

## GPD PURIFY™ HLB 固相萃取小柱的应用之

### 农业部 958 号公告-2-2007 四环素类药物残留的高效液相色谱法检测

广普达科技版权所有

本方法在参考“农业部 958 号公告-2-2007 猪鸡可食性组织中四环素类残留检测方法 高效液相色谱法”（其他的测试四环素类药物的方法与这个标准基本都是大同小异的）的基础上略作改进。

#### 一、前处理试剂的准备



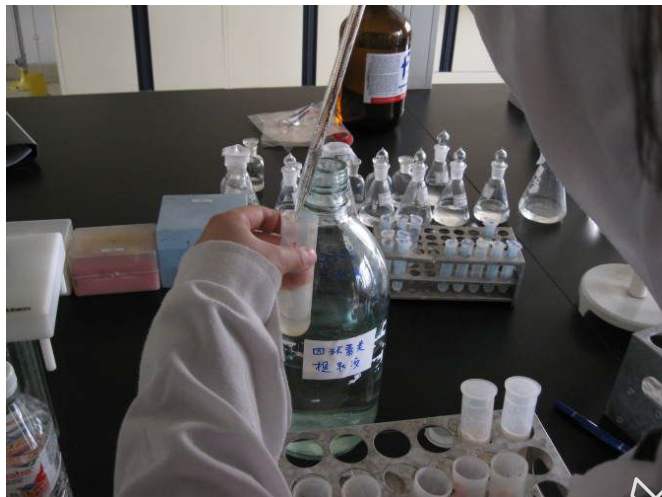
1. GPD PURIFY™ HLB 固相萃取小柱, 50mg, 3CC
2. Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine 缓冲液: (平时 4℃ 保存, 一般可以用 1 个月)
  - (1) 柠檬酸溶液: 0.1mol/L。称取 21.01g 柠檬酸 (1 水), 用水溶解, 定容至 1000mL;
  - (2) 磷酸氢二钠溶液: 0.2mol/L。称取 28.41g 磷酸氢二钠 (12 水), 用水溶解, 定容至 1000mL;
  - (3) McIlvaine 缓冲液: 将 1000mL 0.1mol/L 柠檬酸溶液与 625 mL 磷酸氢二钠溶液混合, 必要时用氢氧化钠或盐酸调节 pH=4.0±0.05 (一般需要加入 NaOH 2.92 克);
  - (4) Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine 缓冲液: 0.1mol/L。称取 60.5g 乙二胺四乙酸二钠 (4.4) 放入 1625 mL McIlvaine 缓冲液中, 使其溶解, 摇匀 (好像不太好溶解, 需要使劲摇晃或超声才能得到清亮的液体)。
3. 蛋白沉淀剂: 20%三氯乙酸水溶液 (标准上一般用 5%的三氯乙酸, 对有些样本效果并不好, 经试验 20%可使最终浓度达到 2%, 效果最好。不需要上万转的离心)。
4. 洗脱液: 0.126%的草酸甲醇溶液 (或 乙酸乙酯)

5. 纯水，甲醇。

## 二、前处理过程

1. 称样：均质好的样品 5g。

2. 提取：



(1)加入 10mL 提取液,振荡提取 5min,4000rpm 离心 5min,倒出上清液(原标准上是 5000rpm 离心 15min, 其实没必要那么长时间)。

(2) 重复提取一次(当然也可以重复提取两次),合并上清液。(合并后的上清液体积会大于 20mL,如新鲜鸡肉体积为 21.5mL)。

3. 沉淀蛋白(这一步也可以不要,但要保证上一步的提取液温度不要超过 15℃)

在合并的上清液中加入 20%三氯乙酸 2mL,手摇振荡几次,4000rpm 离心 20min(标准上是 10000rpm 离心 10min,很多实验室是没有那么好的离心机的,经试验 4000rpm 离心 20min,效果同样好)。



4. 使用 GPD PURIFY™ HLB 固相萃取小柱，60mg，3CC 净化

(1) GPD PURIFY™ HLB 固相萃取小柱的活化：3mL 甲醇，3mL 水依次通过小柱；



(2) 取适量上清液过柱（可以全过，如果灵敏度足够，也可以部分过柱，本试验取的是相当于 1g 样本的液体过柱）；



(3) 5mL 水淋洗小柱；



(4) 抽干 5min (也可以不抽干, 就是残留的水使最后吹干的时候可能要的时间久点);

(5) 洗脱: 0.126%的草酸甲醇溶液 5mL 洗脱, 收集洗脱液 (洗脱也可用乙酸己酯, 但是如果用乙酸乙酯一定要抽干 20min 以上, 并且洗脱体积要大于 10mL, 否则回收率不好。乙酸己酯洗脱的最大好处就是干净, 特别是在做肝组织等复杂基质时);

(6) 50℃左右吹干, 加入 1mL 0.126%的草酸水溶液涡动复溶; 过 0.22 μ m 尼龙膜后待进样。



(7) 复溶液过 0.22 μ m 尼龙膜入进样小瓶, 待进样。

### 三、仪器检测部分

1. 仪器: waters 高效液相色谱仪, 1525 泵, 717+进样器, 柱温箱, 2487 紫外检测器,



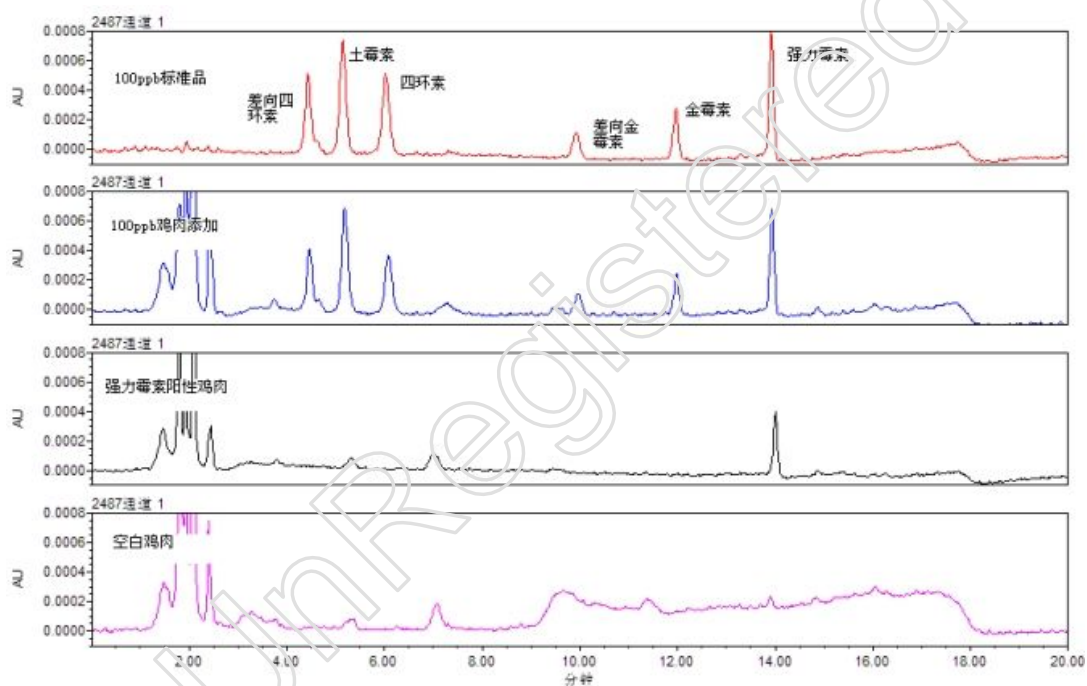
2. 色谱柱: C18, 5 μ m 粒径, 250\*4.6mm。

3. 流动相: A: 1mL 0.126%的草酸水溶液; B: 甲醇/乙腈 (1/1), 梯度条件如下:

时间 (min)	流速 (mL/min)	A%	B%
0	1.5	80	20
5	1.5	80	20
15	1.5	50	50
16	1.5	80	20
22	1.5	80	20

4. 检测波长：355nm。

5. 图谱与结果：



所检测 6 种物质回收率均大于 80%。

相关订货信息：

品名：GPD PURIFY™ HLB 固相萃取小柱，60mg，3CC

包装：20 支/盒

生产商：北京市广普达科技有限公司（北京市昌平区北七家镇）

业务员：张工（13552220221）

技术支持：QQ 1334543114