分别加入100 ml标准溶液(浓度为0、0.05、0.15、0.45、1.35和4.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$),在另外的微孔中加入100 ml已完成前处理的样品溶液,再于每一微孔中另加入50 ml酶标记物,轻敲盘子边缘,使其充分混合后于室温下避光静置温育1 h。将微孔中的反应液甩掉,再将洗液加满每一微孔后甩掉,重复洗3次,最后一次甩掉后,在吸水纸上拍干。于每一微孔中加入底物溶液100 ml后,轻敲盘子边缘,使其充分混合,室温下避光静置温育20 min。于每一微孔中加入100 ml反应终止液,用酶标仪于波长450 nm下读取读数。

③ 结果判定

计算B/B₀值,即用样品或标准液吸光值(B)除以零标准吸光值(B₀)再乘以100%。以B/B₀值为纵坐标,以标样浓度的对数值为横坐标,做标准半对数曲线,根据每个样品的B/B₀值就可从曲线上读出相对应样品的浓度。由于样品经过了预先稀释,因此根据标准曲线所得出的样品浓度一定要再乘以其稀释倍数。

2 检测氯霉素残留的重要性

目前,消费者对食品的安全性越来越关注,一个重要的关注点就是药物在畜产品中的残留。因此,药物在动物体内和动物性产品中的残留问题已引起世界各国广泛重视,并投入大量资金对某些药物,特别是化学治疗药进行研究。1986年,联合国成立“食品兽药残留立法委员会”,目的是制定世界或地区性法规标准,我国也制定了“肉食产品中药物残留限量”的规定,1994年,农业部颁布了关于“动物性食品中兽药最高残留限量(试行)”的规定。美国从1998年1月开始实施“公害分析临界控制点(HACCP)”,明确规定了食物中的有害物质(包括细菌、药残等)的临界值,超标的一律不准上市。欧盟兽药委员会很早就特别提出禁止在哺乳期的动物和蛋鸡中使用氯霉素。《各国食品和饲料中农药兽药残留限量大全》中关于氯霉素的残留限量如下:日本规定牛肉、猪肉、鸡肉、鳗鱼和虾中对抗生素类规定不得检出;韩国规定不得检出牛肉、猪肉、鸡肉等可食性组织中的氯霉素;欧盟规定所有生产食品的动物肌肉、肝脏、肾脏、脂肪、乳品中氯霉素的最高残留量为0.01 mg/kg 。在1997年我国发布的兽药残留标准规定:氯霉素在可食性组织中的残留量为0.01 mg/kg 。

3 小结

近年来,我国动物源性食品的出口受到了国外药残检验部门的拒收、扣留,企业退货、索赔、终止合同等,给我国的对外贸易造成很

大的损失。因此，我们必须采取相应的措施来克服这种残留，必须研究药物在动物体内的代谢和变化规律，指导临床合理用药；科学研究组织中药物的残留检测方法，以便快速准确的对药物进行监测，防止药物残留的发生。另外，提醒养殖业者要改变传统的养殖观念，加强学习和开发新技术，走防病养殖的健康养殖之路。

参考文献

- 1 Allen E K. J Assoc Off Anal Chem,1985,68(5):990-999
- 2 陈杖榴主编.兽医药理学. 中国农业出版社, 2002
- 3 Varma K J. J Vet pharmacol Theap. 1986(9):412-415
- 4 Ionova I. et al. Veterinarnomeditsinski-Nauki. 1977, 14(9):56-66
- 5 徐淑云, 陈修, 卞如濂. 药理实验方法学.人民卫生出版社, 1982
- 6 袁玉花, 陈杖榴, 刘力, 等. 鸡蛋中氯霉素残留的检测方法及消除规律研究. 中国兽医学报, 2004, 24 (5) : 485~487
- 7 唐雪莲. 氯霉素在鲈鱼体内的药代动力学及残留规律的研究[D]. 沈阳东北农业大学研究生毕业论文, 2002
- 8 蒋定国. 动物性食品中氯霉素残留研究测定技术的研究概况. 中国食品卫生杂志, 2002, 14(2): 44-47
(编辑: 孙崎峰, sqf0452@126.com)

...评论...

发表
评论

Text input field for comments with a character count indicator.

*40字以内

提交

重置