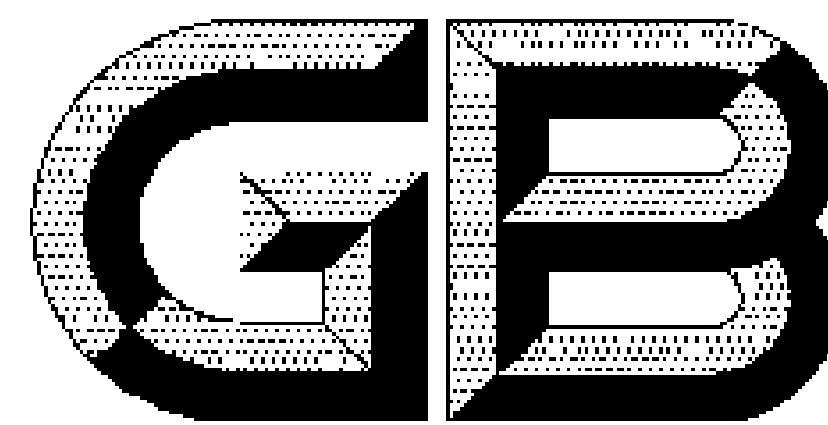




中华人民共和国国家标准

GB/T 20362—2006

鸡蛋中氯羟吡啶残留量的检测方法 高效液相色谱法

Method for the determination of clopidol residues in eggs—
High performance liquid chromatographic

2006-06-05 发布

2006-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准起草单位：江苏省兽药监察所、上海兽药监察所。

本标准主要起草人：贡玉清、邵德佳、耿士伟、黄士新、曹莹。



鸡蛋中氯羟吡啶残留量的检测方法

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了鸡蛋中氯羟吡啶残留量检验的制样和高效液相色谱测定方法。

本标准适用于鸡蛋中氯羟吡啶残留量的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规则和试验方法(GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

3 制样

3.1 样品的制备

取适量新鲜或冷藏的空白或供试全蛋,打开并搅匀。

3.2 样品的保存

4℃冰箱中贮存备用。

4 测定方法

4.1 方法提要或原理

试样中残留的氯羟吡啶经乙腈提取,用碱性氧化铝柱净化分离,洗脱液浓缩后用甲醇溶解。所得溶液用配有紫外检测器的高效液相色谱仪测定,外标法定量。

4.2 试剂和材料

以下所用的试剂,除特殊注明者外,均为分析纯试剂;水为符合 GB/T 6682 规定的二级水。

4.2.1 氯羟吡啶标准品:含氯羟吡啶($C_7H_7Cl_2NO$)不得少于 98%。

4.2.2 甲醇:色谱纯。

4.2.3 乙腈:色谱纯。

4.2.4 磷酸二氢钾。

4.2.5 磷酸氢二钠。

4.2.6 碱性氧化铝:200 目~300 目,层析用。

4.2.7 碱性氧化铝 SPE 柱:取适量氧化铝粉末置高温炉中,300℃~400℃烘烤 3 h,冷却后准确称取 100.0 g,加水 5.0 mL,搅拌使均匀,振摇 3 h,加适量甲醇,充入下装 G1 砂芯板的 300 mm×18 mm 玻璃柱中,填充至 12 cm 高度,用两倍柱体积甲醇淋洗后,备用。

4.2.8 磷酸盐缓冲液(pH7.0):准确称取磷酸氢二钠(Na_2HPO_4) 2.09 g,磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 1.40 g,加水溶解并稀释至 500 mL,调节 pH 值至 7.0。

4.2.9 氯羟吡啶标准液:准确称取氯羟吡啶约 25 mg,置 250 mL 容量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,使成浓度为 100 μg/mL 的氯羟吡啶标准储备液,置 4℃冰箱中保存。临用前,准确量取适量标准储备液,用甲醇稀释成浓度为适宜浓度的标准工作液。

4.3 仪器和设备

- 4.3.1 高效液相色谱仪(配紫外检测器)。
- 4.3.2 旋涡混合器。
- 4.3.3 离心机。
- 4.3.4 分析天平:感量 0.000 1 g。
- 4.3.5 天平:感量 0.01 g。
- 4.3.6 旋转蒸发仪。
- 4.3.7 组织匀浆机。

4.4 测定步骤

4.4.1 试料的制备

试料的制备包括:

- 取搅匀后的供试样品,作为供试试料。
- 取搅匀后的空白样品,作为空白试料。
- 取搅匀后的空白样品,添加适宜浓度的标准溶液,作为空白添加试料。

4.4.2 提取

准确称取 5 g±0.05 g 试料,置于 50 mL 匀浆杯中,用 25 mL 乙腈分两次各匀浆 5 min,3 000 r/min~3 500 r/min离心 5 min,分离并合并上清液备用。

4.4.3 净化

将碱性氧化铝柱分别用 10 mL 甲醇和乙腈依次润洗,加入提取的上清液,过柱,弃去流出液,用 20 mL 甲醇进行洗脱,收集洗脱液于鸡心瓶中,于 60℃ 旋转蒸发至近干,浓缩液用 1.00 mL 甲醇溶解,用 0.45 μm 微孔有机滤膜过滤,收集滤液作为试样溶液,供高效液相色谱测定。

4.4.4 测定

4.4.4.1 色谱条件与系统适用性试验

- a) 色谱柱:反相 C₁₈ 柱:250 mm×4.6 mm,粒径 5 μm,或相当者;
- b) 流动相:磷酸盐缓冲液(pH7.0):乙腈(90:10);
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 检测波长:270 nm;
- e) 进样量 20 μL;
- f) 理论板数按氯羟吡啶峰计算,应不低于 1 500。

4.4.4.2 色谱测定法

取适量试样溶液和相应浓度的标准工作液,作单点或多点校准,以色谱峰面积积分值定量。标准工作液及试样液中氯羟吡啶的响应值均应在仪器检测的线性范围内。标准品液相色谱图见附录 A 中图 A.1。

4.4.4.3 空白试验

除不加试料外,采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

4.5 结果计算和表述

组织中氯羟吡啶的残留量按式(1)计算:

$$X = \frac{A \times c_s \times 1\,000}{A_s \times c \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X——供试组织中氯羟吡啶的残留量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- A——供试试料试样溶液中氯羟吡啶色谱峰的峰面积;
- A_s——标准工作液中氯羟吡啶的峰面积;



c_s ——标准工作液中氯羟吡啶的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

c ——最终试样溶液的浓度,单位为克每毫升(g/mL)。

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2位。

5 检测方法灵敏度、准确度、精密度

5.1 灵敏度

本方法在鸡蛋中的定量限为 $20\ \mu\text{g/kg}$ 。



5.2 准确度

本方法在 $20\ \mu\text{g/kg}$ 、 $1.25\ \text{mg/kg}$ 、 $2.5\ \text{mg/kg}$ 、 $5.0\ \text{mg/kg}$ 添加水平上的回收率范围都 $\geq 80\%$ 。

5.3 精密度

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

附录 A
(资料性附录)
色谱图

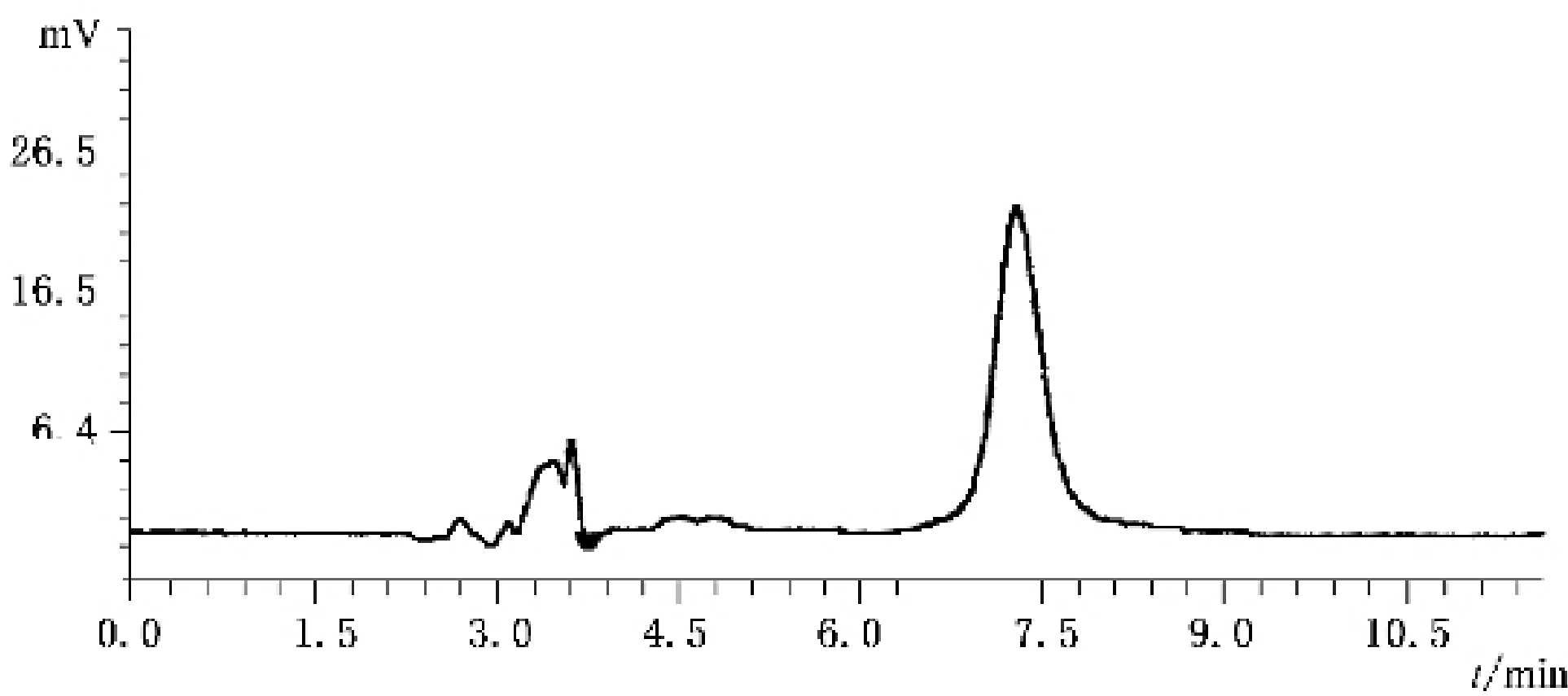


图 A.1 氯羟吡啉标准溶液色谱图

SZK

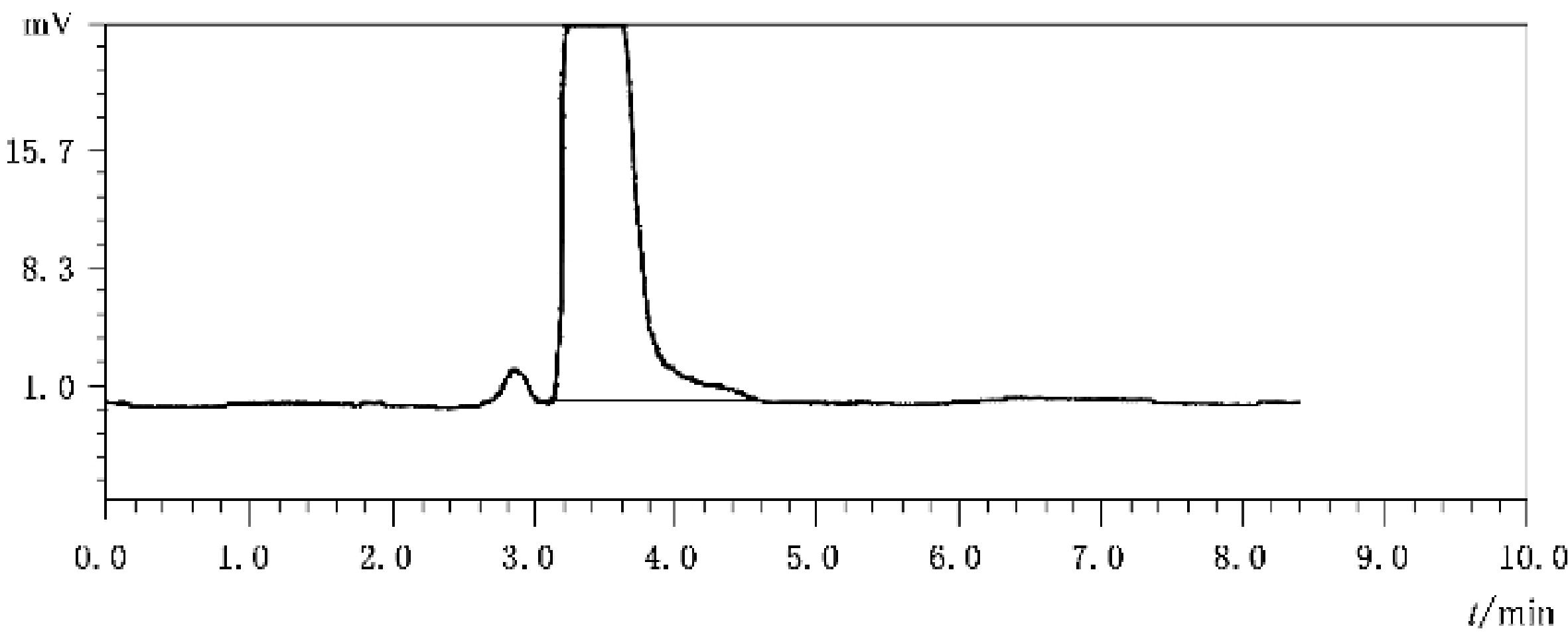


图 A.2 空白鸡蛋色谱图

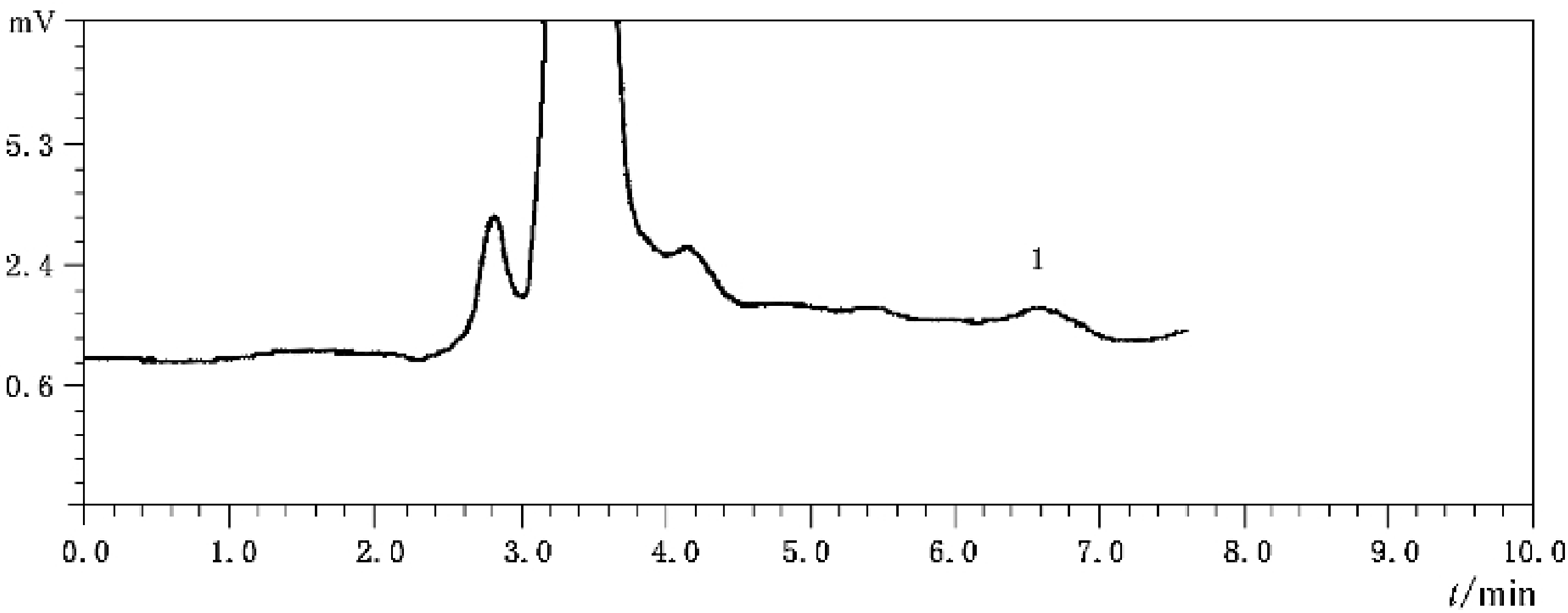


图 A.3 鸡蛋中氯羟吡啉最低定量限色谱图

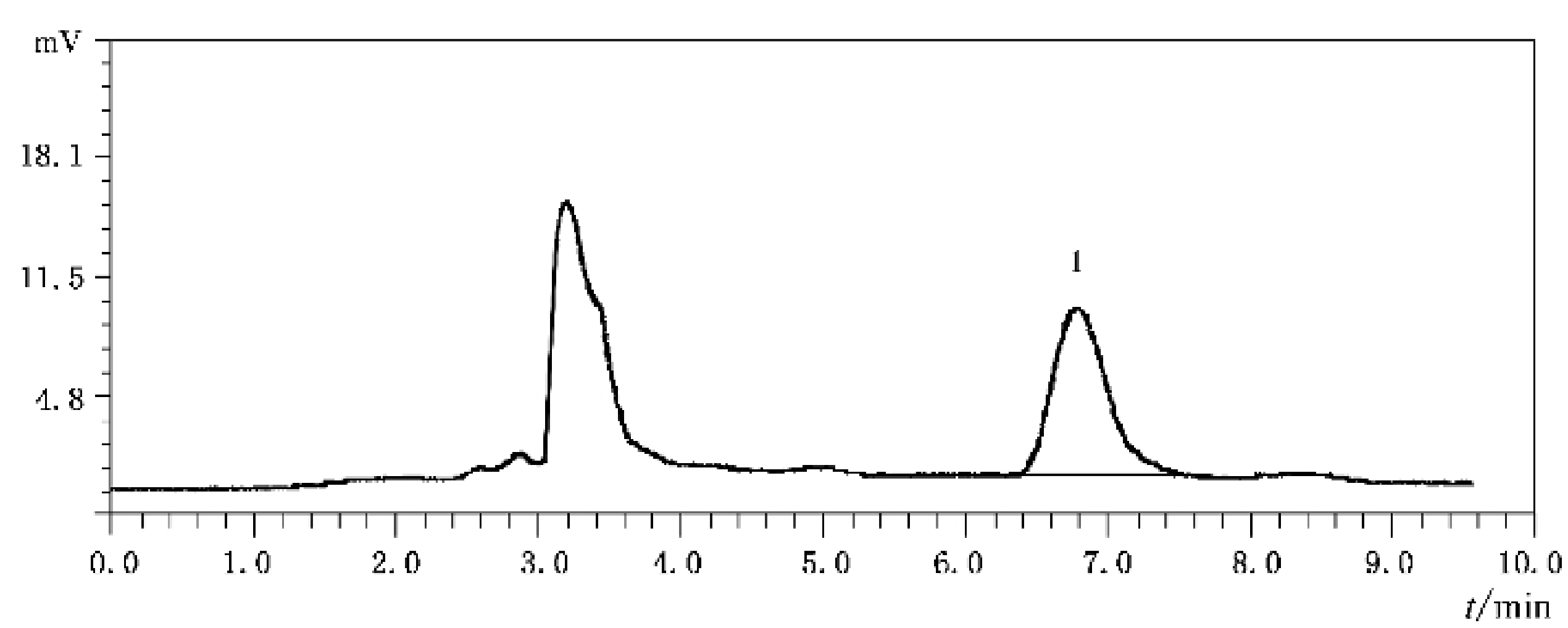


图 A.4 鸡蛋中氯羟吡啶回收率(1.25 mg/kg)色谱图