



中华人民共和国商业行业标准

SB/T 10501—2008

畜禽肉中地西泮的测定 高效液相色谱法

Determination of diazepam in muscle of livestock and poultry—
High performance liquid chromatography

2008-09-27 发布

2009-03-01 实施

中华人民共和国商务部 发布

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商务部提出并归口。

本标准由中华人民共和国商务部屠宰技术鉴定中心负责起草。

本标准主要起草人：侯晓林、宋德华、金社胜、刘文娟。

本标准委托商务部屠宰技术鉴定中心负责解释。

畜禽肉中地西洋的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了畜禽肉中地西洋的高效液相色谱(HPLC)测定方法。

本标准适用于鸡肉和猪肉中地西洋残留的检测。

本方法的最低检测限为 0.01 mg/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 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3639:1987,MOD)

3 方法原理

被检样品组织中地西洋经乙腈提取,固相萃取净化,用反相高效液相色谱-紫外检测器进行检测,采用外标法定量。

4 试剂与材料

除有特殊指明外,本方法中涉及试剂均为分析纯,水为符合 GB/T 6682 规定的二级水。

4.1 乙腈:色谱纯。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 乙酸铵。

4.4 异丙醇。

4.5 乙酸。

4.6 高氯酸。

4.7 三乙胺。

4.8 地西洋标准品。

4.9 C₁₈固相萃取小柱:500 mg,3 mL,或相当者。

4.10 1%高氯酸溶液:取 1 mL 高氯酸,用水稀释至 100 mL。

4.11 微孔针筒式滤膜 0.2 μm。

4.12 标准溶液

4.12.1 标准贮备液

分别精密称取 50.0 mg(根据纯度折算成纯物质)地西洋标准品,用乙腈溶解并于 50 mL 容量瓶定容,−18℃避光可稳定保存 6 个月。

4.12.2 标准工作液

临用前,取上述标准贮备液,用 1%高氯酸水溶液稀释成浓度为 0.05 μg/mL,0.10 μg/mL,0.20 μg/mL,0.50 μg/mL 和 1.00 μg/mL 的标准工作液,进样测定。

4.13 淋洗液:甲醇:水:三乙胺(35:65:0.1,体积比)。

5 仪器与设备

5.1 配有紫外-可见光检测器的高效液相色谱仪。

5.2 天平:感量 0.01 g。

5.3 天平:感量 0.000 1 g。

5.4 冷冻离心机。

5.5 组织匀浆机。

5.6 旋转蒸发仪。

6 样品制备

肌肉组织样品经高速组织匀浆机匀浆。保存于-20℃冰箱待用。

7 分析步骤

7.1 样品处理

7.1.1 提取

称取 5 g(准确至 0.01 g)匀浆试样,加无水硫酸钠 5 g,用 20 mL 乙腈提取,超声 15 min,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液,再用 20 mL 乙腈重复提取一次,超声,离心,收集两次上清液于鸡心瓶中,加 10 mL 异丙醇,50℃减压旋转蒸至近干,用 5 mL 甲醇-水(2:8,体积比)溶解。

7.1.2 净化

C₁₈ 固相萃取柱依次用 5 mL 甲醇,5 mL 水,5 mL 甲醇-水(2:8,体积比)平衡,将上述复溶液上样:再用 5 mL 淋洗液(4.13)洗涤鸡心瓶,用鸡心瓶洗涤液洗涤小柱;最后用 5 mL 甲醇-乙酸(95:5,体积比)洗脱样品残留,收集洗脱液。

将收集的洗脱液于 50℃水浴氮气吹干,用 1%高氯酸水溶液 1 mL,正己烷 2 mL 复溶,静置分层后取下层水相过 0.2 μm 滤膜,供 HPLC(高效液相色谱)分析。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱参考条件

色谱柱:Grace Smart RP18(250×4.6 mm,5μm)或相当者。

流动相:0.02 mol 乙酸铵水溶液:乙腈(40:60,体积比)。

流速:1.0 mL/min。

检测波长:230 nm。

进样量:50 μL。

7.2.2 标准曲线

分别配制浓度为 0.05 μg/mL,0.10 μg/mL,0.20 μg/mL,0.50 μg/mL 和 1.00 μg/mL 的 5 个地西洋标准工作溶液,然后依据上述色谱条件,每个标准工作液进样量 50 μL,测定其峰面积,以标准液浓度对应峰面积做校正曲线,求出线性回归方程和相关系数。标准溶液的色谱图参见图 A.1。

7.2.3 样品测定

在上述色谱条件下,吸取已净化的样品溶液 50 μL,进行 HPLC 分析。

样品中待测组分的浓度按式(1)计算。

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

式中:

X——样品中待测组分的浓度,单位为毫克每千克(mg/kg);

c——由标准曲线得出的样液中地西洋的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

m ——检测样品取样量,单位为克(g);

V ——样品定容体积,单位为毫升(mL)。

对测定结果用平行样测定的算术平均值表示,保留至小数点后 1 位。

8 精密度

在重复性条件下获得的两个平行测定结果的相对偏差不大于 10%。

附录 A
(资料性附录)
地西洋标准品色谱图

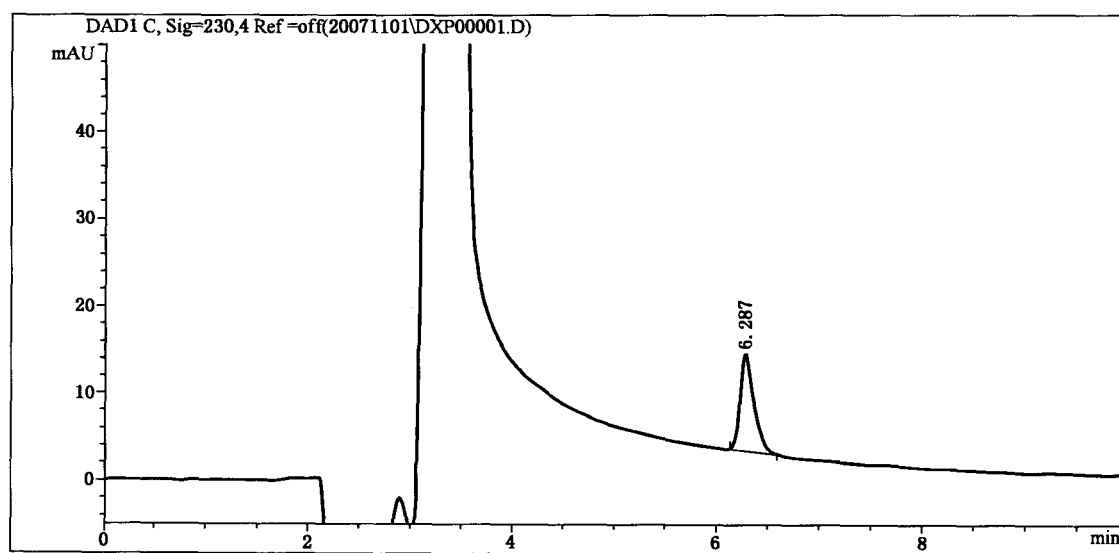


图 A.1 地西洋标准品色谱图(地西洋标准品保留时间为 6.287 min)