

### 鸡排泄物中氧氟沙星的含量检测 高效液 相色谱-荧光检测法

Determination of ofloxacin in excrements of chicken—High performance liquid  
chromatography-fluorescence detection method

地方标准信息服务平台

2022 - 06 - 29 发布

2022 - 07 - 29 实施



## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由安徽省兽药饲料监察所提出。

本文件由安徽省农业农村厅归口。

本文件起草单位：安徽中青检验检测有限公司、安徽省兽药饲料监察所、安徽天祥检验检测有限公司、望江县农产品质量安全中心、安徽省农业科学院畜牧兽医研究所、安徽农业大学、阜阳市农业综合行政执法监督支队、泗县草沟镇畜牧兽医水产站、定远县康源农牧科技股份有限公司、合肥市动物疫病预防控制中心。

本文件主要起草人：许世富、潘孝成、谢军池、王媛媛、韩素珍、涂健、许晓靖、祁钊、吴昊、刘发全、马腾飞、郝金华、陈守美、谢俊东、宋亚伟。

地方标准信息服务平台



# 鸡排泄物中氧氟沙星的含量检测 高效液相色谱-荧光检测法

## 1 范围

本文件规定了鸡排泄物中氧氟沙星含量的高效液相色谱-荧光检测方法。  
本文件适用于鸡排泄物中氧氟沙星含量的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

试样中的氧氟沙星用乙酸甲醇溶液超声提取，经离心、过滤、浓缩后，高效液相色谱分离，用荧光检测器测定，外标法定量。

## 5 试剂和材料

除特殊说明外，本方法所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

### 5.1 试剂

- 5.1.1 乙腈：色谱纯。
- 5.1.2 甲醇。
- 5.1.3 乙酸。
- 5.1.4 盐酸。
- 5.1.5 磷酸：85%。
- 5.1.6 三乙胺。

### 5.2 溶液配制

- 5.2.1 0.1 mol/L 盐酸溶液：取盐酸 9 mL，加水稀释到 1000 mL，混匀。
- 5.2.2 20% 乙酸甲醇溶液：取乙酸 200 mL，加入甲醇溶液至 1000 mL，混匀。
- 5.2.3 0.02 mol/L 磷酸溶液：称取 85% 的磷酸 2.31 g，加水溶解并定容至 1000 mL，混匀。
- 5.2.4 三乙胺磷酸溶液：取 0.02 mol/L 磷酸溶液 1000 mL，加入 1.4 mL 三乙胺，混匀。

5.2.5 流动相：分别取乙腈和三乙胺磷酸溶液（5.3.4）按体积比 10: 90 混匀。

### 5.3 标准品及标准溶液配制

5.3.1 标准品：氧氟沙星标准品（CAS 号：82419-36-1），纯度  $\geq 98.0\%$ 。

5.3.2 标准储备液（0.5 mg/mL）：取氧氟沙星标准品 10 mg，精密称定，用 1 mL 的 0.1 mol/L 盐酸溶解后，加水稀释并定容至 20 mL 容量瓶，配制成浓度为 0.5 mg/mL 的标准储备液，于 4℃避光保存，有效期 3 个月。

5.3.3 标准工作液（10  $\mu\text{g/mL}$ ）：准确量取上述标准储备液（0.5 mg/mL）1 mL，加水稀释并定容至 50 mL 容量瓶，配制成浓度为 10  $\mu\text{g/mL}$  的标准工作液，于 4℃避光保存，有效期 1 个月。

## 6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪：配荧光检测器。

6.2 分析天平：感量 0.1 g、0.1 mg、0.01 mg。

6.3 高速冷冻离心机： $\geq 16000$  r/min。

6.4 超声波仪。

6.5 氮吹仪。

6.6 涡旋混合仪。

6.7 无机滤膜：0.45  $\mu\text{m}$ 。

## 7 试样的制备与保存

### 7.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试鸡排泄物，混匀，如下：

——取混匀后的供试样品，作为试样；

——取混匀后的空白样品，作为空白试样；

——取混匀后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样作为空白试样。

### 7.2 试样的保存

-18℃ 以下保存，3 个月内进行分析测试。

## 8 测定步骤

### 8.1 提取

称取 5 g（精确至 0.1 g）鸡排泄物样品，加入 20% 乙酸甲醇溶液（5.3.2）10 mL，以 2500 r/min 涡旋混匀 30 s，超声溶解 15 min，以 5000 r/min 离心 5 min，取 8 mL 上清液氮气吹干，加流动相 1 mL，以 2500 r/min 涡旋混匀 30 s，超声溶解 15 min，以 16000 r/min 4℃离心 10 min，取上清液过 0.45  $\mu\text{m}$  的滤膜，供高效液相色谱仪测定。

### 8.2 测定

#### 8.2.1 色谱条件

色谱柱：C<sub>18</sub>柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）或相当者；  
检测波长：荧光激发波长为 280 nm，发射波长为 450 nm；  
流动相：乙腈-三乙胺磷酸溶液（5.3.4），按体积比 10：90（v/v）；  
流速：1.0 mL/min；  
柱温：30℃；  
进样量：20 μL。

8.2.2 测定法

取试样溶液和标准工作溶液分别进样，得到色谱峰面积响应值，在线性范围内，用外标法作单点或多点校准，以保留时间定性，峰面积定量。氧氟沙星标准色谱图见附录A中图A.1。

8.3 空白试验

取空白试样，除不加标准溶液外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果的计算与表述

试样中氧氟沙星的含量利用数据处理系统计算或按式(1)计算：

$$X = \frac{C \times V_1 \times V_3 \times 1000}{m \times V_2 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：  
X —— 试样中被测组分的含量，单位为微克每千克（μg/kg）；  
C —— 试样溶液中氧氟沙星的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；  
V<sub>1</sub> —— 提取液体积，单位为毫升（mL）；  
V<sub>2</sub> —— 取出上清液体积，单位为毫升（mL）；  
V<sub>3</sub> —— 试样定容体积，单位为毫升（mL）；  
M —— 试样取样质量，单位为克（g）。

10 灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法的检出限为 10 μg/kg，定量限为 20 μg/kg。

10.2 准确度

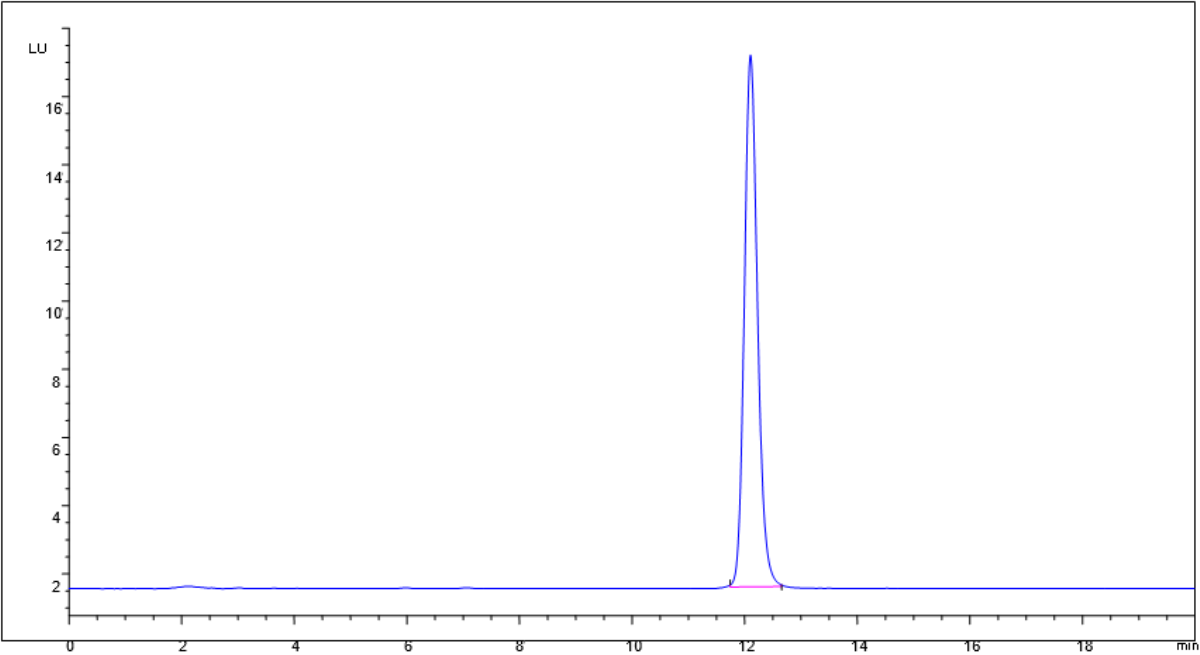
本方法在鸡排泄物 20 μg/kg~100 μg/kg，添加浓度的回收率为 80%~110%。

10.3 精密度

本方法的批内、批间相对标准偏差均 ≤ 10%。

附 录 A  
(资料性)  
氧氟沙星标准溶液的图谱

见图A. 1。



图A. 1 氧氟沙星标准溶液（100 ng/mL）的液相色谱图