

DB34

安 徽 省 地 方 标 准

DB 34/T 1376—2011

鸡蛋中氟苯尼考的残留测定 —高效液相色谱法

Determination of florfenicol residues in eggs by HPLC method

2011 - 03 - 16 发布

2011 - 04 - 16 实施

安徽省质量技术监督局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由安徽省畜牧兽医局提出。

本标准由安徽省农业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：安徽省兽药饲料监察所(安徽省畜产品质量安全检测中心)。

本标准主要起草人：李瑋、许世富、汤春莲、陶小平、丁作坤、陈文帮。

鸡蛋中氟苯尼考的残留测定

—高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了鸡蛋中氟苯尼考检验的高效液相色谱法（HPLC）测定方法。
本标准适用于鸡蛋中氟苯尼考残留的定量检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

3 试样制备

按 GB/T 14699.1 抽取有代表性的不少于 500 g 的鸡蛋样品，经匀浆后装入磨口瓶中在-18℃ 冰箱保存备用。

4 原理

试样中残留的氟苯尼考经乙酸乙酯提取，正己烷脱脂，高效液相色谱仪测定，外标法定量。

5 试剂和材料

除非另有说明，本法所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的二级水。

- 5.1 氟苯尼考标准品：纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.2 甲醇：色谱纯。
- 5.3 乙酸乙酯。
- 5.4 正己烷。
- 5.5 氢氧化铵：25%~28%。
- 5.6 无水硫酸钠：经 300℃ 灼烧 4 h，置于干燥器中备用。
- 5.7 流动相：甲醇：水（40：60）。
- 5.8 聚丙烯离心管：50 mL，1.5 mL。
- 5.9 比色管：50 mL，具塞。
- 5.10 梨形瓶：25 mL。
- 5.11 滤膜：0.45 μm ，无机相。

5.12 氟苯尼考标准储备液 (1 mg/mL)：准确称取氟苯尼考标准品 100 mg，用甲醇稀释至 100 mL，摇匀，-18℃ 保存，有效期 90 d。

5.13 氟苯尼考工作液 (10 μg/mL)：准确移取 (5.12) 中氟苯尼考标准储备液 1.0 mL，用甲醇稀释配制成 100 mL，摇匀，-4℃ 保存，有效期 30 d。

5.14 氟苯尼考标准溶液：取氟苯尼考工作液 (5.13) 适量，分别用流动相 (5.7) 稀释为 0、20、50、100、200、400 ng/mL 的标准溶液，摇匀，4℃ 保存，有效期 7 d。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪，配置二极管阵列检测器或紫外检测器。

6.2 离心机，转速不低于 4000 r/min。

6.3 振荡器。

6.4 涡旋混合器。

6.5 分析天平：感量 0.0001 g，0.01 g。

6.6 超声波清洗器。

6.7 组织匀浆机。

6.8 旋转蒸发仪。

7 测定步骤

7.1 试样提取

称取均质后的试样 5 g (精确至 0.01 g)，置于 50 mL 聚丙烯离心管中，依次加入 30 mL 乙酸乙酯 (5.3)，0.9 mL 氢氧化铵 (5.5)，5 g 无水硫酸钠，振荡提取 30 s，以 4000 r/min 离心 5 min，上清液转移至 50 mL 比色管中，用乙酸乙酯定容至刻度，摇匀后取 10 mL 乙酸乙酯提取液到 25 mL 梨形瓶中，45℃ 水浴中旋转浓缩至干。

7.2 试样净化

梨形瓶中的残渣用 3 mL 水溶解，超声 5 min，加入 3 mL 正己烷 (5.4) 涡旋混合 30 s，静置分层，弃掉上层的正己烷，再加 3 mL 正己烷 (5.4) 涡旋混合 30 s，静置分层，移取 1 mL 水相于 1.5 mL 的聚丙烯离心管中，以 8000 r/min 离心 5 min，经 0.45 μm 滤膜过滤，供高效液相色谱仪分析。

7.3 色谱测定

色谱柱：C₁₈ (4.6×250 mm，5 μm)，或相当者。

柱温：40℃。

进样体积：20 μL。

流速：1.0 mL/min。

检测波长：365 nm。

流动相：甲醇-水 (40:60)。

7.4 上机测定

取适量试样溶液和相应浓度的标准溶液，作单点或多点校准，以色谱峰面积积分值定量。标准溶液及试样液中氟苯尼考的相应值均在仪器检测的线性范围内，标准溶液高效液相色谱图见附录 A 中图 A.2。

8 结果计算

按照下式计算试样中各种药物的含量：

$$X = \frac{A \times C_s \times V \times 1000}{A_s \times m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X —— 试样中各种药物的含量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

A —— 试样溶液对应的色谱峰面积响应值；

A_s —— 标准溶液对应的色谱峰面积响应值；

V —— 定容体积，单位为毫升 (mL)；

C_s —— 标准溶液的浓度，单位为微克每毫升 ($\mu\text{g/mL}$)；

m —— 试样质量，单位为克 (g)。

平行测定结果用算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

9 检测方法灵敏度、准确度、精密度

9.1 灵敏度

本方法在鸡蛋中的检出限为 20 $\mu\text{g/kg}$ 。

9.2 准确度

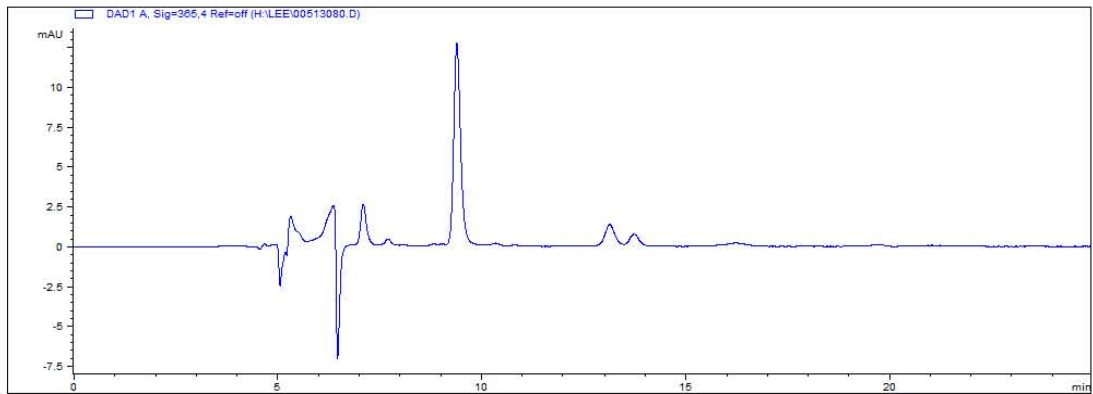
本方法在添加浓度为 80 $\mu\text{g/kg}$ 添加水平的回收率均为 70%~110%。

9.3 精密度

本方法的批内变异系数 $CV\% \leq 10\%$ ，批间变异系数 $CV\% \leq 15\%$ 。

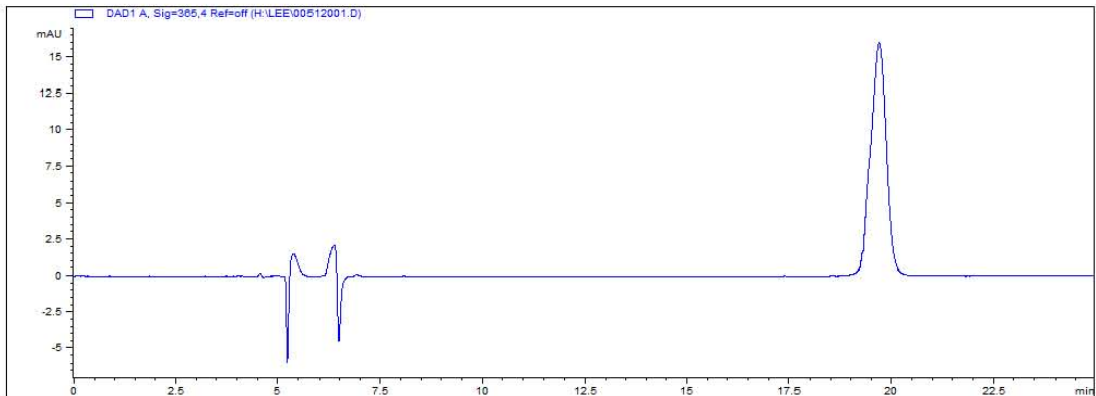
附录 A
(资料性附录)
色谱图

A.1 空白鸡蛋样品溶液色谱图



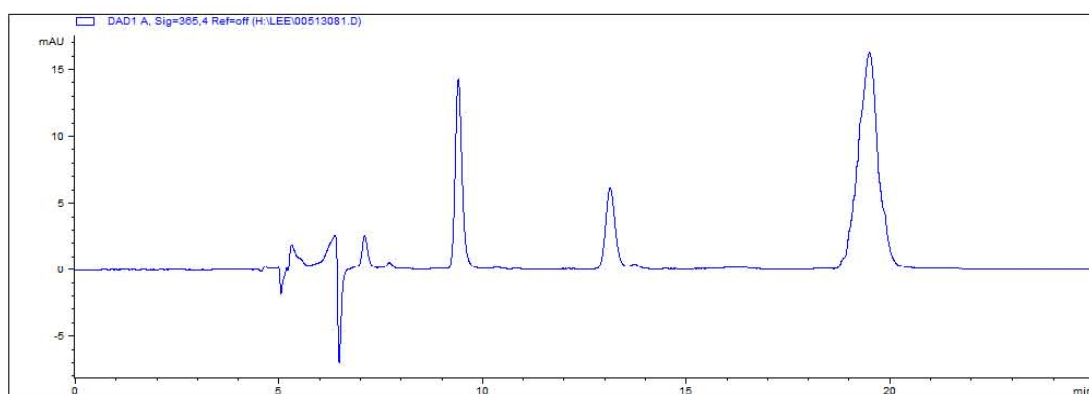
图A.1 空白鸡蛋样品溶液色谱图

A.2 标准物质溶液色谱图



图A.2 标准物质溶液色谱图

A.3 空白鸡蛋中添加标准物质溶液色谱图



图A.3 空白鸡蛋中添加标准物质溶液色谱图