

ICS 67.040
C 53



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.95—2003
代替 GB/T 13110—1991

蜂蜜中四环素族抗生素 残留量的测定

Determination of tetracyclines residues in honey

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准代替 GB/T 13110—1991《蜂蜜中四环素族抗生素残留量的测定方法》。

本标准与 GB/T 13110—1991 相比主要修改如下：

- 修改了标准的中文名称,标准中文名称改为《蜂蜜中四环素族抗生素残留量的测定》;
- 按 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第4部分:化学分析方法》对原标准的结构进行了修改。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位:福建省食品卫生监督检验所、福建省药品检验所。

本标准主要起草人:林升清、马赛骏、黄宏南、耿莹莹、林桂生。

原标准于 1991 年首次发布,本次为第一次修订。

蜂蜜中四环素族抗生素残留量的测定

1 范围

本标准规定了用微生物管碟法测定蜂蜜中四环素族抗生素残留量的方法。
本标准适用于天然或加工蜂蜜中四环素族抗生素残留量的测定。

2 原理

试样中四环素族抗生素经 McIlvaine 缓冲液提取后,用 SEP-PAK C₁₈ 柱纯化。四环素族三种抗生素四环素、土霉素及金霉素利用薄层层析生物检测法进行分离和定性;以蜡样芽胞杆菌为试验菌株,用微生物管碟法进行定量检测。

3 试剂

3.1 McIlvaine 缓冲液(pH4):称取磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)27.6 g、柠檬酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)12.9 g、乙二胺四乙酸二钠 37.2 g,用水溶解后稀释并定容至 1 000 mL。

3.2 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH4.5):称取磷酸氢二钾 13.6 g,用水溶解后稀释并定容至 1 000 mL。115℃灭菌 30 min,置 4℃冰箱中保存。

3.3 乙二胺四乙酸二钠水溶液(50 g/L)。

3.4 Waters SEP-PAK C₁₈ 柱(或国产 PT-C₁₈ 柱):用时先经 10 mL 甲醇滤过活化,再用 10 mL 蒸馏水置换,然后用 10 mL 50 g/L 乙二胺四乙酸二钠流过。

3.5 抗生素标准品:四环素、土霉素、金霉素标准品(由卫生部药品生物制品检定所提供)。

3.6 抗生素标准溶液:

3.6.1 抗生素标准原液的配制:准确称取四环素、土霉素、金霉素标准品适量(按效价进行换算),用 0.01 mol/L 盐酸溶解并定容至 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$,置 4℃冰箱中(可使用 7 天)。

3.6.2 抗生素标准稀释液配制:临用前取上述原液按 1 : 0.8 剂距用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液逐步稀释配制标准稀释液。制备四环素、土霉素标准曲线的标准浓度为 0.16,0.21,0.26,0.32,0.40,0.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$,参考浓度为 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$;制备金霉素标准曲线的标准浓度为 0.033,0.041,0.051,0.064,0.080,0.100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,参考浓度为 0.050 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。定性试验用标准液浓度四环素、土霉素为 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$,金霉素为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.7 展开剂:正丁醇-乙酸-水(4+1+5)。

4 仪器

4.1 隔水式恒温箱。

4.2 冰箱:0℃~4℃。

4.3 恒温水浴。

4.4 高压灭菌器。

4.5 旋转式减压蒸馏器。

4.6 离心机:2 000 r/min。

4.7 天平:感量 0.1 mg。

4.8 层析缸:内长 20 cm、宽 15 cm、高 30 cm。

4.9 长方形培养皿:1.5 cm×8 cm×23 cm。