

高效液相色谱法分析牛奶中三氮唑残留

LC-372

摘要：本文建立了一种分析牛奶中三氮唑残留量的高效液相色谱方法。牛奶经水稀释，醋酸铅沉淀蛋白，二氯甲烷除脂，弱阳离子交换 (WCX) 固相萃取净化，反相色谱分离，LabSolutions 再解析软件积分，外标曲线法定量。结果显示，在 0.05–5 mg/L 浓度范围内，线性良好，相关系数 $R > 0.999$ ；0.02、0.05、0.3 mg/kg 加标回收率在 89%~100% 之间，相对标准偏差 RSD 在 0.3%~1.2% 之间；方法检出限、定量限分别为 0.004 mg/kg、0.012 mg/kg；方法稳定、易操作，可供相关行业参考。

关键词：三氮唑 牛奶 抗原虫药

技术特点：

- ❖ 优化了前处理，回收率更高，三氮唑回收率在 89%~100% 之间。
- ❖ ShimNex CS C18 分离效果好，无杂峰干扰。

三氮唑 (Diminazene)，是一种抗血液原虫药，常用于家畜抗虫治疗。其毒性大，安全范围小，超量使用容易造成动物源性食品残留，威胁人类健康。因此，《GB 31650-2019 食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》规定，牛肌肉、肝、肾、奶中三氮唑最大残留限量为 0.5、12、6、0.15 mg/kg。

2022 年 9 月，农业农村部发布了第 594 号公告，

其中《GB 31658.18-2022 食品安全国家标准 动物性食品中三氮唑残留量的测定 高效液相色谱法》规定了牛、羊的肌肉、肝脏、肾脏组织和牛奶、羊奶中三氮唑残留量的检测液相色谱 - 紫外检测方法。

本文使用岛津高效液相色谱仪，参考 GB 31658.18-2022 标准，建立了一种测定牛奶中三氮唑的方法。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 LC-2050C 高效液相色谱仪。

1.2 分析条件

色 谱 柱： ShimNex CS C18 (4.6×250 mm, 5 μm) P/N: 380-01230-01
流 动 相： A-0.02 mol/L 甲酸铵溶液 流 速： 1.0 mL/min
(pH 4.0) ; B- 甲醇
进样体积： 20 μL 柱 温： 30°C
洗脱方式： 梯度洗脱，见下表 1，初始比例为 10%B

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	10
5.00	泵	B.Conc	20
10.00	泵	B.Conc	90
12.00	泵	B.Conc	90
12.50	泵	B.Conc	10
17.00	控制器	Stop	

1.3 溶液配制

5% 氨水溶液：取氨水 5 mL，加水 95 mL，混匀；

乙酸铵甲醇溶液：取乙酸 6 mL，加甲醇 94 mL，混匀，用氨水调节 pH 值至 7.0 ± 0.05 ；

0.02 mol/L 甲酸铵溶液 (pH 4.0)：取甲酸铵 1.26 g，加水 900 mL 溶解，用甲酸调节 pH 值至 4.0 ± 0.05 ，加水稀释至 1000 mL；

校准曲线：精密量取标准工作液适量，用乙酸铵甲醇 (pH=7.0) 溶液稀释，配制成浓度为 0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、5 mg/L 的系列标准溶液。

1.4 样品前处理

参考 GB 31658.18-2022，对前处理进行改进，流程见图 1。

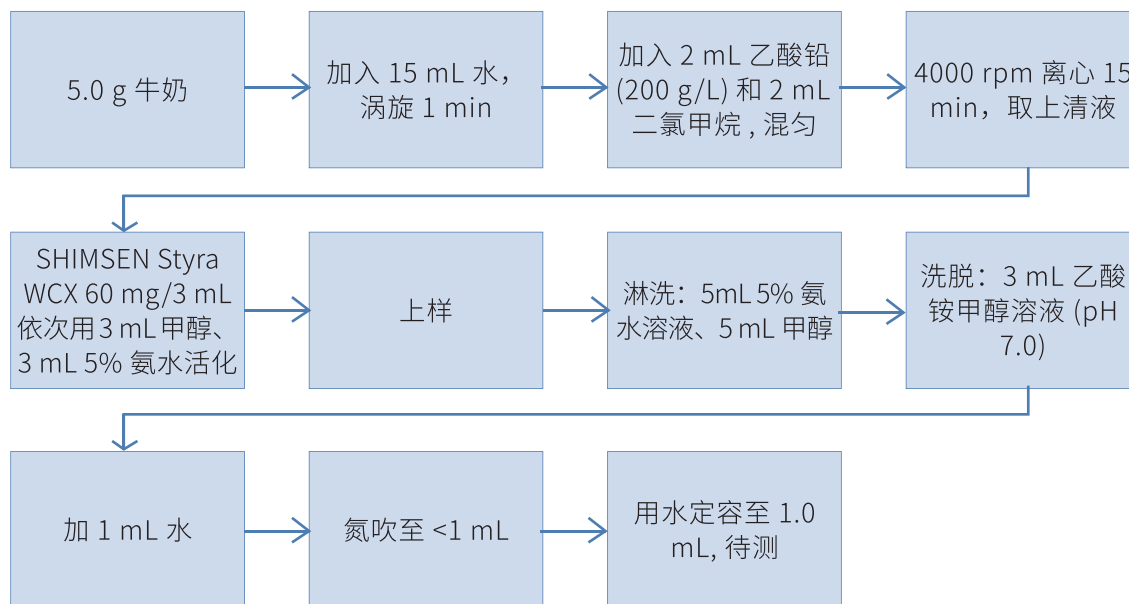


图 1 样品前处理流程图

■ 结果与讨论

2.1 色谱图

空白、标品 (0.1 mg/L)、加标样品 (0.02 mg/kg) 色谱图如下图 2 所示。空白样品无干扰，标品和加标样品在 9.8 min 检出三氮唑色谱峰，且无干扰。

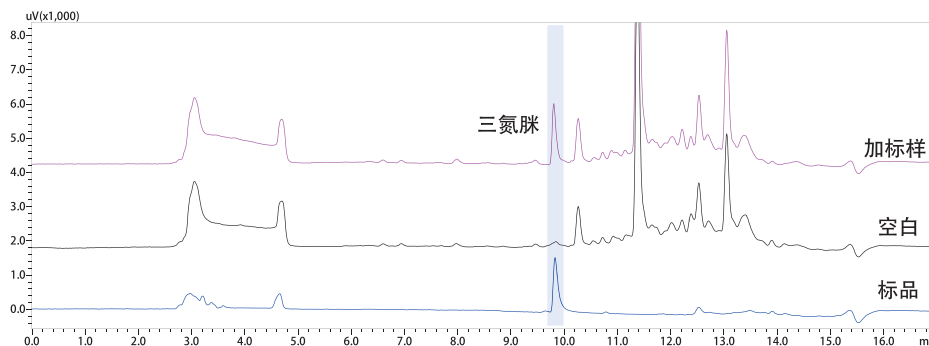


图 2 空白、标品 (0.1 mg/L)、加标样品 (0.02 mg/kg) 色谱图

2.2 线性范围及灵敏度

将浓度为 0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、5 mg/L 的系列标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以保留时间为横坐标，峰面积为纵坐标，建立校准曲线，结果如图 2 所示，相关系数 $R > 0.999$ 。根据信噪比，计算其检出限 ($S/N=3$) 和定量限 ($S/N=10$) 分别为 0.004 mg/kg 和 0.012 mg/kg。

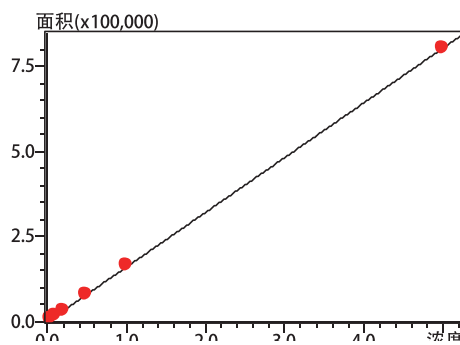


图 2 三氮唑校准曲线

2.3 加标回收率及重复性

按 1.4 条件，制备 0.02、0.05、0.3 mg/kg 加标样品，连续进样分析 3 次，根据外标曲线计算回收率及相对标准偏差。如下表 2。低、中、高三个浓度的加标样品，回收率在 89%-100% 之间，RSD 在 0.3%~1.2% 之间。

表 2 不同浓度三氮唑添加回收率结果

化合物名称	0.02 mg/kg		0.05 mg/kg		0.3 mg/kg	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
三氮唑	100	1.2	98	0.4	89	0.3

■ 结论

本文使用岛津高效液相色谱仪建立了一种牛奶中三氮唑的测定方法。校准曲线线性良好， $R > 0.999$ ，使用改进的前处理方法，低、中、高三个浓度的加标样品，回收率在 89%–100% 之间，RSD 在 0.3%~1.2% 之间。该方法稳定，可靠，可供相关行业参考。

岛津应用云

