

M



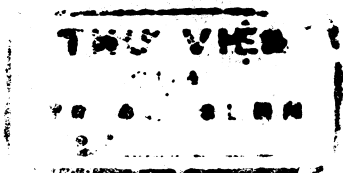
CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

THỊT VÀ SẢN PHẨM CỦA THỊT

Phương pháp xác định dư lượng Aureomycin

TCVN 5149-1990



HA NOI

Cơ quan biên soạn: Trung tâm kiểm dịch động vật xuất  
nhập khẩu Hà nội

Cơ quan đề nghị ban hành:

Bộ Nông nghiệp và Công nghiệp  
thực phẩm

Cơ quan trình duyệt: Tổng cục Tiêu chuẩn-Đo lường-  
Chất lượng

Cơ quan xét duyệt và ban hành:

Ủy ban Khoa học Nhà nước

Quyết định ban hành số 736/QĐ ngày 31 tháng 12  
năm 1990

THỊT VÀ SẢN PHẨM THỊT	TCVN
Phương pháp xác định dư lượng kháng sinh aureomycin	5149-90
Meat and meat products	Khuyến khích
Determination of aureomycin residues	áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định kháng sinh aureomycin (tên hoá học là clotetracylin) tồn dư trong thịt và sản phẩm của thịt, dùng làm thực phẩm cho người và thức ăn gia súc.

1. ĐẶC TÍNH CHUNG

Họ tetracyclin là một nhóm kháng sinh gồm các dẫn xuất như : tetracyclin, clotetracyclin, oxytetracyclin... là những kháng sinh tương đối mạnh và bền. Đối với người và động vật, nó nhiễm vào dưới tác dụng của thuốc chữa bệnh như uống hoặc tiêm và tồn tại trong máu, tế bào hay dịch của cơ thể động vật. Hàm lượng của chúng lớn hay nhỏ là tùy thuộc quá trình sử dụng thuốc đó nhiều hay ít, thời gian sử dụng lâu hay mau và khả năng tự loại của cơ thể. Vì vậy, người ta thường kiểm tra hàm lượng của chúng trong máu, serum hay trong nước tiểu sau thời gian sử dụng thuốc.

2. NGUYÊN TẮC

Dùng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (viết tắt là HPLC) để xác định riêng aureomycin. Trước hết, chất cần phân tích phải được chiết ra khỏi dung dịch mẫu bằng hệ dung dịch đệm phù hợp, sau đó bơm dung dịch này vào cột sắc ký HPLC có chứa chất nhồi (pha tĩnh) là nhựa RP - 18, khi đó aureomycin bị hấp thụ lên pha tĩnh này. Muốn xác định chất cần phân tích, người ta rửa giải nó ra khỏi cột sắc ký bằng một hệ

dung môi phù hợp (pha động). Aureomycin bị pha động tách ra khỏi cột sắc ký ra ngoài và được phát hiện bằng detector UV - VIS ở sóng 355 nm. Nồng độ chất phân tích được xác định bằng phương pháp đường chuẩn. Bằng cách này có thể tách và xác định đồng thời 3 kháng sinh họ tetracyclin nói ở mục 1.

### 3. LẤY MẪU

Theo TCVN 4833-89 (ST SEV 2433-80)

### 4. DỤNG CỤ, THIẾT BỊ VÀ HÓA CHẤT

#### 4.1. Dụng cụ, thiết bị :

+ Hệ thống HPLC với detector UV - VIS hay loại tương đương.

- + Máy li tâm
- + Bình định mức các loại
- + Pipét các loại
- + Cốc chịu nhiệt
- + Cột sắc ký loại 150 x 4,6 mm hay 150 x 2 mm
- + Một vài dụng cụ khác.

#### 4.2. Hoá chất : dùng loại tinh khiết cho HPLC

- + Chất nhồi cột : nhựa RP - 18 cỡ 5  $\mu\text{m}$   $\varnothing$
- + Natriclorua ( $\text{NaCl}$ ), dung dịch 0,01 M; natripeclorat, dung dịch 0,1 M; natridihydrophosphat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), dung dịch 0,02M.
- + Axít photphoric ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), dung dịch 85% và 0,1 M
- + Dung dịch N,N-Dimethylformamid 40% trong nước
- + Hệ đệm xitrat-phốtphat pH ~ 8 và 6,4
- + Dung dịch gốc tiêu chuẩn của aureomycin nồng độ 1 mg/ml
- + Nước cất 2 lần.

## 5. CHUẨN BỊ THỬ

## 5.1. Chuẩn bị mẫu phân tích :

Mẫu thịt cần phân tích được thái nhỏ, nghiền mịn, trộn đều và cân 1 lượng 10 g, thêm 5 ml MeOH và 5 ml hệ đệm citrát - photphat, lắc kỹ trong 15 phút. Chuyển hỗn dịch này sang bình định mức và định mức bằng nước cất đến thể tích  $V = 25$  ml, sau đó ly tâm lắng cặn, lấy phần dung dịch nước trong. Dung dịch này sẽ được bơm trực tiếp vào cột sắc ký để phân tích aureomycin.

## 5.2. Pha dãy chuẩn :

Lùng dung dịch gốc tiêu chuẩn của aureomycin có nồng độ 1 mg/ml tính lấy lượng phù hợp để pha và định mức bằng nước cất trong bình định mức có thể tích 25 ml, sao cho nồng độ aureomycin trong các bình là 2 - 4 - 6 - 8 - 10 - 12 g/ml.

## 5.3. Mẫu trắng :

Đồng thời với việc chuẩn bị mẫu phân tích phải chuẩn bị thêm mẫu trắng để so sánh và bố chính nền. Mẫu trắng được chuẩn bị như mẫu phân tích nhưng không có mẫu phân tích.

## 5.4. Các điều kiện thực nghiệm :

- + Hệ thống HPLC với detêcto UV - VIS sóng do 355 nm
- + Cột tách HPLC : 150 x 4,6 mm nhồi nhựa RP - 18 cỡ 5 mm Ø
- + Máy ghi pic (Recorder) có thể ghi 5 - 10 mV và tốc độ giấy là 2 mm/phút.
- + Pha động : dung dịch N,N-Dimethylformamid có chứa natriclorua 0,01M; natripeclorat 0,1M; natridihydrophotphat 0,02M. Chính pH  $\approx$  3,3 bằng axit photphoric 0,1M.

- + Tốc độ pha động : 1 ml/phút
- + Lượng mẫu bơm vào cột là 50  $\mu$ l/ mỗi lần thí nghiệm
- + Nhiệt độ sắc ký : 22 - 25°C.
- + Các điều kiện khác chọn phù hợp với hệ HPLC

## 6. TIẾN HÀNH THỬ

- + Đặt các thông số đã chọn ở mục 5.4 cho máy
- + Cho máy chạy, bơm pha động để ổn định cột tách và đường nền. Khi đường nền thẳng là được.
- + Bơm lần lượt các mẫu chuẩn, mẫu trắng, rồi đến mẫu phân tích vào cột tách (mỗi mẫu bơm 3 lần lấy giá trị trung bình) và ghi pic sắc ký của chúng.
- + Hiệu chỉnh giá trị của mẫu trắng (nếu có)
- + Dùng đường chuẩn theo hệ tọa độ H - C. Trong đó H là chiều cao của pic sắc ký tương ứng với các nồng độ C của mẫu chuẩn.
- + Xác định nồng độ Cx theo đường chuẩn trên.

## 7. TÍNH KẾT QUẢ

Hàm lượng aureomycin trong mẫu phân tích được tính theo công thức sau đây :

$$Co = (Cx \cdot V) / a \quad \text{Tính bằng } \mu\text{g/g}$$

Trong đó : a là lượng mẫu cân để phân tích và định mức trong thể tích V ml. Theo mục 5.1 thì a = 10g và V = 25 ml. Cx là nồng độ aureomycin tìm được qua đường chuẩn của dung dịch phân tích.

-----