

高效液相色谱法测定牛可食性组织中氨丙啉残留量

LC-408

摘要： 本文使用岛津 LC-40 高效液相色谱仪，建立了牛可食性组织中氨丙啉残留量的检测方法。在 0.2 $\mu\text{g/mL}$ ~ 20.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内绘制校准曲线，线性相关系数在 0.9999。取氨丙啉含量为 480 $\mu\text{g/kg}$ 的牛肉加标样品，处理后连续 6 次进样，保留时间 RSD 小于 0.034 %，峰面积 RSD 小于 1.7 %。分别取氨丙啉低、中、高三个含量的牛肉进行加标回收率测试，平均回收率为 90.4 %，检出限为 48 $\mu\text{g/kg}$ ，定量限为 160 $\mu\text{g/kg}$ ，满足牛可食性组织样品检测的要求。

关键词： 高效液相色谱法 牛可食性组织 氨丙啉

技术特点：

- ❖ 使用离子对色谱法，氨丙啉在 C18 色谱柱上有较好地保留。
- ❖ 目标物和基质干扰物正常分离。

氨丙啉盐酸盐是用于家禽的一种抗球虫药，是一种类磺胺素，通过抑制磺胺素吸收和碳水化合物合成而抑制球虫的磺胺转运，具有较好的抗球虫效应，其化学、物理和毒性性质尚未经完整的研究。由于该药高效、安全，不易引起球虫耐药性，在鸡、兔、犊牛、羔羊中均有应用。盐酸氨丙啉虽然毒性较低，但由于不规范使用，长期添加在饲料中，极容易造成药物在肉及蛋品中的残留现象，对人体健康造成潜在危害。因此，我国农业农村部和国家市场监督管理总局 2019 年发布的 GB 31650-2019《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》中明确规定了

氨丙啉在动物靶组织中的残留限量。

我国农业农村部等相关单位于 2021 年 9 月 16 日发布了 GB 31613.1-2021《食品安全国家标准 牛可食性组织中氨丙啉残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法和高效液相色谱法》，此标准于 2022 年 2 月 1 日起实施。

本文选用高效液相色谱法，参照上述标准，采用岛津高效液相色谱仪 LC-40，建立了牛可食性组织中氨丙啉含量检测方法，方法的线性范围、相关系数、准确度、重复性、检出限等均满足国家标准方法日常检测的要求。

实验部分

1.1 仪器

本文使用岛津高效液相色谱仪 LC-40，仪器配置如下：

输 液 泵：	LC-40 \times 2	自动进样器：	SIL-40
混 合 器：	2.6 mL	柱 温 箱：	CTO-40
在线脱气机：	DGU-40	检 测 器：	SPD-M40
系统控制器：	CBM-40	工作站软件：	LabSolutions 5.103

1.2 分析条件

高效液相色谱法分析条件如下：

色 谱 柱：	Shim-pack GIST C18 (250 mm \times 4.6 mm I.D., 5 μm)		
	P/N: 227-30017-08, 岛津 (上海) 实验室器材有限公司		
流 动 相：	庚烷磺酸钠溶液 - 甲醇 - 乙腈 (60:35:5, V/V/V)		
流 速：	0.8 mL/min	进 样 量：	20 μL
柱 温：	40 $^{\circ}\text{C}$	检 测 波 长：	267 nm

■ 样品前处理

2.1 标准溶液配制

氨丙啉标准储备液 [ρ ($C_{14}H_{19}ClN_4$) = 1 mg/mL]: 准确称取 11.3 mg 盐酸氨丙啉 (CAS: 137-88-2, 相当于氨丙啉 10 mg) 标准品于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 混匀。

氨丙啉标准工作液 [ρ ($C_{14}H_{19}ClN_4$) = 100 μ g/mL]: 移取 1.00 mL 氨丙啉标准储备液于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 混匀。

校准曲线溶液配制: 精密量取氨丙啉标准工作液适量, 用流动相稀释配制浓度为 0.2 μ g/mL、0.5 μ g/mL、1.0 μ g/mL、5.0 μ g/mL、10.0 μ g/mL、20.0 μ g/mL 的系列标准溶液, 供高效液相色谱测定。

2.2 牛可食性组织样品的处理

取市场购买的牛肉, 按照 GB 31613.1-2021 标准中的 17、18.1 和 18.2 部分进行样品前处理。

■ 结果与讨论

3.1 标准品色谱图

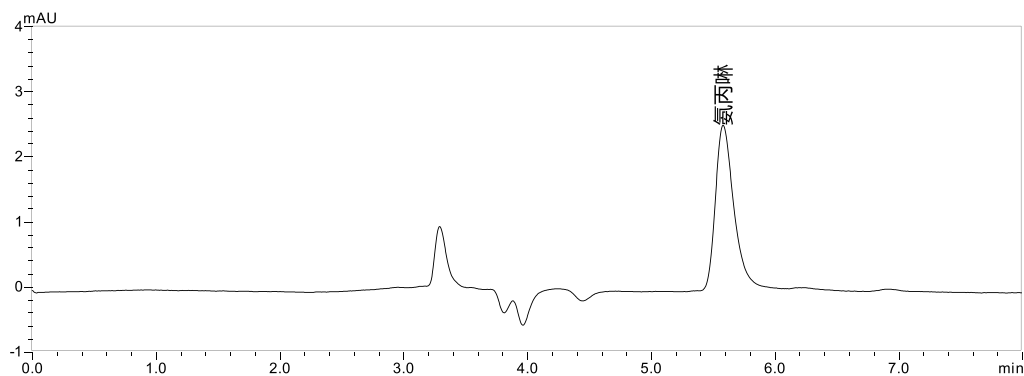


图1 氨丙啉标准溶液色谱图 (浓度 0.5 μ g/mL)

3.2 校准曲线、检出限及定量限

采用外标法制作校准曲线, 以 0.2 μ g/mL 浓度点的色谱峰信噪比 19.45 计算出检出限 ($S/N=3$) 和定量限 ($S/N=10$), 校准曲线信息及检出限、定量限结果见表 1。

结果显示, 氨丙啉在 0.2 ~ 20.0 μ g/mL 浓度范围内, 线性相关系数 r 大于 0.999, 线性良好, 检出限为 0.03 μ g/mL, 对应牛肉样品检出限 48 μ g/kg, 定量限为 0.10 μ g/mL, 对应牛肉样品定量限 160 μ g/kg。

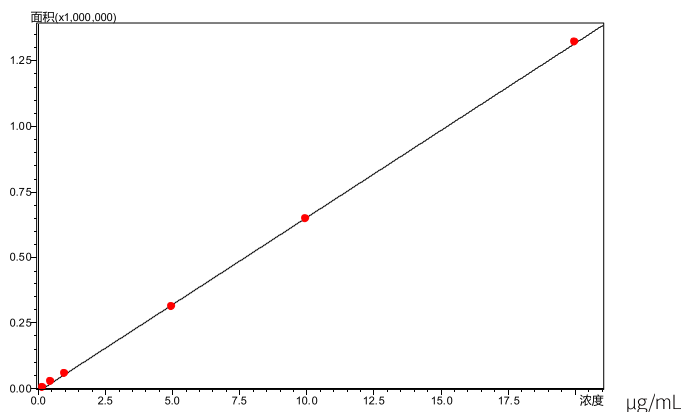


图2 氨丙啉校准曲线

表1 标准曲线信息及检出限、定量限

化合物	线性方程	相关系数 R	准确度 (%)	检出限 (µg/kg)	定量限 (µg/kg)
氨丙啉	$y = 66316.7x - 11771.2$	0.9999	97.6—116.1	48	160

3.3 重复性测试

取氨丙啉加标含量为 480 µg/kg 的牛肉样品溶液连续 6 次进样，考察仪器重复性。结果见表 2。

表2 重复性结果 (n=6)

化合物		1	2	3	4	5	6	RSD(%)
氨丙啉	保留时间	5.586	5.586	5.589	5.590	5.587	5.590	0.034
	峰面积	7390	7485	7457	7278	7648	7527	1.7

3.4 回收率测试

称取三份空白牛肉样品，分别加入氨丙啉标准溶液，混匀制成低、中、高三个浓度的加标样品，根据添加量计算出氨丙啉的理论含量。样品经上述的前处理后，上机测定氨丙啉含量。取两次平行测定结果的平均值评估回收率。回收率结果见表 3，三个浓度加标总平均回收率为 90.4%。

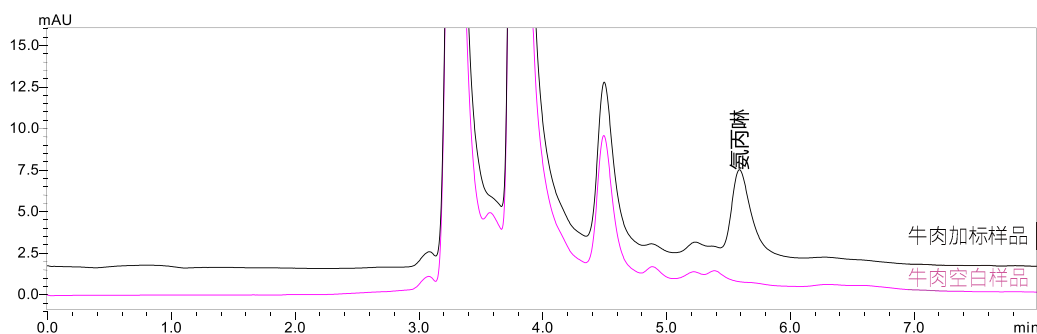


图3 牛肉样品和加标溶液色谱图 (含量 2000 µg/kg)

表3 牛肉中氨丙啉加标回收率测定结果 (n=2)

No.	样品称样量 (g)	加标量 (µg/kg)	测定含量 (µg/kg)		平均回收率 (%)	标准偏差 (%)
			1#	2#		
1	5.00	480	462	464	96.5	3.1
2	5.00	2000	1674	1677	83.8	1.3
3	5.00	20000	18200	18118	90.8	3.2

■ 结论

采用岛津高效相色谱仪 LC-40 建立了牛可食性组织中氨丙啉含量的检测方法。该方法的线性范围、相关系数、重现性、回收率、检出限等指标均满足食品安全国家标准 GB 31613.1-2021 方法要求，可为牛可食性组织中氨丙啉含量的测定提供参考。

岛津应用云

