

中华人民共和国国家标准

GB 29691—2013

食品安全国家标准

鸡可食性组织中尼卡巴嗪残留量的测定 高效液相色谱法

2013-09-16 发布

2014-01-01 实施

中华人民共和国农业部 发布
中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会

食品安全国家标准

鸡可食性组织中尼卡巴嗪残留量的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了鸡可食性组织中尼卡巴嗪标识残留物 4, 4'-二硝基均二苯脲残留量检测的制样和高效液相色谱测定方法。

本标准适用于鸡肌肉、肝脏和肾脏组织中尼卡巴嗪标识残留物 4, 4'-二硝基均二苯脲残留量的测定。

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

3 原理

试样中残留的 4, 4'-二硝基均二苯脲,用乙腈提取,正己烷除脂, C_{18} 柱净化,乙腈水溶液洗脱,高效液相色谱测定,外标法定量。

4 试剂和材料

以下所用试剂,除特别注明者外,均为分析纯试剂,水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 4, 4'-二硝基均二苯脲对照品:含量 $\geq 99\%$ 。

4.2 *N,N*-二甲基甲酰胺。

4.3 乙腈:色谱纯。

4.4 甲醇:色谱纯。

4.5 正己烷:色谱纯。

4.6 正丙醇。

4.7 C_{18} 固相萃取柱:500 mg/3 mL,或相当者。

4.8 洗脱液:取乙腈 70 mL,用水溶解并稀释至 100 mL。

4.9 1 mg/mL 4, 4'-二硝基均二苯脲标准贮备液:精密称取 4, 4'-二硝基均二苯脲对照品 25 mg,于 25 mL 的容量瓶中,用二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度,配制成浓度为 1 mg/mL 的 4, 4'-二硝基均二苯脲标准贮备液。-20 °C 以下保存,有效期 6 个月。

4.10 100 μ g/mL 4, 4'-二硝基均二苯脲标准工作液:精密量取 1 mg/mL 4, 4'-二硝基均二苯脲标准贮备液 1.0 mL,于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,配制成浓度为 100 μ g/mL 的 4, 4'-二硝基

均二苯脲标准工作液。2℃~4℃以下保存,有效期1周。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪:配紫外检测器。
- 5.2 分析天平:感量0.000 01 g。
- 5.3 天平:感量0.01 g。
- 5.4 均质机。
- 5.5 旋转蒸发器。
- 5.6 旋涡混合器。
- 5.7 超声波清洗器。
- 5.8 离心机。
- 5.9 鸡心瓶:50 mL。
- 5.10 具塞离心管:10 mL、50 mL。
- 5.11 滤膜:有机相,0.45 μm。

6 试料制备与保存

6.1 试料的制备

取适量新鲜或冷冻的空白或供试组织,绞碎,并使均质。

——取均质后的供试样品,作为供试试料。

——取均质后的空白样品,作为空白试料。

——取均质后的空白样品,添加适宜浓度的标准工作液,作为空白添加试料。

6.2 试料的保存

-20℃以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试料 $2.0\text{ g}\pm 0.02\text{ g}$,于50 mL离心管中,加乙腈10 mL,超声5 min,4 000 r/min离心12 min,取上清液,于50 mL鸡心瓶中。残渣中加乙腈10 mL,重复提取一次,合并两次上清液,加正丙醇3 mL,60℃旋转蒸近干。加乙腈0.5 mL、正己烷1 mL,涡旋3 min,溶解,移至10 mL的具塞离心管中。用乙腈0.5 mL和正己烷1 mL重复涡旋溶解一次。合并两次溶液至10 mL的具塞离心管中,加入正己烷2 mL,涡旋混合3 min,4 000 r/min离心5 min,弃上层正己烷液。再加正己烷2 mL,重复提取一次,4 000 r/min离心5 min,取下层液,备用。

7.2 净化

C₁₈柱用乙腈10 mL活化,取备用液过柱,自然流干,收集滤液。用洗脱液4 mL洗脱,收集洗脱液,合并滤液和洗脱液,于60℃旋转蒸发近干,用流动相2.0 mL溶解残余物,滤膜过滤,供高效液相色谱测定。

7.3 标准曲线的制备

精密量取 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 4, 4'-二硝基均二苯脲标准工作液适量,用流动相稀释,配制成浓度为 31.25、62.5、125、250、500、1 000、2 000、4 000 和 8 000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的系列标准溶液,供高效液相色谱测定。以测得峰面积为纵坐标,对应的标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线。求回归方程和相关系数。

7.4 测定

7.4.1 色谱条件

7.4.1.1 色谱柱: C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 粒径 5 μm), 或相当者。

7.4.1.2 流动相: 乙腈+水(58+42, 体积比)。

7.4.1.3 流速: 1.0 mL/min。

7.4.1.4 检测器: 紫外检测器。

7.4.1.5 波长: 340 nm。

7.4.1.6 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

7.4.1.7 进样量: 20 μL 。

7.4.2 测定法

取试样溶液和相应的标准溶液,作单点或多点校准,按外标法,以峰面积计算。标准溶液及试样溶液中 4, 4'-二硝基均二苯脲响应值应在仪器检测的线性范围之内。在上述色谱条件下,标准溶液和空白试料添加试样溶液的高效液相色谱图分别见附录 A。

7.5 空白实验

除不加试料外,采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果的计算与表达

试料中 4, 4'-二硝基均二苯脲的残留量按式(1)计算:

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

式中:

X ——供试试料中 4, 4'-二硝基均二苯脲的残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

A ——试样溶液中 4, 4'-二硝基均二苯脲的峰面积;

c_s ——标准溶液中 4, 4'-二硝基均二苯脲的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

V ——溶解残余物的流动相体积,单位为毫升(mL);

A_s ——标准溶液中 4, 4'-二硝基均二苯脲的峰面积;

m ——供试试料质量,单位为克(g)。

注: 计算结果需扣除空白值,测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留至小数点后三位。

9 检测方法的灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法的检测限为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法在 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 70%~110%。

9.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 15\%$,批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附录 A
色谱图

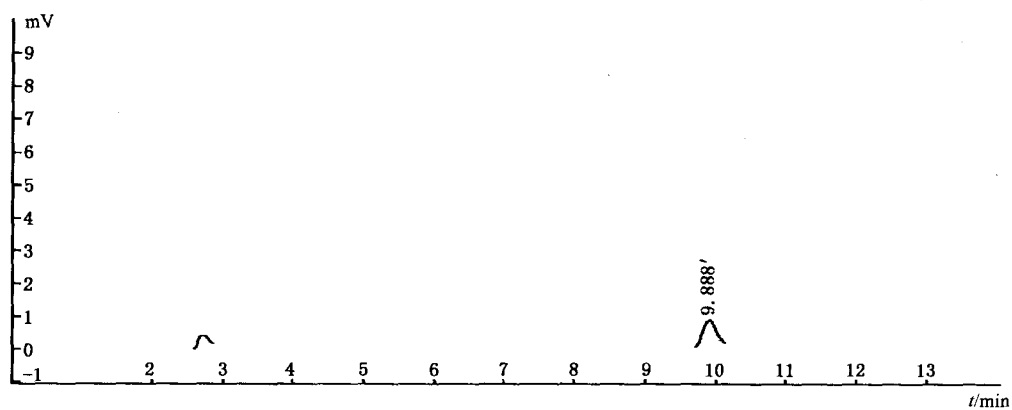


图 A.1 4, 4'-二硝基均二苯胺标准液色谱图(200 µg/L)

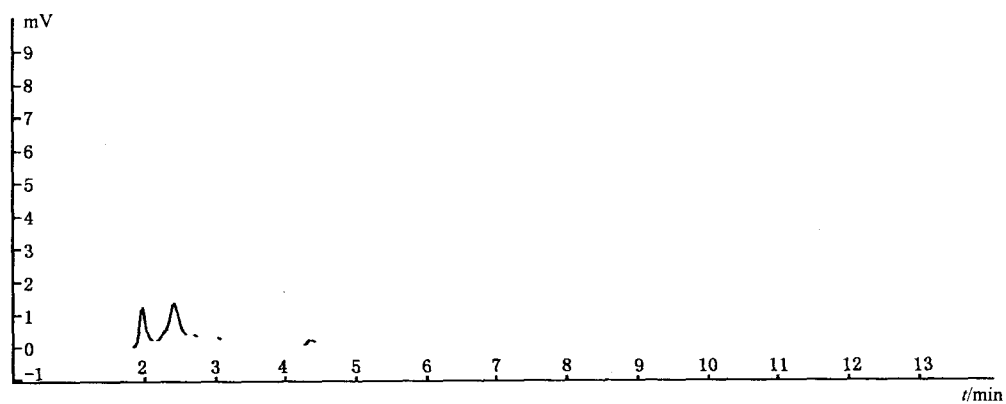


图 A.2 鸡肾脏组织空白试样色谱图

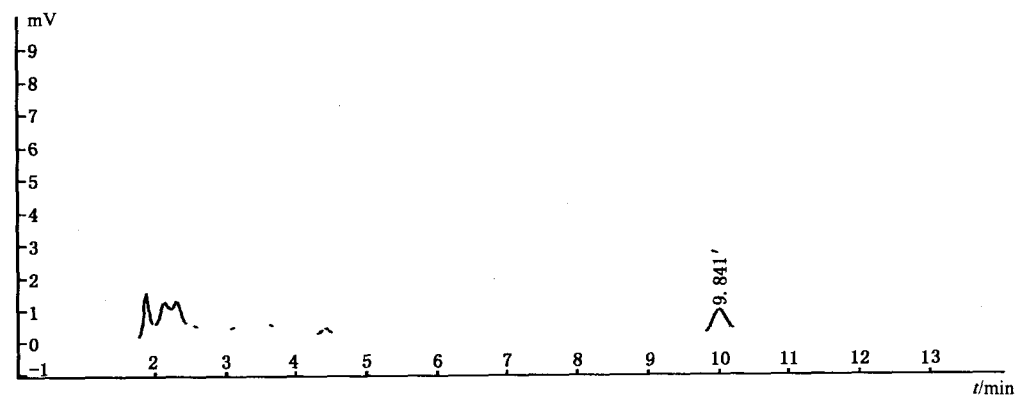


图 A.3 鸡肾脏组织空白添加 4, 4'-二硝基均二苯胺试样色谱图(200 µg/L)