

月旭科技果丹皮中展青霉素的测定

1、适用范围

适用于山楂及其为原料的制品含量的测定（本实验采用果丹皮为样品）

参考标准：《GB 5009.185-2016 食品安全国家标准 食品中展青霉素的测定》

2、溶液的配制

- 1) 标准贮备液：准确移取 1.0mL 100 μ g/mL 的展青霉素标品，用乙腈稀释并定容至 10mL,该贮备液的浓度为 10 μ g/mL
- 2) 标准工作液：准确吸取 1mL 10 μ g/mL 贮备液，用乙酸水溶液稀释并定容至 10mL，该工作液的浓度为 1 μ g/mL
- 3) 乙酸水溶液：取 10mL 乙酸加入到 250mL 水中，混匀
- 4) 乙酸铵溶液（5mmol/L）：称取 0.38g 乙酸铵，加入 1000mL 水溶解。

3、提取步骤

- 1) 称取 1g 样品（样品先冰冻至硬块的状态，再用高速粉碎机粉碎，混合均匀后再称取），加入 10mL 水，加入 75 μ L 果胶酶，室温避光过夜。
- 2) 加入 10mL 乙酸乙酯，涡旋超声 5min，离心 5min（6000r/min），移取乙酸乙酯层至 50mL 鸡心瓶中；
- 3) 用 5 mL 乙酸乙酯，分别再提取两次，重复 2) 操作，合并乙酸乙酯提取液；
- 4) 再用 40℃ 水浴旋转蒸发浓缩至干，用 5mL 乙酸水溶液，复溶，超声 10min，待净化。

声明:除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编：321000

E-mail:Lingyuyu@welchmat.com

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 WeLchrom[®]P-SAX 规格：500mg/6mL

活化： 6mL 甲醇、6mL 水，弃去；

上样：待净化液全部上样，控制流速，不宜过快，弃去；

淋洗：用 3mL 乙酸铵溶液淋洗，再用 3mL 水淋洗，弃去并抽干小柱。

洗脱：用 8mL 甲醇洗脱，收集于 15mL 离心管中；

加入 20 μ L 乙酸，混匀，40 $^{\circ}$ C 水浴氮吹至近干，用乙酸水溶液定容至 1mL，过 0.22 μ m 有机滤膜，待检测。

5、注意事项

- 1) 加标水平：1g 样中，加入 50 μ L 1 μ g/mL 标准工作液，最终都定容到 1mL，因此加标水平为 0.05mg/kg，最终机度数为 50ng/mL
- 2) 在进行标过柱时用 P-SAX 150mg/6mL 仅能吸附部分目标物，增加小柱规格 500mg/6mL，回收率能够提高到 90%以上
- 3) 提取复溶时，超声 10min，使其能完全溶解于乙酸水中
- 4) 洗脱后加入 20 μ L 乙酸，展青霉素在酸性条件下比较稳定
- 5) 净化时，无需增加压力，使其自然低落
- 6) 注意避光操作。

6、色谱条件

色谱柱：月旭 ULtimate[®]XB-C18，4.6*250mm，5 μ m

流动相：水-乙腈---梯度见下表

流速：1.2mL/min

柱温：30 $^{\circ}$ C

声明:除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编：321000

E-mail:Lingyuyu@weLchmat.com

进样量: 20 μ L

检测波长: 276nm

表1: 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	水/%	乙腈/%
0	90	10
15	90	10
15.01	0	100
20	0	100
20.01	90	10
25	90	10

7、色谱图或者加标回收率结果

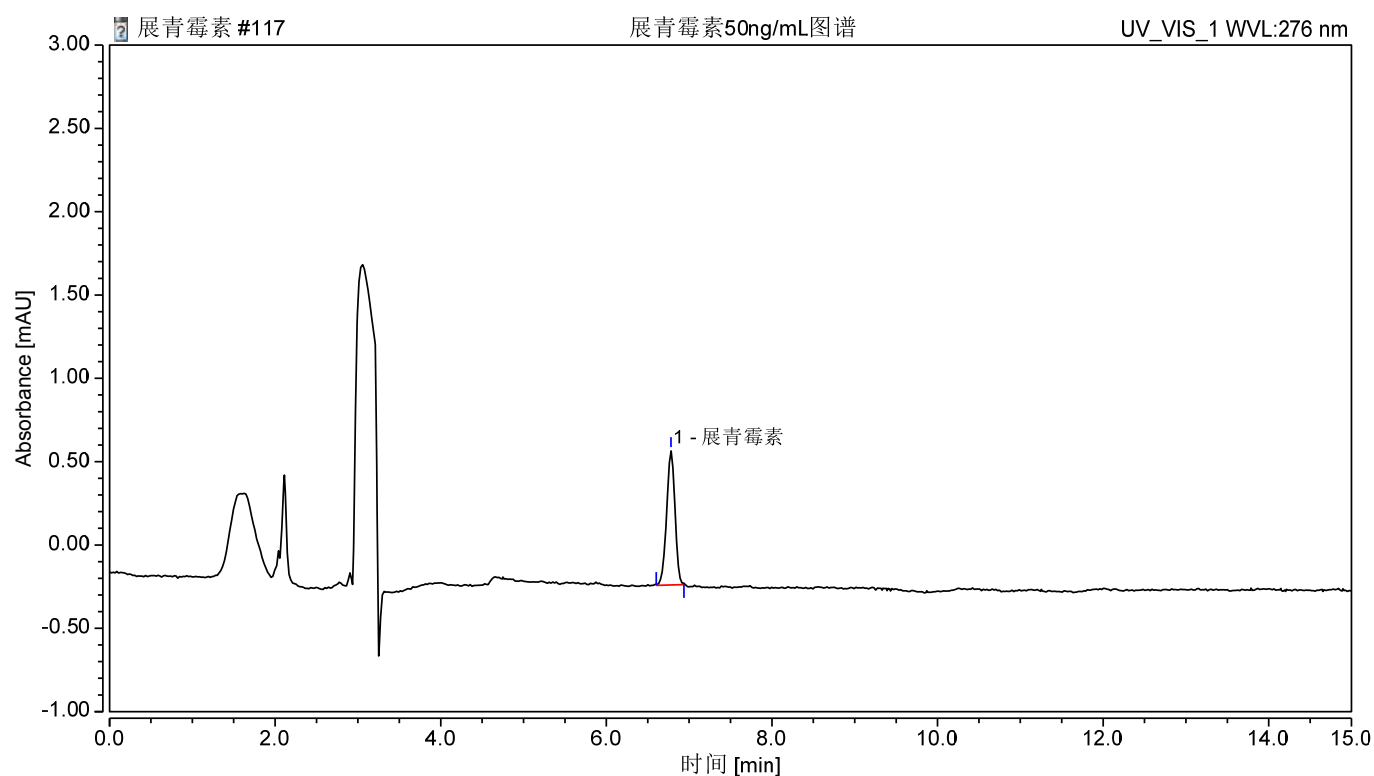


图 1. 展青霉素 50ng/mL 图谱

峰名称	保留时间	峰面积	峰高	相对峰面积	不对称度	分离度	塔板数
	min	mAU*min	mAU	%	(EP)	(EP)	(EP)
展青霉素	6.782	0.0944	0.81	100	0.94	.n.a.	21656

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:Lingyuyu@welchmat.com

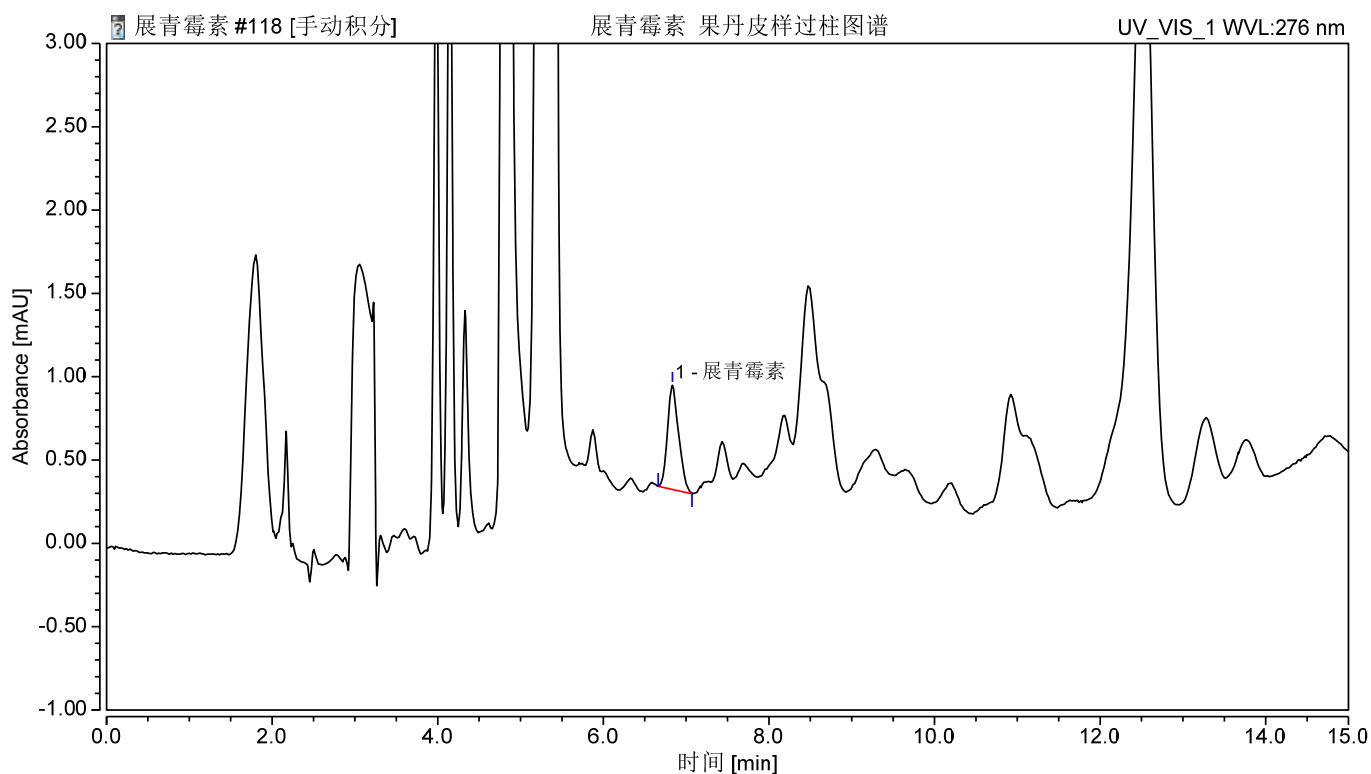


图 2 样过柱图谱

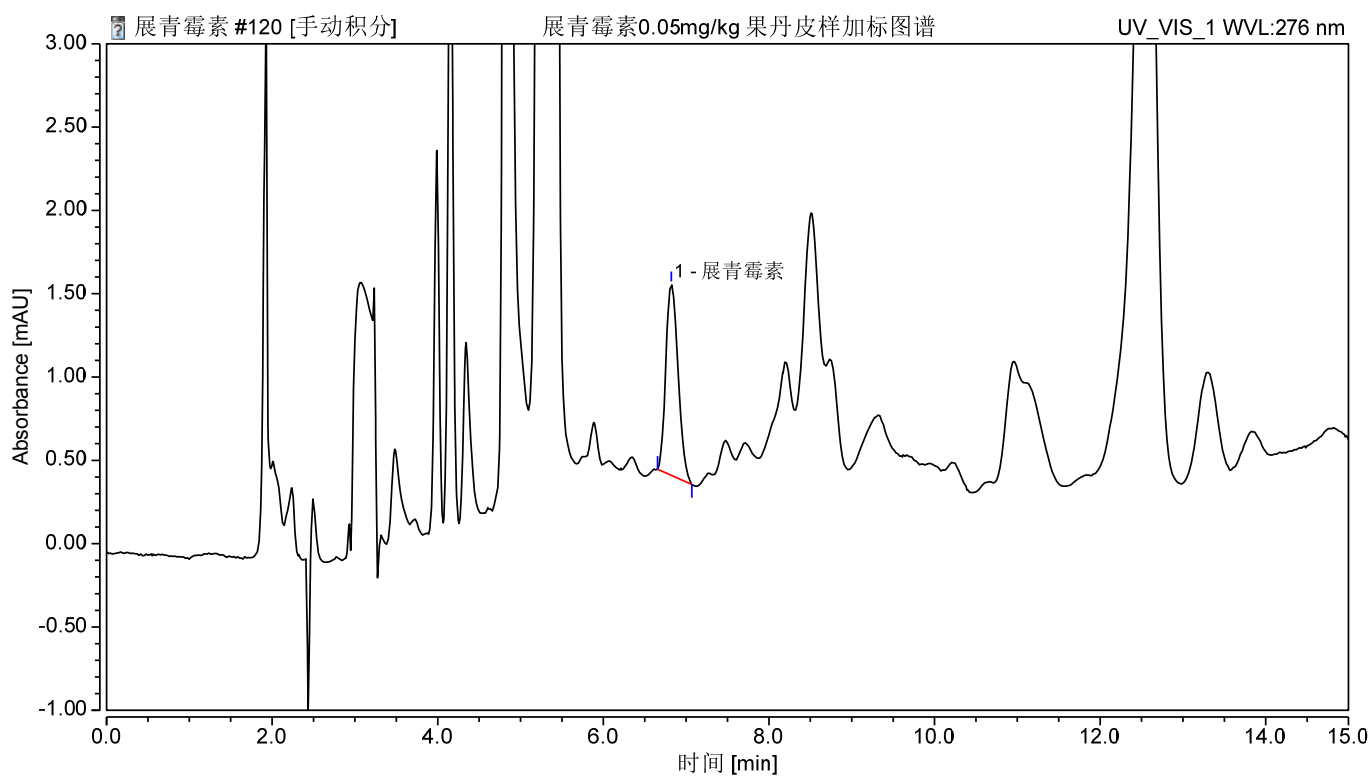


图 3 样加标 0.05mg/kg 图谱

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:Lingyuyu@weLchmat.com

表 2.展青霉素过 P-SAX 小柱加标回收表

名称	加标水平 mg/kg	回收率%		平均回收率%	RSD% (n=2)
展青霉素	0.05	97	100	99	2.43

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00524-20006	SPE 小柱	Welchrom® P-SAX, 500mg/6ml, 30pk
00000-30113	15mL 螺口尖底离心管	100 支/包
00824-31001	WeLch 固相萃取装置	12 位方缸
00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺 纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00802-02201	针头式过滤器	进口 NY,13mm*0.22μm,100pk
00201-31043	液相色谱柱	ULtimate® XB-C18, 4.6×250mm,5μm
00826-P207S10 0DCVC	展青霉素/棒曲霉素标准 品	CAS No.:149-29-1,100μg/mL 于 氯仿, 1 mL

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:Lingyuyu@welchmat.com