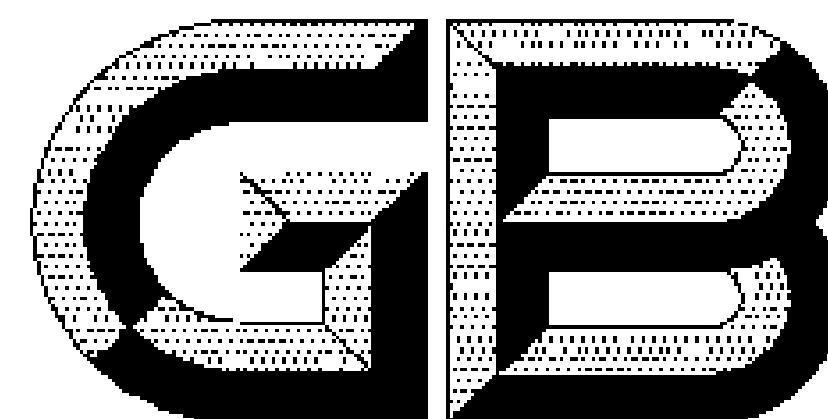




中华人民共和国国家标准

GB/T 20443—2006

鸡组织中己烯雌酚残留的测定 高效液相色谱-电化学检测器法

Method for the determination of diethylstilbestrol in chicken tissue—
High performance liquid chromatography with electrochemical detection

2006-08-28 发布

2006-11-01 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并归口。

本标准起草单位：农业部畜禽产品质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人：杨清峰、吴银良、薛毅、单吉浩、李卫东、王海、刘勇军。



鸡组织中己烯雌酚残留的测定

高效液相色谱-电化学检测器法

1 范围

本标准规定了鸡组织中己烯雌酚残留量测定的高效液相色谱-电化学检测器方法。

本标准适用于鸡组织中(鸡肌肉和鸡肝脏)己烯雌酚残留量的测定。

2 原理

鸡组织中的己烯雌酚经叔丁基甲基醚提取、C₁₈柱净化,甲醇和水的混合液洗脱。以甲醇-磷酸盐缓冲液(pH3.5)为流动相,用高效液相色谱-电化学检测器法测定,外标法定量。电化学检测器对可氧化还原的化合物具有很高的灵敏度,利用这一特点,可测出痕量的己烯雌酚。

3 试剂和材料

所有试剂除注明外均为分析纯,实验用水为去离子水。

- 3.1 叔丁基甲基醚:色谱纯。
- 3.2 甲醇:色谱纯。
- 3.3 氢氧化钠溶液:1 mol/L 水溶液。
- 3.4 乙酸。
- 3.5 乙酸溶液:体积分数为 20% 水溶液。
- 3.6 磷酸盐缓冲液:0.05 mol/L 磷酸二氢钾水溶液,pH 3.5。
- 3.7 己烯雌酚标准品:纯度 $\geq 99\%$ 。
- 3.8 己烯雌酚标准储备液:准确称取一定量的己烯雌酚标准品于棕色容量瓶中,用甲醇溶解后定容至刻度,得 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。储存于 4℃ 冰箱中,使用前恢复至室温。
- 3.9 己烯雌酚标准工作液:用前将储备液用甲醇稀释为 50 ng/mL~2 000 ng/mL 的浓度系列。

4 仪器和设备

- 4.1 高效液相色谱仪,配电化学检测器。
- 4.2 均质器。
- 4.3 固相萃取装置。
- 4.4 固相萃取小柱:C₁₈柱,容积为 6 mL。
- 4.5 旋转蒸发器。
- 4.6 心形瓶:100 mL。
- 4.7 分液漏斗:100 mL。
- 4.8 酸度计。
- 4.9 涡旋混匀器。
- 4.10 真空泵。
- 4.11 样品浓缩仪。

5 样品处理

样品采集后于 10 000 r/min 下匀浆(或者将样品尽量粉碎),于-20℃ 以下冷冻保存,分析用时将其

解冻后使用。

6 分析步骤

6.1 提取

称取试样 10 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 带盖离心管中,加入 15 mL 叔丁基甲基醚,用均质器以 10 000 r/min 的速度均质 15 s 后以 3 000 r/min 的速度离心 10 min,收集上清液,再用 15 mL 叔丁基甲基醚提取一次,合并有机相至 100 mL 分液漏斗中,加入 1 mol/L 的氢氧化钠溶液 10 mL,剧烈振摇 1 min,静置分层 30 min,收集水相并用体积分数为 20% 的乙酸调 pH 至 4.5,备用。

6.2 净化

依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水和 5 mL 的甲醇:水[V(甲醇)+V(水)=45+55]预洗 C₁₈ 小柱,然后将 6.1 中备用液过柱,弃去流出液;再用 4 mL 的甲醇:水[V(甲醇)+V(水)=80+20]洗脱,洗脱液用旋转蒸发仪浓缩至约 1 mL 后用甲醇转移至 2.0 mL 的小瓶中,用氮气吹干,最后用 300 μL 流动相溶解供高效液相色谱-电化学检测器测定用。

6.3 测定

6.3.1 高效液相色谱条件

色谱柱:C₁₈, 3.9 mm×150 mm;

流动相:甲醇-0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH3.5)[V(甲醇)+V(0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液)=60+40];

流速:1.0 mL/min;

电化学检测器的灵敏度设在 1 nA,工作电势为 900 mV;

进样量:40 μL。

6.3.2 高效液相色谱测定

根据样液中己烯雌酚残留量情况,选定峰面积相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中己烯雌酚响应值均应在仪器检测线性范围内。标准工作溶液和样液等体积参插进样进行测定。在上述色谱条件下,己烯雌酚保留时间约为 7.2 min。标准品色谱图参见附录 A 中图 A.1。

6.3.3 空白试验

除不加试样外,采用 6.1~6.3.2 的测定步骤进行平行操作。

6.3.4 结果计算和表述

用色谱数据处理系统或按式(1)计算试样中己烯雌酚残留量:

$$X = \frac{A \cdot c \cdot V \times 1\,000}{A_s \cdot m \times 1\,000} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——试样中己烯雌酚残留量,单位为微克每千克(μg/kg);

A——样液中己烯雌酚峰面积;

A_s——标准工作液中己烯雌酚峰面积;

c——标准工作液中己烯雌酚的质量浓度,单位为微克每升(μg/L);

V——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);

m——最终样液所相当的试样质量,单位为克(g)。

7 检测限、回收率

7.1 检测限

本方法在鸡组织(鸡肉和鸡肝)中的检测限为 1 μg/kg。

7.2 回收率

本方法在 1 μg/kg~100 μg/kg 添加浓度的回收率为 60%~110%。

附录 A
(资料性附录)
标准品色谱图

己烯雌酚标准品的液相色谱图见图 A.1。

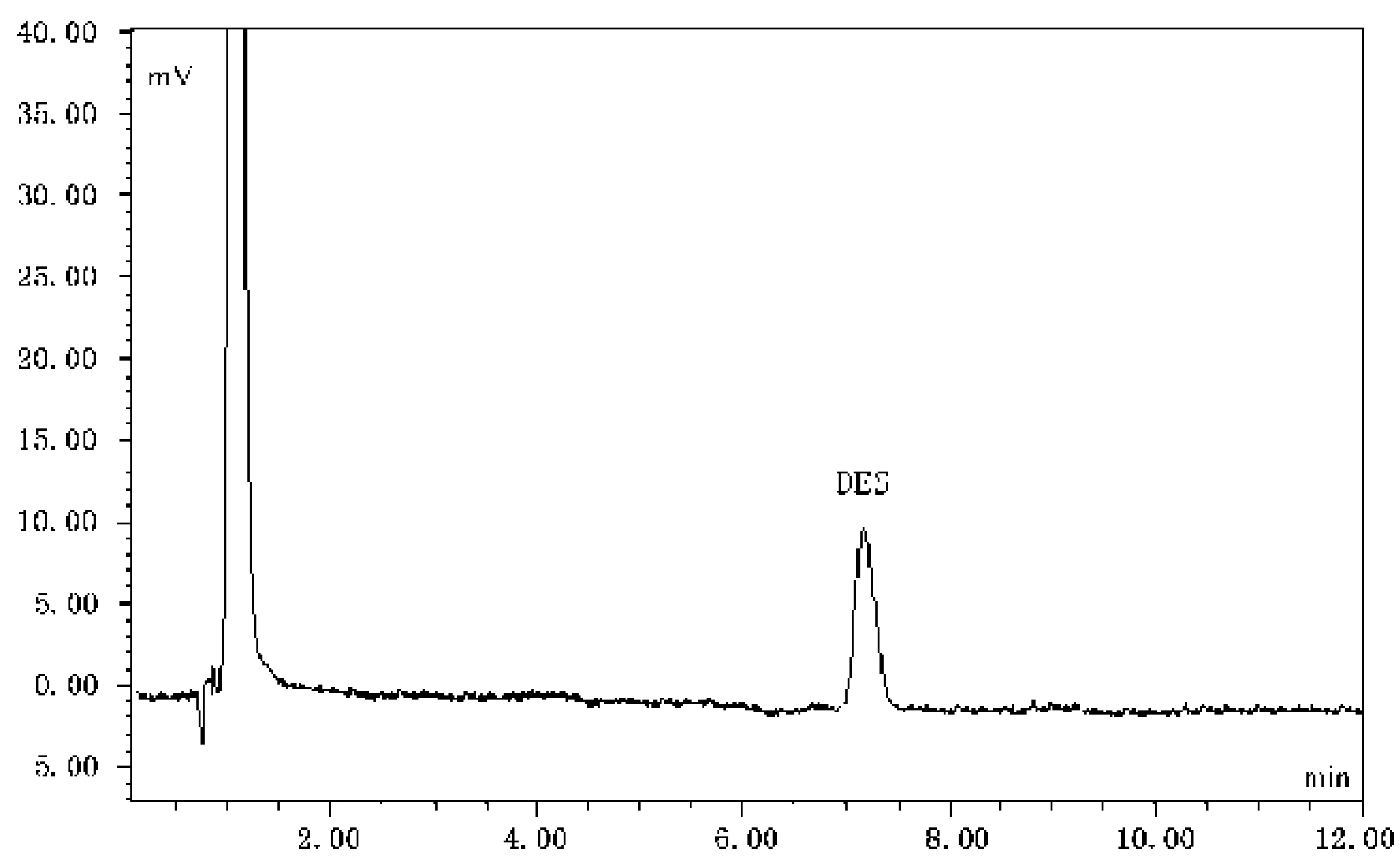


图 A.1 己烯雌酚标准品的液相色谱图