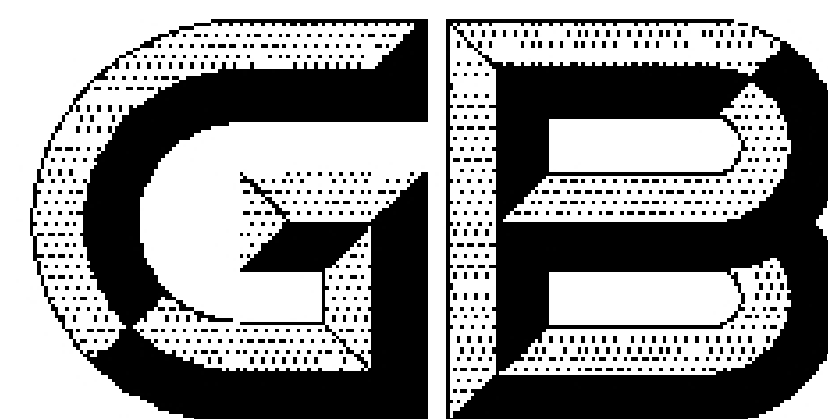




中华人民共和国国家标准

GB/T 20754—2006

畜禽肉中保泰松残留量的测定 液相色谱-紫外检测法

Method for the determination of phenylbutazone in
livestock and poultry muscles—
LC-UV detection method

2006-12-31 发布

2007-03-01 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 和附录 B 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局提出。

本标准由中华人民共和国质量监督检验检疫总局归口。

本标准起草单位：中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：庞国芳、王飞、曹彦忠、贾光群、李学民、张进杰、范春林、刘永明、石玉秋。

本标准系首次发布的国家标准。

畜禽肉中保泰松残留量的测定

液相色谱-紫外检测法

1 范围

本标准规定了牛肉、猪肉、羊肉和鸡肉中保泰松残留量的液相色谱测定方法。

本标准适用于牛肉、猪肉、羊肉和鸡肉中保泰松残留量的测定。

本标准的方法检出限： $5.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

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 6379.1 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第1部分：总则与定义（GB/T 6379.1—2004，ISO 5725-1:1994，IDT）

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第2部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法（GB/T 6379.2—2004，ISO 5725-2:1994，IDT）

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

3 原理

畜禽肉中保泰松残留用甲醇+二硫苏糖醇的乙酸乙酯溶液提取，提取液浓缩后，用甲醇+氨水+二氯甲烷+二硫苏糖醇的乙酸乙酯溶液溶解，佛罗里土固相萃取柱净化，用冰乙酸+甲醇+二氯甲烷+乙醚混合溶液洗脱并蒸至近干，残渣用流动相溶解定容，样品溶液供液相色谱-紫外检测器测定，外标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲醇：色谱纯。

4.2 冰乙酸。

4.3 乙腈：色谱纯。

4.4 乙酸铵。

4.5 氢氧化铵。

4.6 乙醚。

4.7 二硫苏糖醇：纯度 $\geq 99\%$ 。

4.8 乙酸乙酯：色谱纯。

4.9 二氯甲烷：色谱纯。

4.10 乙酸铵溶液： $0.05\ \text{mol/L}$ 。称取 $1.95\ \text{g}$ 乙酸铵（4.4），用水溶解并定容于 $500\ \text{mL}$ 容量瓶中。

4.11 流动相： $0.05\ \text{mol/L}$ 乙酸铵溶液（4.10）+甲醇（4.1）+乙腈（4.3）（50+37+13）。

4.12 溶液 A： $0.25\ \text{mg/mL}$ 。称取 $0.125\ \text{g}$ 二硫苏糖醇（4.7），用乙酸乙酯（4.8）溶解并定容至 $500\ \text{mL}$ 容量瓶中。

- 4.13 溶液 B: 甲醇+溶液 A(4.12)(1+7)。用前制备。
- 4.14 溶液 C: 甲醇+氢氧化铵(4.5)+二氯甲烷(4.9)+溶液 A(1+1+70+70)。用前制备。
- 4.15 溶液 D: 吸取 2.0 mL 冰乙酸(4.2)和 4.0 mL 甲醇于 100 mL 容量瓶中,用二氯甲烷定容至刻度后,与等体积乙醚混合。用前制备。
- 4.16 保泰松标准物质: 纯度 $\geq 95\%$ 。
- 4.17 保泰松标准储备溶液: $50.0\ \mu\text{g/mL}$ 。准确称取 5.0 mg 保泰松标准物质(4.16)于 100 mL 容量瓶中,用 80 mL 甲醇溶解,加入 5.0 mL 溶液 A,用甲醇定容至刻度,混匀。 4°C 保存。
- 4.18 中间浓度保泰松标准溶液: $2.0\ \mu\text{g/mL}$ 。吸取 0.4 mL 保泰松标准储备溶液(4.17)于 10 mL 容量瓶中,用流动相定容至刻度。 4°C 保存。
- 4.19 保泰松标准工作溶液: 分别吸取 $2.5\ \mu\text{L}$ 、 $5.0\ \mu\text{L}$ 、 $12.5\ \mu\text{L}$ 、 $25.0\ \mu\text{L}$ 、 $50.0\ \mu\text{L}$ 中间浓度保泰松标准溶液(4.18),用流动相定容至 1.0 mL,配成 $5.0\ \text{ng/mL}$ 、 $10.0\ \text{ng/mL}$ 、 $25.0\ \text{ng/mL}$ 、 $50.0\ \text{ng/mL}$ 、 $100.0\ \text{ng/mL}$ 浓度系列保泰松标准工作溶液。在 4°C 保存,可使用一周。
- 4.20 弗罗里土固相萃取柱或相当者: 2 g, 12 mL。用前用 5 mL 溶液 C(4.14)处理。保持柱体湿润。
- 4.21 滤膜: $0.2\ \mu\text{m}$ 。

5 仪器

- 5.1 液相色谱仪: 配有紫外检测器。
- 5.2 天平: 感量 0.01 g, 0.000 1 g。
- 5.3 氮气浓缩仪。
- 5.4 离心管: 50 mL, 具塞聚丙烯离心管。
- 5.5 固相萃取装置。
- 5.6 均质器。
- 5.7 冷冻离心机。

6 试样制备与保存

6.1 试样的制备

从全部样品中取出有代表性样品约 1 kg, 充分搅碎, 混匀, 均分成两份, 分别装入洁净容器内。密封后作为试样, 标明标记。在抽样和制样的操作过程中, 应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

6.2 试样的保存

将试样于 -18°C 保存。



7 测定步骤

7.1 提取

称取 2 g 试样, 精确至 0.01 g, 置于 50 mL 离心管(5.4)中。加入 8 mL 溶液 B(4.13), 于振荡器上剧烈振荡 10 min, 在 5°C 以 4 000 r/min 离心 5 min 后, 取上清液于另一离心管中; 重复前述步骤, 将残渣再提取两次。合并三次提取液, 用氮气浓缩仪于 55°C 水浴中吹至近干, 待净化。

7.2 净化

用 5 mL 溶液 C(4.14)分两次溶解残渣, 分别倒入弗罗里土固相萃取柱(4.20)中, 使样液以 $<1.0\ \text{mL/min}$ 的流速通过弗罗里土固相萃取柱, 待样液全部流出后, 再用 1 mL 溶液 C(4.14)洗柱, 弃去全部流出液。最后用 15 mL 溶液 D(4.15)洗脱, 洗脱液收集于 30 mL 锥形试管中, 用氮气浓缩仪于 55°C 水浴中吹至近干, 残液用 1.0 mL 流动相溶解、定容。过 $0.2\ \mu\text{m}$ 滤膜(4.21)后, 供液相色谱仪测定。

7.3 色谱测定

7.3.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱: Mightysil C₁₈, 3 μm, 150 mm×4.6 mm 或相当者;
- b) 流动相: 0.05 mol/L 乙酸铵溶液+甲醇+乙腈(50+37+13);
- c) 流速: 0.8 mL/min;
- d) 柱温: 40℃;
- e) 进样量: 40 μL;
- f) 波长: 270 nm。

7.3.2 液相色谱测定

在仪器最佳工作条件下,以保泰松标准工作溶液(4.19)浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。用标准工作曲线对样品进行定量。使样品溶液中保泰松的响应值在仪器测定的线性范围内。在上述色谱条件下,保泰松的参考保留时间为 8.1 min,保泰松标准溶液色谱图见图 A.1。

7.4 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。

7.5 空白试验

除不称取样品外,均按上述步骤进行。

8 结果计算

试样中保泰松残留量利用数据处理系统计算或按式(1)计算:

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

式中:

X ——试样中被测组分残留量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c ——从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——试样溶液定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样溶液所代表试样的质量,单位为克(g)。

计算结果应扣除空白值。

9 精密度

本标准的精密度数据是按照 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 的规定确定的,其重复性和再现性的值以 95%的可信度来计算。

9.1 重复性

在重复性实验的条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限 r ,畜禽肉中保泰松含量范围及重复性方程见表 1。

表 1 含量范围及重复性和再现性方程

药物名称	含量范围/(μg/kg)	重复性限 r	再现性限 R
保泰松	5.0~150.0	$\lg r = 0.764\,9 \lg m - 0.828\,5$	$\lg R = 0.712\,0 \lg m - 0.760\,1$
注: m 为两次测定值的算术平均值。			

如果差值超过重复性限 r ,应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

9.2 再现性

在再现性实验的条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限 R ,畜禽肉中保泰松的含量范围及再现性方程见表 1。

附录 A
(资料性附录)
标准物质液相色谱图

保泰松标准物质液相色谱图,见图 A.1。

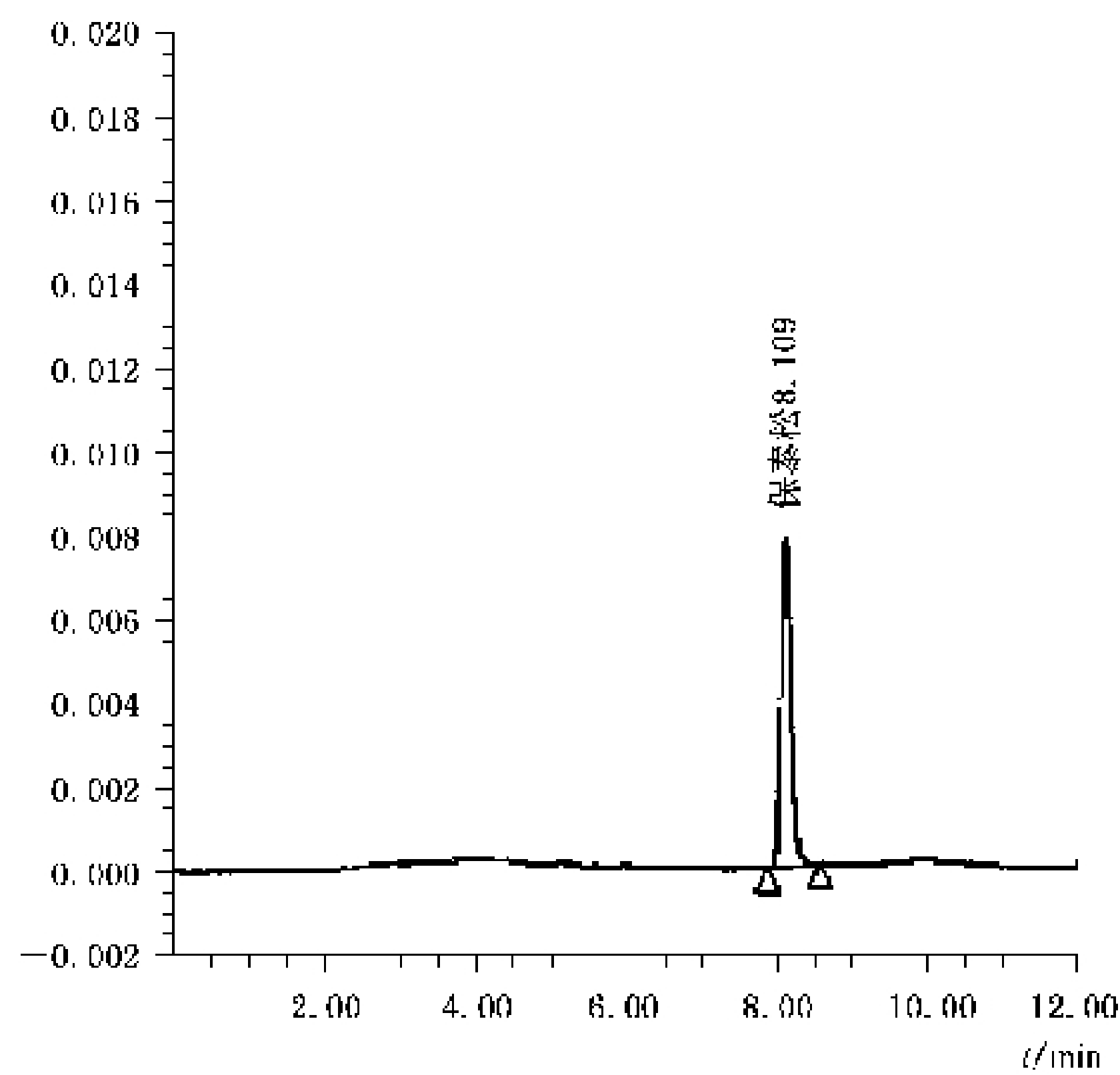


图 A.1 保泰松标准物质液相色谱图

附录 B
(资料性附录)
回收率

本方法中保泰松添加浓度及其平均回收率的试验数据,见表 B.1。

表 B.1 保泰松添加浓度及其平均回收率的试验数据

药物名称	添加水平/($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率/(%)
保泰松	5.0	86.9
	10.0	82.2
	50.0	91.4
	100.0	90.3