

岛津 Nexera LC-40 测定鸡肉组织中乙氧酰胺苯甲酯的残留量

LC-198

摘要： 本文建立了高效液相色谱法测定鸡肉组织中乙氧酰胺苯甲酯残留量的方法。样品参照国标《GB 31660.9-2019》中的前处理方式，分别进行提取、净化，然后进行上机分析。乙氧酰胺苯甲酯在 0.05-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内具有较好的线性关系，线性相关系数 $r > 0.9998$ ，检出限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。加标回收实验回收率在 82.3-85.6% 之间，连续 6 次进样保留时间 RSD% 为 0.016-0.029%、峰面积 RSD% 为 0.012-0.614%，系统精密度良好。

关键词： 高效液相色谱法 乙氧酰胺苯甲酯 鸡肉组织

乙氧酰胺苯甲酯作为抗球虫药的增效剂，可有效抑制鸡排出感染的巨型艾美耳球虫卵。但过量的药物使用可能会在动物体内滞留或蓄积，人食用动物组织后随之进入人体系统，严重危害人体健康。

2020 年 4 月 1 号开始《GB 31660.9-2019 家禽可食性组织中乙氧酰胺苯甲酯残留量的测定 高效液相色谱法》标准开始实施，该标准中严格规定了乙氧酰胺苯

甲酯在家禽肌肉组织中的检测限为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；在肝脏和肾脏组织中的检测限为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

本实验参照标准中的实验条件，使用岛津 Nexera LC-40 超高效液相色谱仪对鸡肉组织中乙氧酰胺苯甲酯残留量进行测定，结果表明，该方法检测灵敏度高，重复性好，可以满足标准中的检测要求。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 液相色谱仪，包括 CBM-40Lite 系统控制器，LC-40B X3 输送泵，SIL-40C X3 自动进样器，CTO-40S 柱温箱，SPD-40 检测器，LabSolutions Ver. 5.97 色谱工作站

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm , Shimadzu P/N:227-30017-08)

流动相：A：水；B：乙腈

流速：1 mL/min

柱温：40°C

检测波长：270 nm

进样体积：10 μL

洗脱方式：等度洗脱，A:B=70:30

1.3 标准品与试剂

标准品：购于天津阿尔塔科技有限公司，于 -20°C 冰箱保存，备用。

试剂：硅酸镁固相萃取柱 (1 g / 6 mL)，购于上海安谱。

乙腈：色谱级，室温保存。

实验用水：由 Milli-Q Plus 水净化系统经去离子与二次净化制得。

■ 样品前处理

提取：称取 5 g 鸡肉组织，于 50 mL 离心管中，依次加入 15 mL 乙腈、10 g 无水硫酸钠、10 mL 正己烷，盖上离心管盖，涡旋混匀 1 min，震荡 5 min。4000 r/min 下离心 10 min。取下层乙腈于离心管中，沉淀中再加入乙腈 15 mL，重新提取一次，合并两次乙腈提取液，45°C 旋转蒸发至近干。加入正己烷 - 丙酮 (9:1) 5 mL 使其溶解，超声 30 s，摇匀后转移至 10 mL 离心管，4000 r/min 离心 10 min，取上清液备用。

净化：硅酸镁固相萃取柱用 6 mL 甲醇预洗，取上清液 1 mL 过柱，6 mL 正己烷淋洗，然后用 6 mL 甲醇洗脱，收集洗脱液，浓缩至 1 mL，过 0.45 μm 微孔滤膜后上机分析。

■ 结果与讨论

3.1 标准品溶液色谱图和线性范围

精密量取乙氧酰胺苯甲酯标准品适量，用甲醇稀释成浓度为 0.05、0.1、0.25、0.5、1、2.5、5 μg/mL 七个浓度的标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，乙氧酰胺苯甲酯标准品溶液色谱图如图 1 所示。

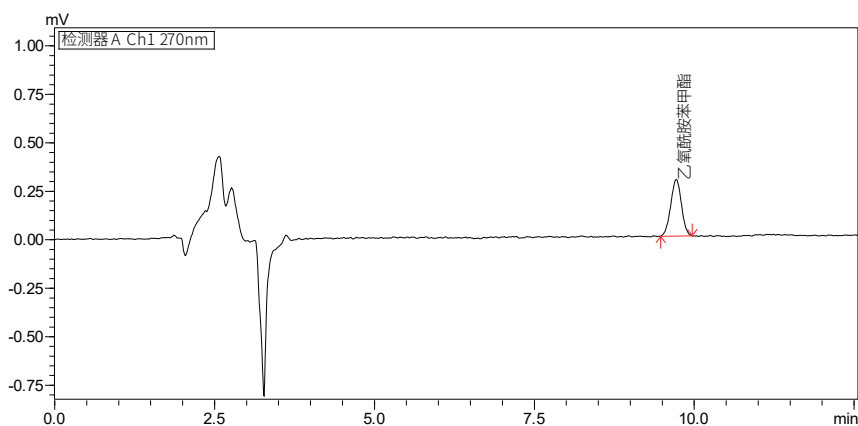


图 1 标准品溶液色谱图 (0.1 μg/mL)

以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立标准曲线，结果如图 2 所示。所得曲线线性关系良好，线性方程、线性范围、相关系数和检出限见表 1。

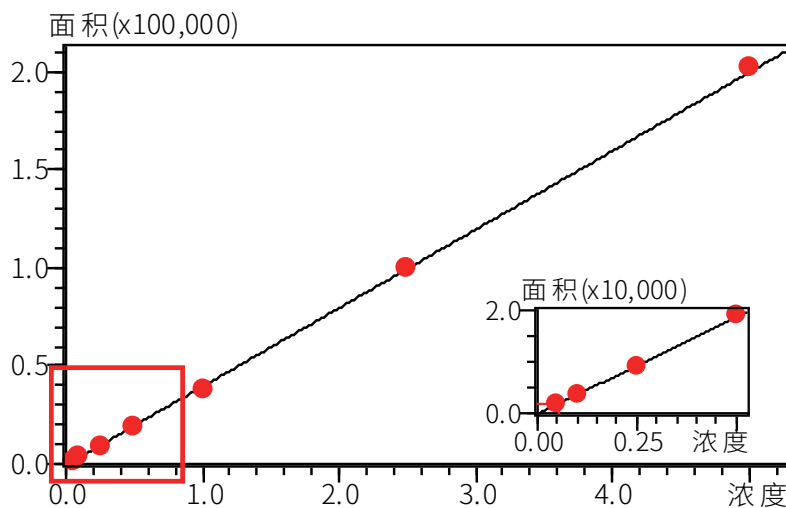


图 2 乙氧酰胺苯甲酯标准品校准曲线

表 1 校准曲线参数

| 中文名称 | 标准曲线 | 相关系数 r | 线性范围 (µg/mL) | 检出限 (µg/kg) | 定量限 (µg/kg) |
|---------|--------------------------|--------|--------------|-------------|-------------|
| 乙氧酰胺苯甲酯 | $Y = 40013.7X - 485.487$ | 0.9998 | 0.05-5 | 10 | 20 |

3.2 精密度实验

按照 1.2 分析条件测定, 选择浓度为 0.1、0.5 和 2.5 µg/mL 的标准品溶液分别连续进样测定 6 次, 重复性色谱图如图 3 所示。乙氧酰胺苯甲酯的保留时间 RSD% 为 0.016-0.029%; 峰面积 RSD% 为 0.012-0.614%, 结果见表 2。精密度实验结果表明, Nexera LC-40 超高效液相色谱仪具有良好的精密度。

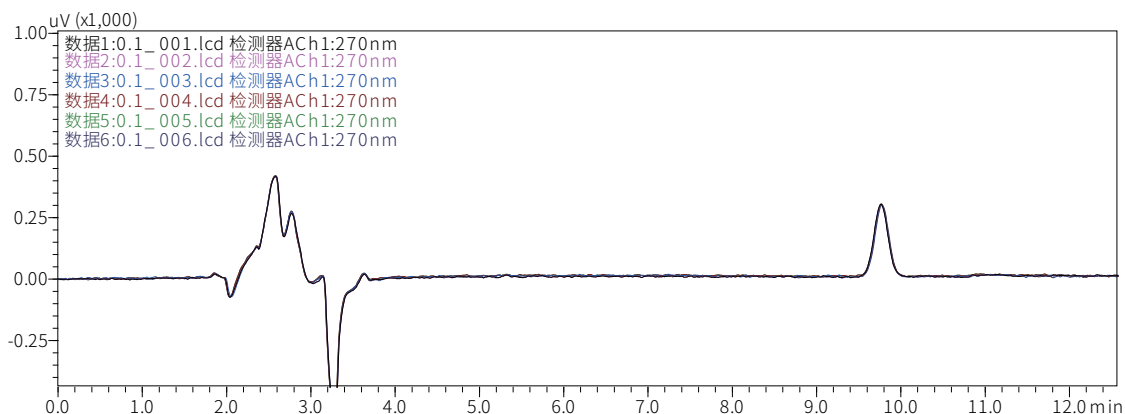


图 3 标准品溶液 6 针重复性色谱图 (浓度 0.5 µg/mL)

表 2 乙氧酰胺苯甲酯保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

| 名称 | RSD% (0.1 µg/mL) | | RSD% (0.5 µg/mL) | | RSD% (2.5 µg/mL) | |
|---------|------------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|
| | R.T. | Area | R.T. | Area | R.T. | Area |
| 乙氧酰胺苯甲酯 | 0.029 | 0.614 | 0.026 | 0.311 | 0.016 | 0.012 |

3.3 回收率试验

称取空白鸡肉样品, 加入一定量乙氧酰胺苯甲酯标准品, 使加标浓度为 100、500、1000 µg/kg, 按照 2. 中所述前处理方式处理加标样品, 然后按 1.2 中条件进行测试, 计算平均回收率。空白鸡肉样品色谱图见图 4, 空白基质中未检出乙氧酰胺苯甲酯。500 µg/kg 加标样品的回收色谱图见图 5, 各添加水平的平均回收率在 82.3-85.6% 之间, 满足该标准中规定的肌肉组织中 50-1000 µg/kg 添加水平的回收率为 70.0%-110%, 结果详见表 3。

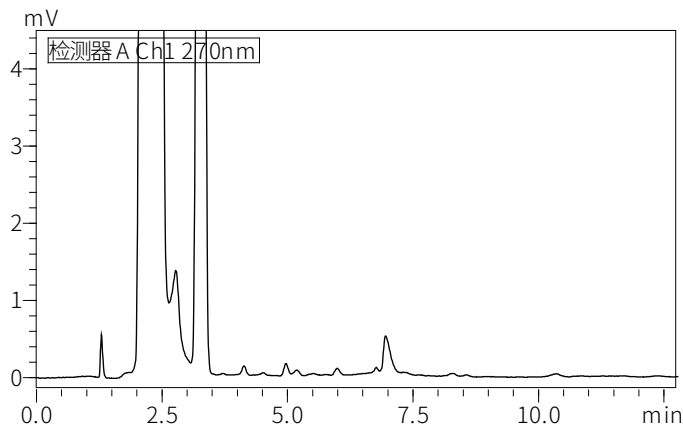


图 4 空白样品色谱图

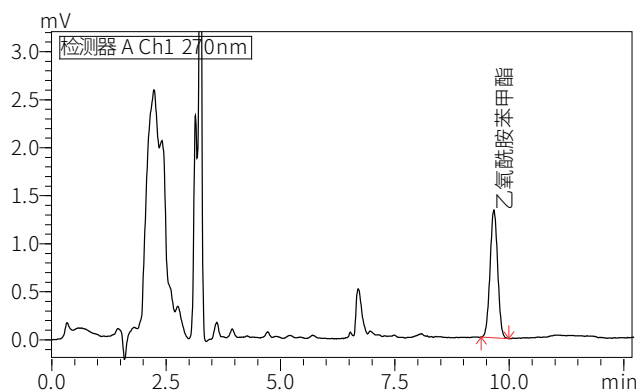


图 5 加标样品色谱图 (加标量 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

表 3 加标回收率 (n=3)

| 名称 | 加标水平 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 回收率 % |
|---------|----------------------------------|-------|
| 乙氧酰胺苯甲酯 | 100 | 82.3 |
| | 500 | 84.5 |
| | 1000 | 85.6 |

■ 结论

本文采用岛津 Nexera LC-40 超高效液相色谱系统, 参考《GB 31660.9-2019 家禽可食性组织中乙氧酰胺苯甲酯残留量的测定 高效液相色谱法》中规定的检测方法, 建立了一种测定鸡肉组织中乙氧酰胺苯甲酯残留量的方法。该方法检测灵敏度高, 重复性好, 乙氧酰胺苯甲酯在 0.05-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内具有较好的线性关系, 线性相关系数 $r > 0.9998$, 检出限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。加标回收实验回收率在 82.3-85.6% 之间, 连续 6 次进样保留时间 RSD% 为 0.016-0.029%、峰面积 RSD% 为 0.012-0.614%, 系统精密度良好。实验表明, 该方法完全满足标准中的各项规定, 可用于鸡肉组织中乙氧酰胺苯甲酯的检测。

岛津应用云

