

农药残留HPLC分析检测 解决方案

目录

一、动物性食品中四环素类药物残留量的测定 1

1.前言..... 2

2.测试方法与仪器设备..... 3

3.实验结果..... 3

4.结论..... 3

5.参考资料..... 3

6.备注..... 3

二、果蔬中多菌灵残留的检测 4

1.仪器配置..... 5

2.前处理设备..... 6

3.样品处理..... 5

4.色谱条件..... 6

5.样品谱图..... 5

三、水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹残流量的测 .. 4

1.前言..... 5

2.测试方法与仪器设备..... 6

3.实验结果..... 5

4.结论..... 6

5.参考资料..... 5

6.备注..... 5

四、氨基甲酸酯类农药分析 4

1.设备与试剂..... 5

2.实验方法..... 6

3.系统配置..... 5

一、 动物性食品中四环素类药物残留量的测定

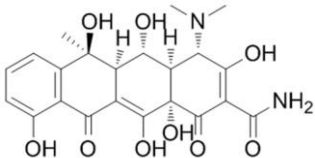
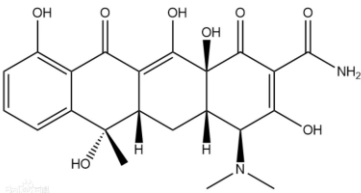
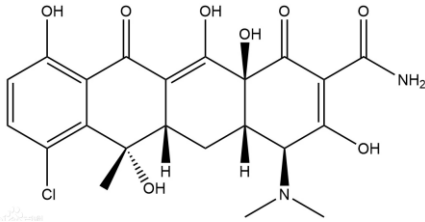
1. 前言

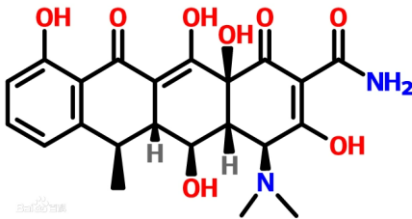
目前，我国在养殖生产环节中普遍存在滥用、乱用抗生素药物的不良现象，危害了人民群众的身体健康。四环素类药物在动物源性食品中的残留问题日益严重，人们食用有药物残留的食品后可能出现中毒反应，四环素类抗生素易阻碍儿童牙齿发育和骨骼生长，在一定条件下会形成具有剧烈毒性的敌敌畏，氯霉素则可能引起颗粒性细胞缺乏症和再生障碍性贫血。

四环素类药物易与人体中的钙结合，会在骨骼和牙齿中沉积，抑制骨骼和牙齿的生长发育，尤其对胎儿和婴幼儿的影响较大，还可导致牙齿持久染色变黄。四环素类药物可在肝脏中沉积，长期累积会造成肝脏和肾脏的损伤。此外，四环素类药物还具有刺激性，可抑制蛋白质的合成，甚至有时产生致过敏反应。国家目前对动物源性食品中的四环素类药物残留限量有严格的规定，并相继开展四环素类药物残留检测方法的研究。

本高效液相色谱(HPLC)解决方案对动物性食品中四环素类药物残留量进行检测，是参考 GB31658.6-2021《动物性食品中四环素类药物残留量的测定 高效液相色谱法》中的方法，适用于需要参照 GB31658.6-2021 对动物性食品中水中土霉素、四环素、金霉素和多西环素进行检测的用户参考使用。

表 1-1 被测四环素类物质基本信息

名称	结构式	CAS 号
土霉素		79-57-2
四环素		60-54-8
金霉素		57-62-5



2. 测试方法与仪器设备

2.1 仪器设备与试剂

表2-1 高效液相色谱系统配置清单

序号	名称	数量
1	D3200紫外-可见检测器	1台
2	P3220高压恒流泵	1台
3	Kromstation色谱数据工作站	1套
4	T3200溶剂托盘	1个
5	SinoPak BEH T-C18 5μm 130Å ID 4.6×150 mm	1支
6	EClassical 3200系统工具包	1套
7	1000 mL溶剂瓶	1个
8	1000 mL烧杯	2个
9	O3200柱温箱（选配）	1台
10	S3200自动进样器(选配)	1台

表2-2 主要试剂

序号	试剂	纯度
1	乙腈	色谱纯
2	甲醇	色谱纯
4	三氟乙酸	分析纯
5	乙二胺四乙酸二钠	分析纯
6	一水合柠檬酸	分析纯
7	磷酸氢二钠	分析纯
8	草酸	分析纯
9	硫酸	分析纯
10	钨酸钠	分析纯
11	二氯甲烷	分析纯

表 2-3 主要前处理设备

序号	名称	规格	备注
1	溶剂过滤器	1000 mL	流动相过滤
2	隔膜真空泵	0.08 MPa, 160 W	GM-0.33 A
3	精密电子天平		感量为0.0001g
4	台式高速离心机	EXPERT 18 K	
5	干式氮吹仪	200 W	-
6	集热式恒温加热磁力搅拌器	加热功率500 W	-

实验过程中其它玻璃器皿还包括棕色容量瓶(10 mL、100 mL)、1.5 mL 塑料离心管、移液枪(0~1000 μL, 0~5000 μL)、移液枪枪头(1 mL, 5 mL)、一次性注射器(1 mL)、针筒式滤膜(0.45 μm)、进样针、一次性 PVC 手套、一次性口罩等。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液配制

表 2-4 单标标准储备液

化合物名称	称量(mg)	溶剂	定容体积(mL)	浓度(mg/mL)
盐酸土霉素	10	甲醇	甲醇定容至 10 mL	1
盐酸四环素	10	甲醇	甲醇定容至 10 mL	1
盐酸金霉素	10	甲醇	甲醇定容至 10 mL	1
盐酸多西环素	10	甲醇	甲醇定容至 10 mL	1

混合标准工作液(10 µg/mL): 精密量取土霉素、四环素、金霉素和多西环素标准储备液各 1 mL 于 100 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度处, 摇匀, 2°C~8°C 保存, 现用现配。

表 2-5 系列标准工作溶液

浓度(µg/mL)	移取溶液	移取体积(µL)	定容体积(mL)
0.05	混合标准工作液	25	5
0.1	混合标准工作液	50	5
0.2	混合标准工作液	100	5
0.5	混合标准工作液	250	5
1	混合标准工作液	500	5
2	混合标准工作液	1000	5
5	混合标准工作液	2500	5

2.2.2 样品前处理

提取

称取试料 5 g, 加 EDTA 2Na-McIlvaine 缓冲液 20mL, 涡旋 1min, 震荡 10min, 加硫酸溶液 5mL、钨酸钠溶液 5mL, 涡旋 1min, 8500r/min 离心 5min, 取上清液。残渣用 EDTA 2Na-McIlvaine 缓冲液 20mL、10mL 各提取 2 次, 合并上清液, 中性滤纸过滤, 备用。

净化

HLB 柱依次用甲醇、水和 EDTA 2Na-McIlvaine 缓冲液各 5mL 活化。备用液过柱, 待全部备用液流出后, 依次用水、5%甲醇溶液各 10mL 淋洗, 抽干 30s, 用甲醇 6mL 洗脱, 收集洗脱液于刻度试管中, 加水 2mL, 混匀, 过甲醇 5mL、水 5mL 活化的 SCX 柱, 待全部液体流出后, 用水、甲醇各 5mL 淋洗, 抽干 1min, 草酸-乙腈溶液 6mL 洗脱, 收集洗脱液, 于 40°C 水浴氮气吹至 0.5-1.0mL, 再加甲醇 0.4mL, 用草酸溶液 (0.01mol/L) 稀释至 2.0mL,

微孔滤膜过滤，高效液相色谱测定。

2.2.3 色谱条件

流动相: A 为三氟乙酸溶液, B 为乙腈
色谱柱: SinoPak BEH T-C18 5 μm 130 $\text{\AA}$
ID 4.6 $\times$ 150 mm
流量: 1.0 mL/min
检测波长:350nm
进样体积: 50 μL
柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$

表 2-6 梯度条件

时间/min	A%	B%	流速 mL/min
0	90	10	1.0
5	80	20	1.0
15	65	35	1.0
16	90	10	1.0
17	90	10	1.0

3. 实验结果

3.1 典型分离色谱图

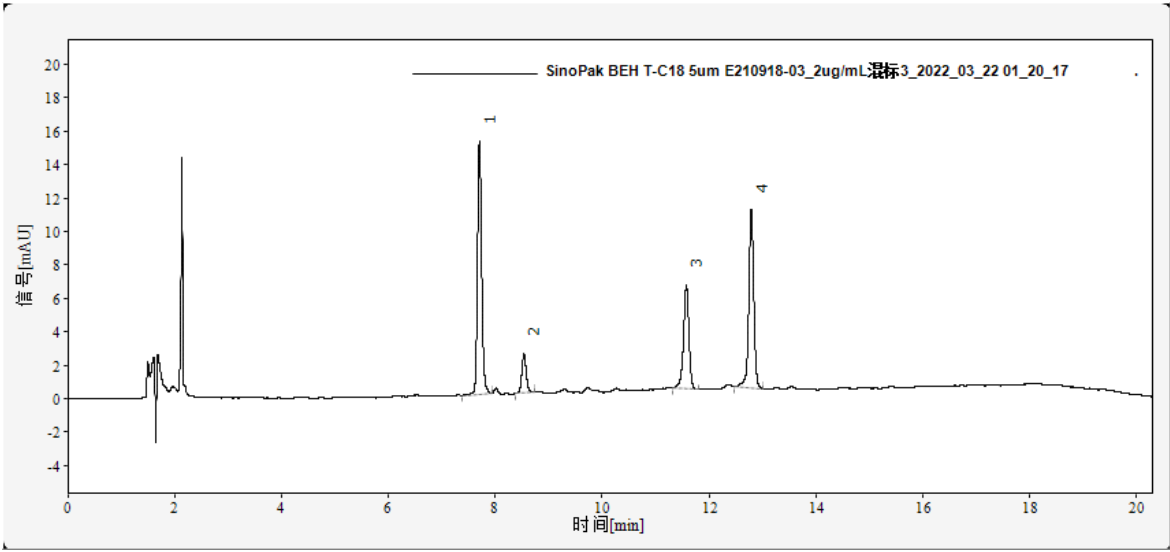


图 3-1 混合标准溶液分离色谱图(2 $\mu\text{g/mL}$)

表 3-1 2 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液色谱参数表

序号	名称	保留时间(min)	峰面积(mV.s)	容量因子	柱效(10^4 N/m)	拖尾因子
1	土霉素	7.702	82.31	2.62	32.9	1.144
2	四环素	8.536	13.44	0.11	36.6	1.017
3	金霉素	11.577	43.60	0.50	45.7	0.930
4	多西环素	12.793	69.52	5.01	67.0	1.000

3.2 线性范围

按照 GB31658.6-2021 标准方法，配制混合标准工作液，用 0.01mol/L 的草酸溶液配制成浓度为 0.05μg/mL、0.1μg/mL、0.2μg/mL、0.5μg/mL、1μg/mL、2μg/mL 和 5μg/mL 的混合标准液，计算线性相关系数。

表 3-2 线性参数表

浓度(μg/ml)	峰面积(mV.s)			
-----	土霉素	四环素	金霉素	多西环素
0.05	2.4	1	1.3	1.8
0.1	4.4	1.2	1.8	3
0.2	7.7	1.7	3.7	5.9
0.5	19.3	4.5	10.6	14.7
1.0	40.1	6.6	21.8	32.1
2.0	82.3	13.4	43.6	69.5
5.0	-	-	121.5	186.9

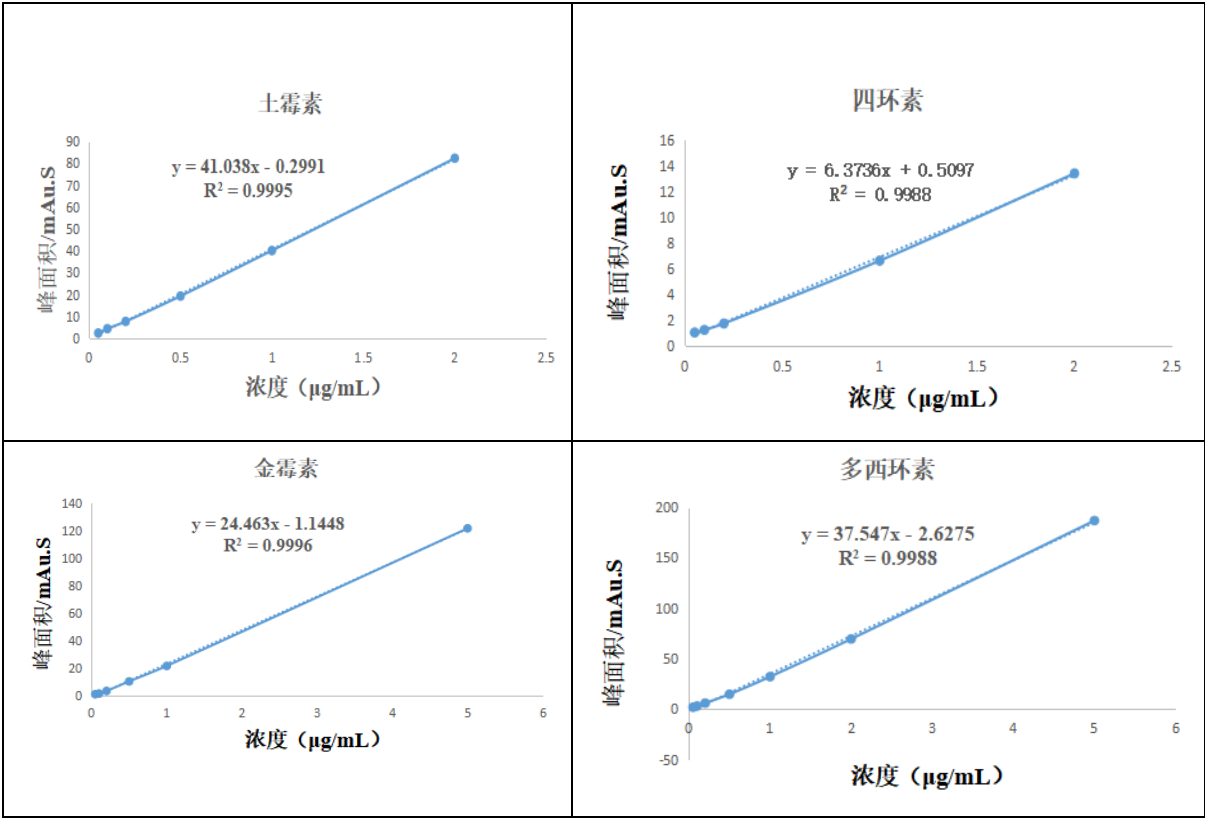


图 3-2 线性曲线

表 3-3 混合标准溶液中各物质线性方程数据表

名称	直线方程	r
土霉素	$y = 41.038x - 0.2991$	0.9997
四环素	$y = 6.3736x + 0.5097$	0.9994
金霉素	$y = 24.463x - 1.1448$	0.9998
多西环素	$y = 37.547x - 2.6275$	0.9994

从表 3-3 中的数据可以看出，线性相关系数 r 基本都在 0.999 以上，因此土霉素、四环素、金霉素和多西环素在 0.05-5μg/mL 范围内具有良好的线性关系。

3.3 重复性

用浓度为 10 μg/mL 的混合标准溶液连续进样 5 针，重复性色谱图如 3-3 所示。

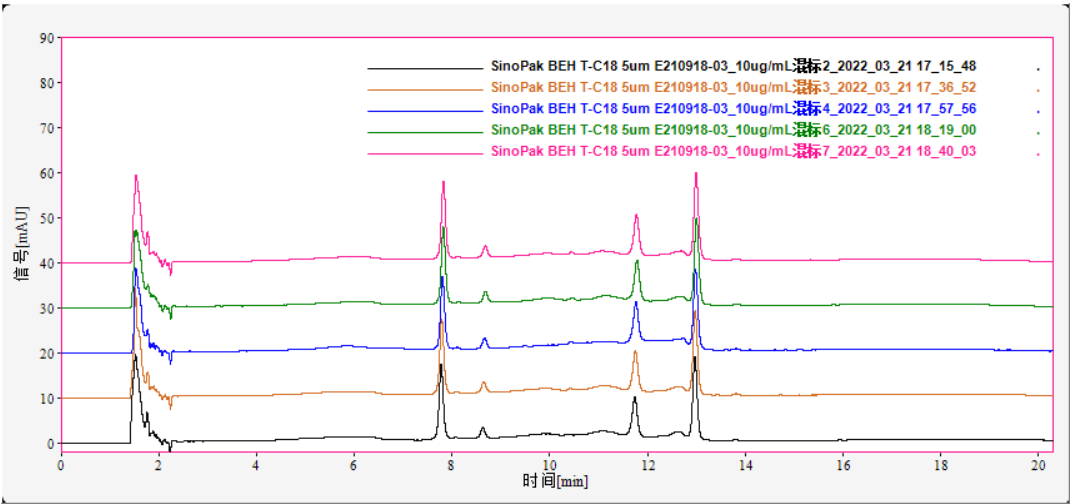


图 3-3 重复性(n=5)

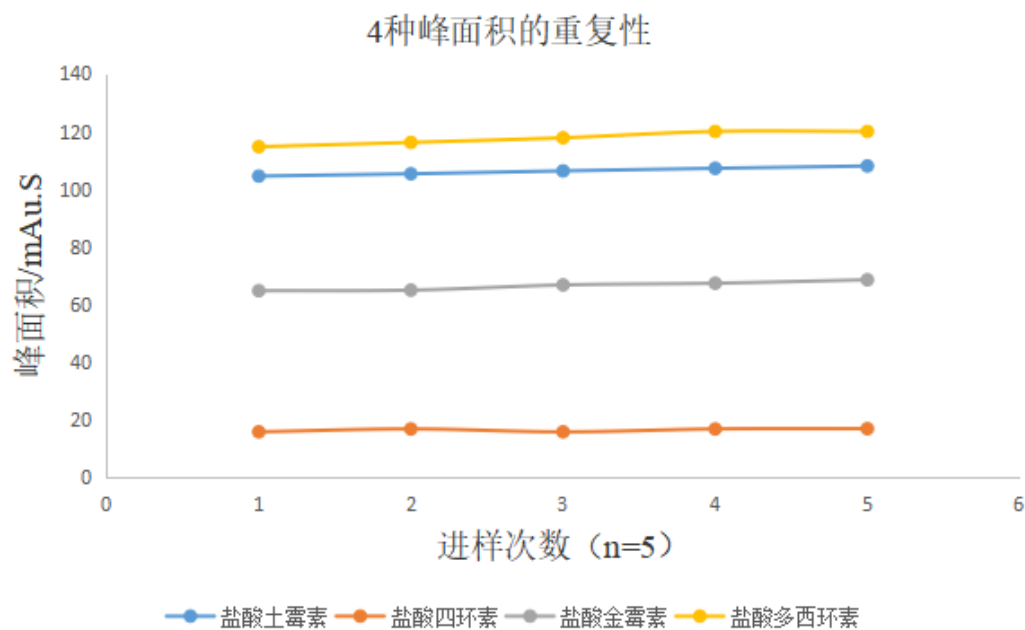


图 3-4 混合标准溶液 (10 µg/mL) 峰面积重复性(n=5)

3.4 最小检测浓度

在该色谱条件下，浓度为 0.05µg/mL 的标准混合溶液中，根据信噪比 $S/N=3$ 计算出在该色谱条件下土霉素、四环素、金霉素和多西环素仪器的检出限和定量限，数据如表 3-4 所示。

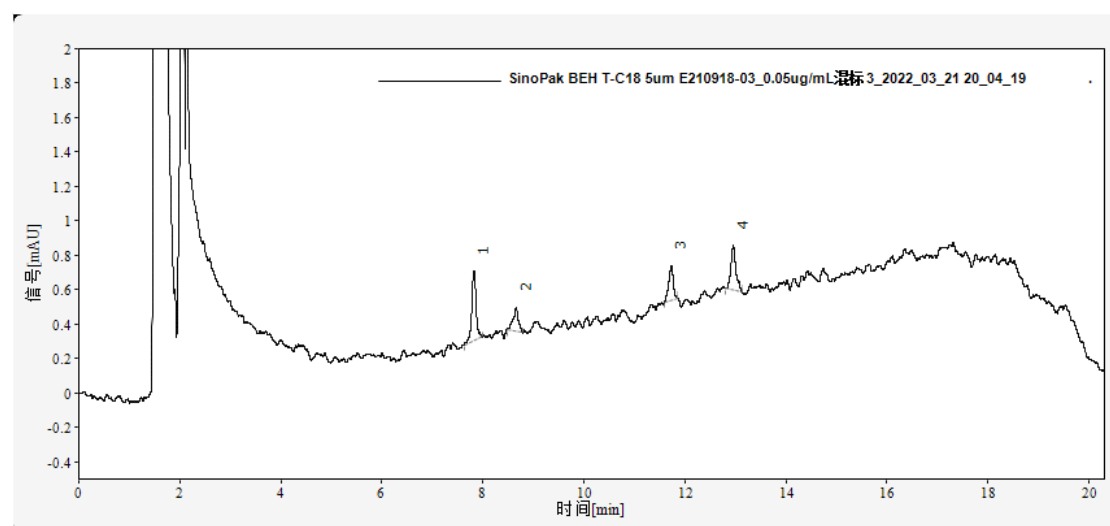


图 3-5 0.05µg/mL 混合标准溶液色谱图

表 3-4 各物质仪器检出限与定量限数据

化合物名称	浓度 (µg/mL)	信噪比 (S/N)	检出限 (µg/mL) LOD	定量限 (µg/mL) LOQ
土霉素	0.05	5.2	0.03	0.10
四环素	0.05	2.0	0.08	0.25
金霉素	0.05	2.5	0.06	0.20
多西环素	0.05	3.3	0.05	0.15

表 3-5 各物质方法检出限与定量限数据

化合物名称	检出限 (µg/kg) LOD	定量限 (µg/kg) LOQ	标准要求
土霉素	12	40	检测限为 50 µg/kg，定量限为 100µg/kg。
四环素	30	100	
金霉素	24	80	
多西环素	20	60	

3.5 实际样品分析

3.5.1 供试样品

称取猪肉供试样品 5.0000 g，按照上述 GB 31658.6-2021 方法进行前处理处理，洗脱液过滤后，经高效液相色谱分离后如下图所示，该猪肉中未检出四环素类药物。

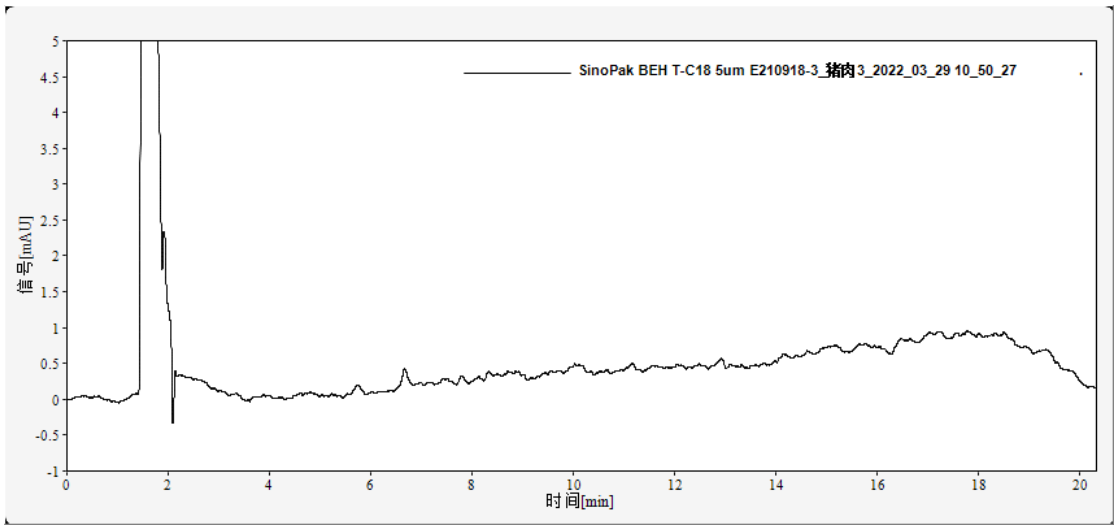


图 3-6 猪肉供试品分离色谱图

4. 结论

- 1)、土霉素、四环素、金霉素和多西环素在 0.05-5 μ g/mL 范围内具有良好的线性关系, r 大于 0.999。
- 2)、土霉素、四环素、金霉素和多西环素的峰面积重复性 RSD 均小于 2%。
- 3)、土霉素, 四环素, 金霉素和多西环素的方法检测限和定量限满足标准要求。

5. 参考资料

GB 31658.6-2021 《动物性食品中四环素类药物残留量的测定 高效液相色谱法》

6. 备注

订货信息:

类型	存货编码	存货名称	规格
工作站	31030062	Kromstation 色谱数据工作站(基础版)	/
工具包	3403090048	EClassical 3200 系统工具包	/
仪器	31010106	P3220 二元高压恒流泵	/
仪器	31090015	S3210 自动进样器	/
仪器	31040023	O3210 色谱柱恒温箱	/
仪器	31020052	D3210 紫外-可见检测器	/
仪器	18990150	T3200 溶剂托盘	/
色谱柱	31111380	SinoPak BEH T-C18 5 μ m130 Å	4.6*150 mm
SPE 产品	21010148	HLB 固相萃取柱	500mg/6mL
SPE 产品	21010129	SCX 固相萃取柱	500mg/6mL
耗材	36010059	疏水 PTFE 焊接滤器	0.45mm
耗材	36010164	9-425 蓝色开孔竖条纹盖配 1.0mm 厚度红膜白胶垫片	/
耗材	36010215	9-425 棕色样品瓶	2mL

二、 果蔬中多菌灵残留的检测

多菌灵是一种苯并咪唑类杀菌剂，热稳定不好，不便于用气相色谱分析检测。

1. 仪器配置

表 1-1 EClassical 3200 型高效液相色谱系统配置清单

序号	仪器名称	数量
1	P3200高压恒流泵	1台
2	UV3200紫外-可见检测器	1台
3	TP3200溶剂瓶托盘	1台
4	Rheodyne 7725i高压六通进样阀	1个
5	ZJ-1阀支架	1个
6	TD-1-15梯度混合器	--
7	Kromstation色谱数据处理工作站	1套
8	EClassical 3200系统工具包	1套
9	Supersil ODS2 1.8μm 2.1×100色谱柱	1支
10	500mL溶剂瓶（无色）（选配）	2只
12	O3220色谱柱恒温箱（选配）	1台
13	S3200自动进样器（选配）	1台

2. 前处理设备

表 2-2 农药残留前处理设备

序号	名称	规格级别
1	分析天平	AL104，感量 0.0001g
		JD60-4，0.0001g
2	离心机	TG16G，16000 转，6×50mL
		TD5G，5000 转，12×10mL
3	涡旋混合器	QL-861
4	氮气吹干仪	PGC-01D
5	食品粉碎机	/

3. 样品处理

准确称取 10g(精确到 0.01g)经粉碎后的样品于具塞试管中，加入 10mL 乙腈，超声 20min，再加入 2g 氯化钠，混匀，取上清液 1mL 于离心管中，加入 40mgPSA 填料，离心 5min，取上清液过膜。

4. 色谱条件

色谱柱：SinoChrom ODS-BP 色谱柱(4.6×250mm，5 μ m)

流动相：乙腈:水=20:80

流速：1mL/min

检测波长：286nm

进样量：10 μ L

5. 样品谱图

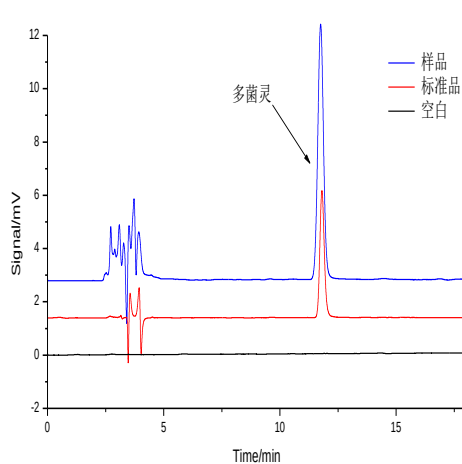


图 1 实际样品检测谱图

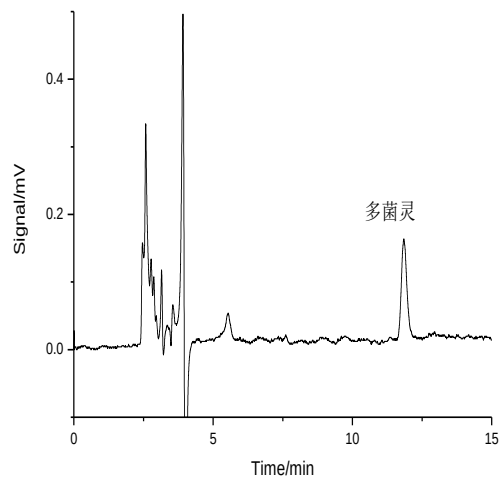


图 2 0.02 μ g/mL 标准品谱图

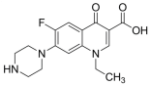
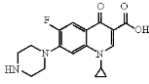
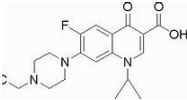
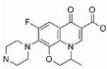
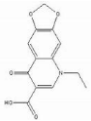
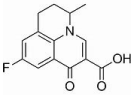
三、 水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、 噁喹酸、氟甲喹残留量的测定

1. 前言

诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹是几种常见的抗生素，由于价格便宜，被大量用于水产品养殖，人们经常食用被该类药物污染的水产品，会导致体内抗生素残留量集聚，尤其对婴幼儿的发育影响极大。

本高效液相色谱(HPLC)解决方案对水产品中诺氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹进行检测，是参考 GB31656.3-2021《水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量的测定》中的方法(高效液相色谱-荧光检测法)。适用于需要参照 GB31656.3-2021 对水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹进行检测的用户参考使用。

表 1-1 抗生素基本信息

名称	结构式	CAS 号
诺氟沙星		70458-96-7
环丙沙星		85721-33-1
恩诺沙星		93106-60-6
氧氟沙星		82419-36-1
噁喹酸		26893-27-6
氟甲喹		42835-25-6

2. 测试方法与仪器设备

1. 2.1 仪器设备与试剂

表 2-1 高效液相色谱系统配置清单

序号	名称	数量
1	D3250 荧光检测器	1 台
2	P3220 高压恒流泵	1 台
3	Kromstation 色谱数据工作站	1 套
4	T3200 溶剂托盘	1 个
5	SinoPak BEH T-C18 5 μ m130 Å ID 4.6*250 mm	1 支
6	EClassical 3200 系统工具包	1 套
7	1000 mL 溶剂瓶	1 个
8	250 mL 分液漏斗	2 个
9	O3200 柱温箱（选配）	1 台
10	S3200 自动进样器(选配)	1 台

表 2-2 主要试剂

序	试剂	纯度
1	乙腈	色谱纯
2	甲醇	色谱纯
4	正己烷	色谱纯
5	盐酸	分析纯
6	磷酸	分析纯
7	氨水	分析纯
8	氢氧化钠	分析纯
9	磷酸二氢钠	分析纯
10	无水硫酸钠	分析纯
11	四丁基溴化铵	分析纯

表 2-3 主要前处理设备

序号	名称	规格	备注
1	溶剂过滤器	1000 mL	流动相过滤
2	隔膜真空泵	0.08 MPa, 160 W	GM-0.33 A
3	精密电子天平		感量为 0.0001g
4	台式高速离心机	EXPERT 18 K	
5	干式氮吹仪	200 W	-
6	集热式恒温加热磁力搅拌器	加热功率 500 W	-

实验过程中其它玻璃器皿还包括棕色容量瓶(10 mL、100 mL)、1.5 mL 塑料离心管、移液枪(0~1000 μ L, 0~5000 μ L)、移液枪枪头(1 mL, 5 mL)、一次性注射器(1 mL)、针筒式滤膜(0.45 μ m)、进样针、一次性 PVC 手套、一次性口罩等。

2. 2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液配制

表 2-4 单标标准储备液

化合物名称	称量(mg)	溶剂	定容体积(mL)	浓度(μ g/mL)
氧氟沙星	10	0.1 mol/L 盐酸溶液 10 mL	乙腈定容至 100 mL	100
诺氟沙星	10	0.1 mol/L 盐酸溶液 10 mL	乙腈定容至 100 mL	100
环丙沙星	10	甲醇	甲醇定容至 100 mL	100
恩诺沙星	10	甲醇	甲醇定容至 100 mL	100
噁喹酸	10	0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 10 mL	乙腈定容至 100 mL	100

氟甲喹	10	0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 10 mL	乙腈定容至 100 mL	100
-----	----	------------------------	--------------	-----

混合标准工作液I(10 µg/mL): 精密量取诺氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹标准储备液各 1 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中, 用流动相 A 稀释至刻度处, 摇匀, 4℃保存, 有效期 1 个月。

混合标准工作液II(1 µg/mL): 取混合标准工作液I 1 mL 于离心管中, 用流动相 A 稀释至 10 mL。

表 2-5 系列标准工作溶液

浓度(ng/mL)	移取溶液	移取体积(µL)	定容体积(mL)
10	混合标准工作液II	15	1.5
50	混合标准工作液II	75	1.5
100	混合标准工作液I	15	1.5
500	混合标准工作液I	75	1.5
1000	混合标准工作液I	150	1.5
2000	混合标准工作液I	300	1.5

2.2.2 样品前处理

提取

称取试样5 g, 加酸化乙腈溶液20 mL、 无水硫酸钠10 g, 高速均质1 min~2 min, 3000 r/min 离心5 min, 取上清液至分液漏斗, 用酸化乙腈溶液20 mL, 清洗刀头并溶解沉淀, 重复提取 2 次, 合并上清液. 加乙腈饱和正己烷溶液60 mL, 置分液漏斗振摇器(150 r/min) 上振荡20 min, 静置, 取下层乙腈至梨瓶,40 °C 旋转蒸发至干。加磷酸盐缓冲液4 mL, 超声振荡1 min, 静置30 s, 溶液转移至15 mL 离心管。再重复提取残余物2 次, 溶液转移至同一离心管, 合并3 次残余物溶解液,300 r/min 离心5 min, 取上清液, 备用。

净化

取 C18 固相萃取柱, 依次用甲醇、 水、 磷酸盐缓冲液各3 mL 活化. 取上述备用液过柱, 流速控制为每秒1 滴. 水3 mL 淋洗, 抽干, 加洗脱液5 mL, 收集洗脱液,50 °C氮气吹干, 加流动相 A 1.0 mL 使溶解,过0.22 µm 微孔滤膜, 高效液相色谱测定。

2.2.3 色谱条件

表 2-6 梯度条件

时间/min	A%	B%	流速 mL/min
0	100	0	0.9
14	100	0	0.9
15	60	40	0.9
24	60	40	0.9
25	100	0	0.9
30	100	0	0.9

3. 实验结果

3. 3.1 典型分析色谱图

图 3-1 混合标准溶液分离的色谱图(1000 ng/ml)

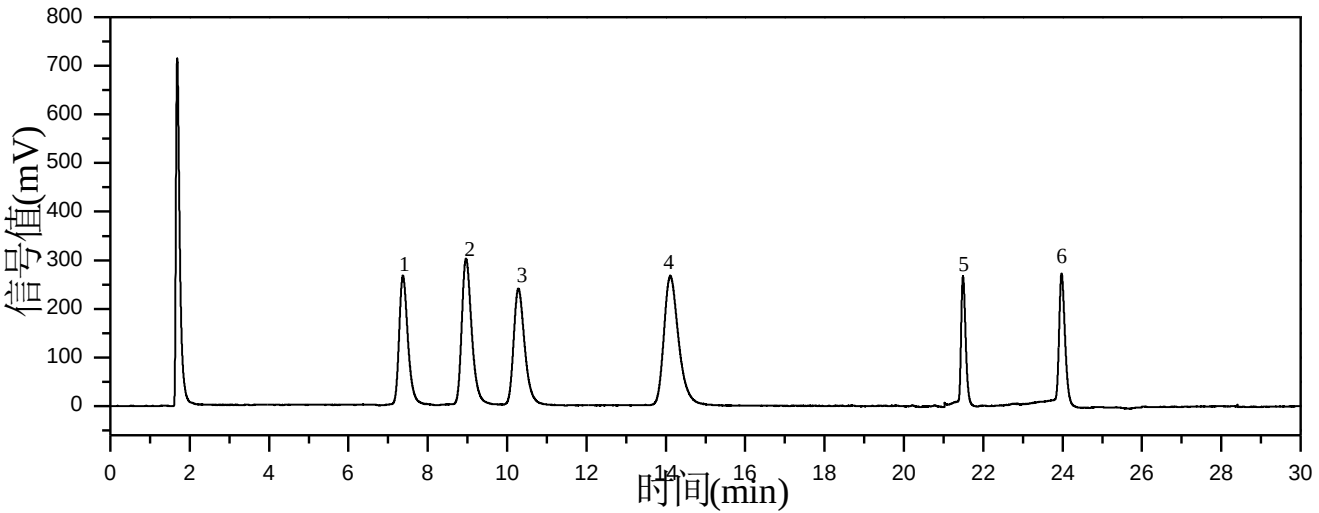


表 3-1 1000 ng/L 的混合标准溶液色谱参数表

序号	化合物名称	保留时间(min)	峰面积(mV.s)	容量因子	柱效(10^4 N/m)	拖尾因子
1	氧氟沙星	7.375	4001.487	3.38	2.3	1.3
2	诺氟沙星	8.961	5167.300	4.32	2.6	1.36
3	环丙沙星	10.283	4521.945	5.10	2.8	1.31
4	恩诺沙星	14.109	6759.937	7.37	3.0	1.32
5	噁喹酸	21.490	2195.900	11.75	6.8	1.37
6	氟甲喹	23.975	2719.801	13.23	5.2	1.39

4. 3.2 线性范围

按照 GB31656.3-2021 标准方法 A，配制混合标准工作液，质量浓度为 10 ng/mL、50

ng/mL、100 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL、2000 ng/mL，计算线性相关系数。

表 3-2 线性参数表

浓度(ng/ml)	峰面积(mV.s)					
-----	氧氟沙星	诺氟沙星	环丙沙星	恩诺沙星	噁喹酸	氟甲喹
10	32.60	41.59	36.56	54.66	42.55	63.67
50	190.43	250.99	211.20	260.47	108.77	140.29
100	523.81	716.14	602.91	862.79	346.29	434.73
500	2215.30	2983.72	2535.72	3511.98	1204.43	1571.29
1000	4122.45	5279.34	4627.10	6730.47	2195.99	2870.70
2000	8902.50	12101.32	9999.01	14366.01	5035.19	6494.07

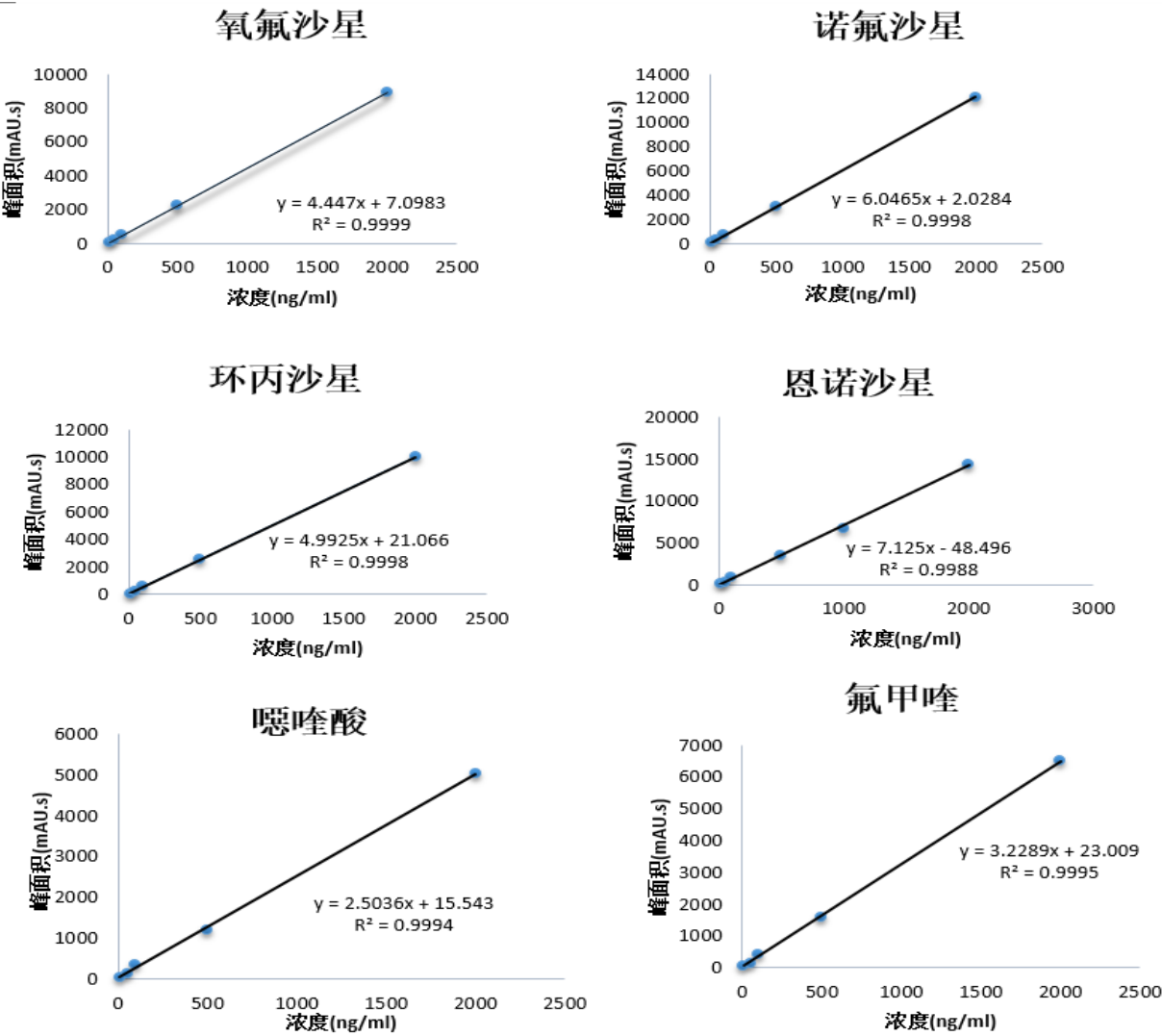


图 3-2 标准曲线

表 3-3 混合标准溶液中各物质线性方程数据表

名称	直线方程	R ²
氧氟沙星	y = 4.447x + 7.0983	0.9999
诺氟沙星	y = 6.0465x + 2.0284	0.9998
环丙沙星	y = 4.9925x + 21.066	0.9998
恩诺沙星	y = 7.125x - 48.496	0.9988
噁喹酸	y = 2.5036x + 15.543	0.9994
氟甲喹	y = 3.2289x + 23.009	0.9995

从表 3-3 中的数据可以看出，R² 基本都在 0.9988 以上，氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹在 10-2000 ng/mL 均具有良好的线性关系。

5. 3.3 重复性

用浓度为 1000 ng/mL 的混合标准溶液连续进样 5 针，峰面积和保留时间的 RSD 结果如下：

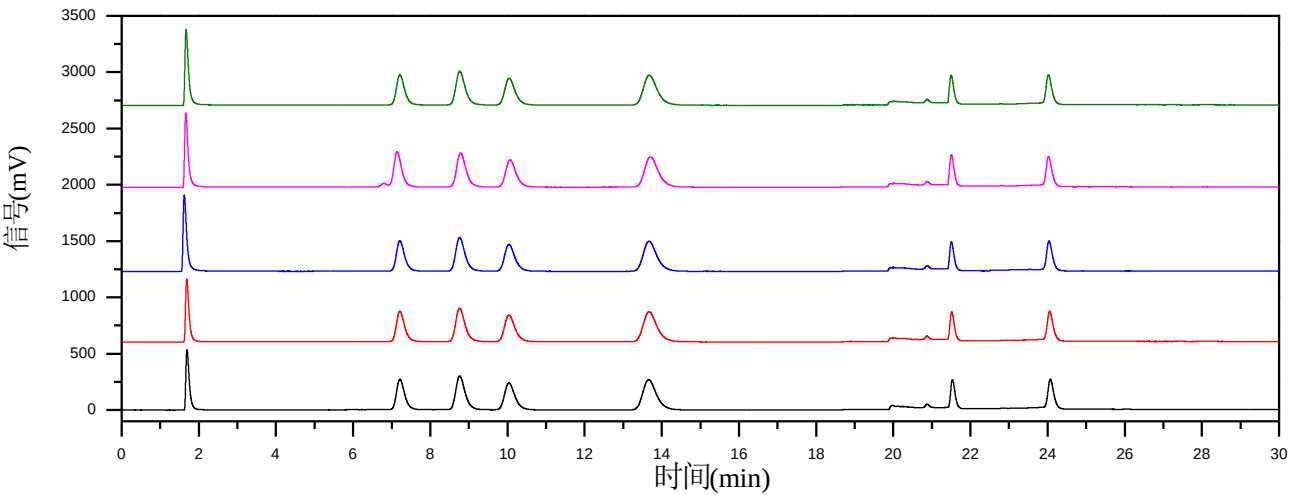


图 3-3 混合标准溶液(1000 ng/ml)重复性(n=5)

表 3-4 重复性参数表 (n=5)

针次	保留时间(min)						峰面积(mV.s)					
	氧氟沙星	诺氟沙星	环丙沙星	恩诺沙星	噁喹酸	氟甲喹	氧氟沙星	诺氟沙星	环丙沙星	恩诺沙星	噁喹酸	氟甲喹
1	7.200	8.741	10.021	13.646	21.732	24.29	3941.13	4997.19	4430.47	6590.06	2050.36	2808.79
2	7.141	8.784	10.070	13.709	21.505	24.02	4002.15	5134.06	4567.01	6703.07	2045.84	2754.7
3	7.211	8.756	10.043	13.667	21.500	24.02	3935.95	5034.27	4460.30	6670.67	2018.75	2811.27
4	7.212	8.763	10.038	13.662	21.553	24.07	4002.34	5063.22	4507.14	6716.33	2006.88	2699.24
5	7.208	8.760	10.037	13.667	21.514	24.05	3998.29	5023.74	4502.13	6660.36	1974.62	2817.86
RSD%	0.42	0.18	0.18	0.17	0.45	0.47	0.86	1.0	1.2	0.74	1.53	1.83

6. 3.4 最小检测浓度

在该色谱条件下，浓度为 10 ng/mL 的标准混合溶液中，各物质的峰高和噪音如表 3-5 所示，根据信噪比 S/N=3 计算出在该色谱条件下氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹仪器及方法的检出限和定量限，数据如表 3-6 所示。

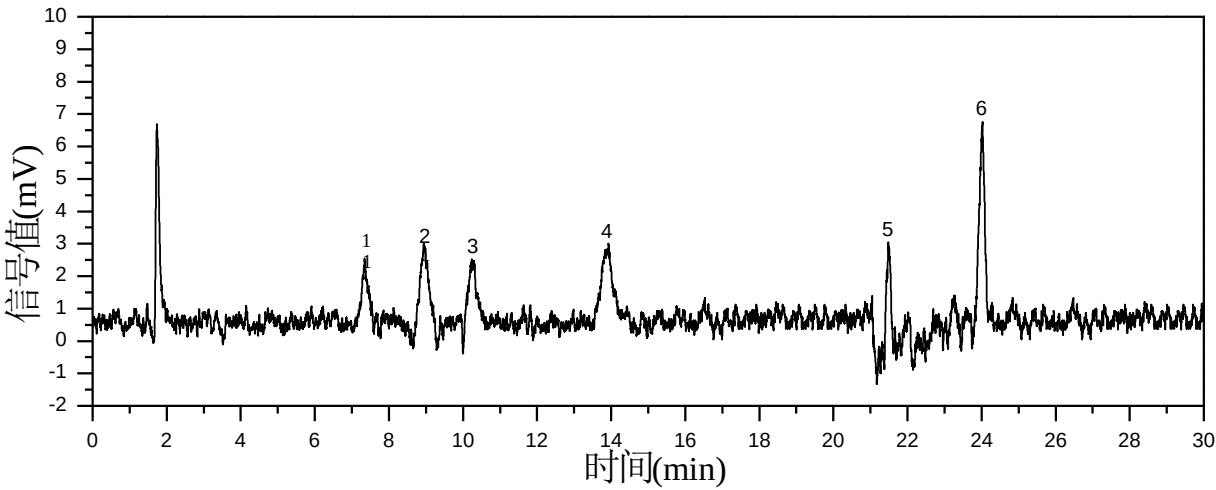


图 3-4 10 ng/ml 混合标准溶液色谱图

表 3-5 10 ng/ml 混合标准溶液各物质重要参数

序号	名称	保留时间(min)	峰面积(mV.s)	峰高(mV)	噪音(mV)	信噪比
1	氧氟沙星	7.358	38.900	2.420	0.5352	4.52
2	诺氟沙星	8.946	39.782	2.457	0.4636	5.30
3	环丙沙星	10.238	29.839	1.902	0.4445	4.28
4	恩诺沙星	13.928	64.029	2.460	0.5565	4.42
5	噁喹酸	20.902	297.115	3.524	0.5912	5.97
6	氟甲喹	24.024	62.507	5.632	0.4458	12.63

表 3-6 各物质检出限与定量限

化合物名称	仪器检出限(ng/mL)	仪器定量限(ng/mL)	方法检出限(μg/kg)	方法定量限(μg/kg)	标准要求
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	
氧氟沙星	6.6	22.1	1.3	4.4	方法检测限:2.5μg/ mL 方法定量限：5μg/ mL
诺氟沙星	5.7	18.9	1.1	3.9	
环丙沙星	7.0	23.4	1.4	4.7	
恩诺沙星	6.8	22.6	1.4	4.5	
噁喹酸	5.0	16.7	1.4	2.7	方法检测限:5 μg/ mL 方法定量限

氟甲喹	2.4	7.9	0.5	1.6	量限：10 µg/ mL
-----	-----	-----	-----	-----	--------------

7. 3.5 实际样品分析

3.5.1 供试样品

称取虾肉组织供试样品 5.0000 g，按照上述 GB 31656-2021 方法进行前处理处理，洗脱液过滤后，经高效液相色谱分离后如下图所示。检出该虾肉中含有氧氟沙星 30.0 µg/kg。

图 3-5 虾肉供试品分离色谱图

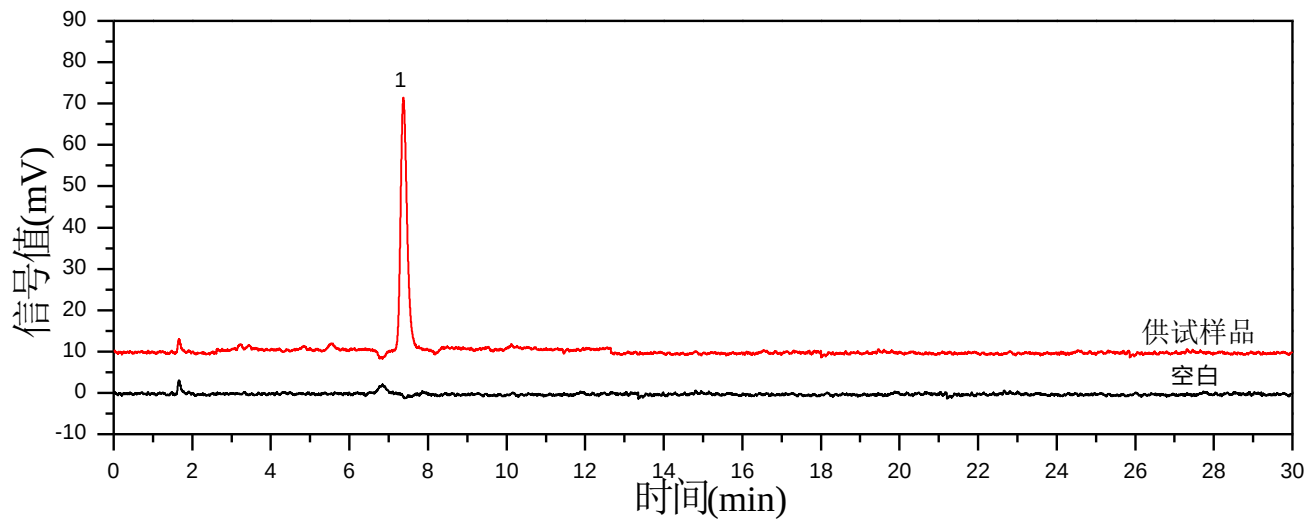


表 3-8 虾肉中抗生素分析数据

序号	名称	保留时间(min)	峰面积(mV.s)	含量(µg/kg)
1	氧氟沙星	7.398	677.576	30.0

4. 结论

上述结果显示实验结果显示，在该色谱条件下，采用依利特高效液相色谱产品分析混合标准溶液中各物质的方法检测限和定量限均在 GB31656.3-2021 规定范围内。满足标准检测需求。

5. 参考资料

GB 31656.3-2021 《水产品中氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量的测定 高效液相色谱法》

6. 备注

虾肉提取过程中，最后得到上清液如果存在悬浮物，建议先进行过滤。

订货信息：

类型	存货编码	存货名称	规格
工作站	31030062	Kromstation 色谱数据工作站(基础版)	/
工具包	3403090048	EClassical 3200 系统工具包	/
仪器	31010106	P3220 二元高压恒流泵	/
仪器	31090015	S3210 自动进样器	/
仪器	31040023	O3210 色谱柱恒温箱	/
仪器	31020058	D3250 荧光检测器	/
仪器	18990150	T3200 溶剂托盘	/
色谱柱	31111381	SinoPak BEH T-C18 5um130 Å	4.6*250 mm
SPE 产品	21010008	C18 固相萃取柱	500mg/3mL
耗材	36010059	疏水 PTFE 焊接滤器	0.45mm
耗材	36010164	9-425 蓝色开孔竖条纹盖配 1.0mm 厚度红膜白胶垫片	/
耗材	36010215	9-425 棕色样品瓶	2mL

四、 氨基甲酸酯类农药分析

1. 设备与试剂

表1-1 所需化学试剂和溶液

序号	试剂和溶液	备注
1	甲醇	色谱纯
2	超纯水	18.2MΩ
3	氢氧化钠	分析纯
4	四硼酸钠	分析纯
5	邻苯二甲醛	分析纯
6	β-巯基乙醇	分析纯
7	氨基甲酸酯混标	50µg/mL

表 1-2 前处理设备配置包

序号	设备名称	规格级别	推荐品牌及型号
----	------	------	---------

		容积：3L	
1	超声波清洗器	功率120W 超声功率：40KHz 抽气速率（L/min）：20	天津奥特赛恩斯，AS3120
2	隔膜真空泵	极限压力真空度：≥0.08MPa 电机功率：160W 滤头孔径：10μm	天津津腾，GM-0.33型
3	溶剂过滤器	筛板材质：高硼硅玻璃 三角瓶容积：1000 mL 最大称量：100g	天津津腾，T-50.1L
4	电子天平	最小读数：0.0001g 称盘尺寸：Φ90mm 最大转速：>4000r/min	沈阳龙腾，JD100-4
5	离心机	角转子容量：6×50mL 角转子容量：12×10mL 加热方式：干式加热	湖南凯达，TG16G
6	氮吹仪	处理样品数：12个 温控范围：>40℃ 加热功率：160W 功率：40W	天津因赛，PGC-01D
7	涡旋混合器	转速：3000r/min 工作方式：点动，连续 工作台直径：Φ55mm（橡胶）	江苏海门其林贝尔， QL-861
8	食品粉碎机	——	好厨宝，多功能绞菜器
9	移液枪	量程：100-1000μL 增量：5μL 量程：1000-5000μL 增量：50uL	大龙仪器，TopPette单道手动可 调移液器
10	玻璃漏斗	口径：90mm	——

表 1-3 前处理耗材配置包

序号	名称	规格
1	一次性注射器	1mL
2	水系滤膜	φ50mm，0.45μm
3	有机系滤膜	φ50mm，0.45μm
		50mL
4	塑料离心管	10mL
		1mL
		1mL
5	移液枪枪头	5mL
6	定量滤纸	9cm(O.D.)

7	QuEChERS提取产品	容量：50mL 4g无水MgSO ₄ ，1.5g无水NaCl
8	QuEChERS净化产品	容量：15 mL 900mg无水MgSO ₄ ，300mgPSA

2. 实验方法

2.1 【样品预处理】

- 标准品处理：

准确称取 10.0 mg（精确到 0.1 mg）氨基甲酸酯标准品于 100 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，配制成浓度为 100 µg/mL 的标准储备液，于 4℃ 避光保存。标准系列可采用上述储备液，用甲醇逐级稀释。

- 样品处理：

本方法应用 QuEChERS 技术，对样品进行前处理。QuEChERS 技术是将水溶液中的固体样品加盐后经过乙腈萃取，然后通过液固萃取去除乙腈中存在的大部分干扰物，最后通过一种或多种检测技术进行分析。

2.2 【测试条件】

- 流动相：甲醇：水（梯度）

表 1-4 梯度洗脱表

时间(min)	A（甲醇 %）	B（水 %）	梯度
0	15	85	1
9	50	50	1
16	90	10	0
19	90	10	1
19.1	15	85	0
28	15	85	0

- 色谱柱：Elite ACO 氨基甲酸酯类农药分析专用柱（4.6×250mm，5µm）

- 流速：1.0mL/min

- 检测器：荧光检测器 FLD
- 荧光检测器：激发波长：330nm；发射波长：465nm
- 进样量：10 μ L
- 柱温：42 $^{\circ}$ C

2.3 【典型谱图】

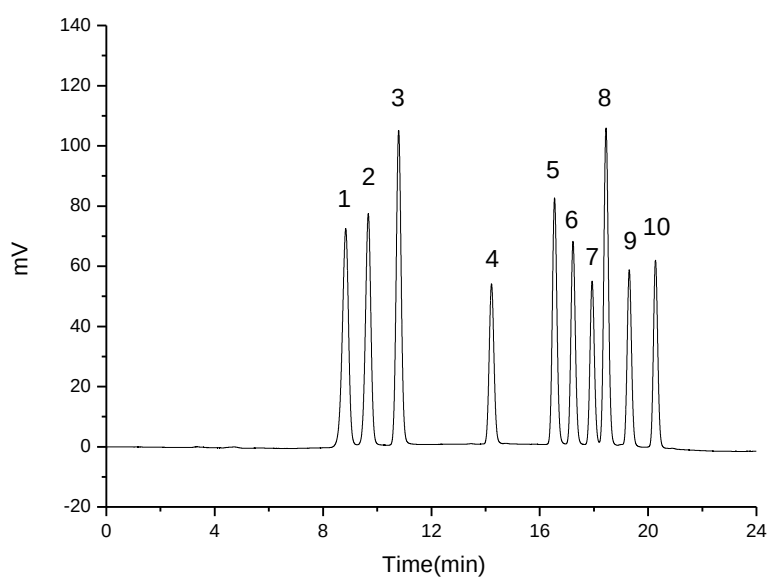


图 1-1 氨基甲酸酯类农药 10 种标准品谱图

1. 涕灭威亚砷 Aldicarb sulfoxide; 2. 涕灭威砷 Aldicarb sulfone ; 3. 灭多威 methomyl; 4. 3-羟基克百威 3-hydroxy carbofuran; 5. 涕灭威 Aldicarb; 6. 速灭威 Metolcarb; 7. 克百威 Carbofuran; 8. 甲萘威 Carbaryl; 9. 异丙威 Isoprocarb; 10. 仲丁威 Fenobucarb

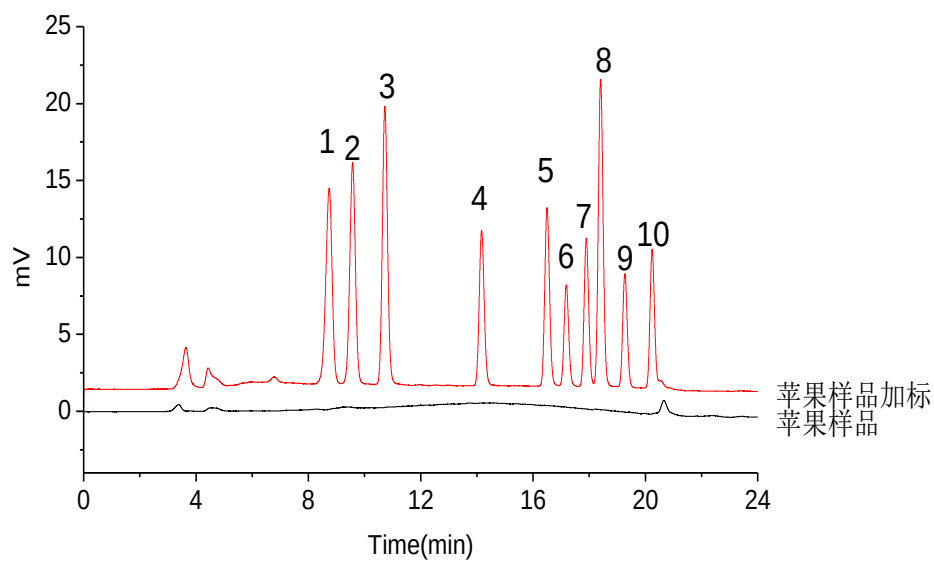


图 1-2 某苹果样品加标谱图

2.4 性能指标

【连续进样重复性】

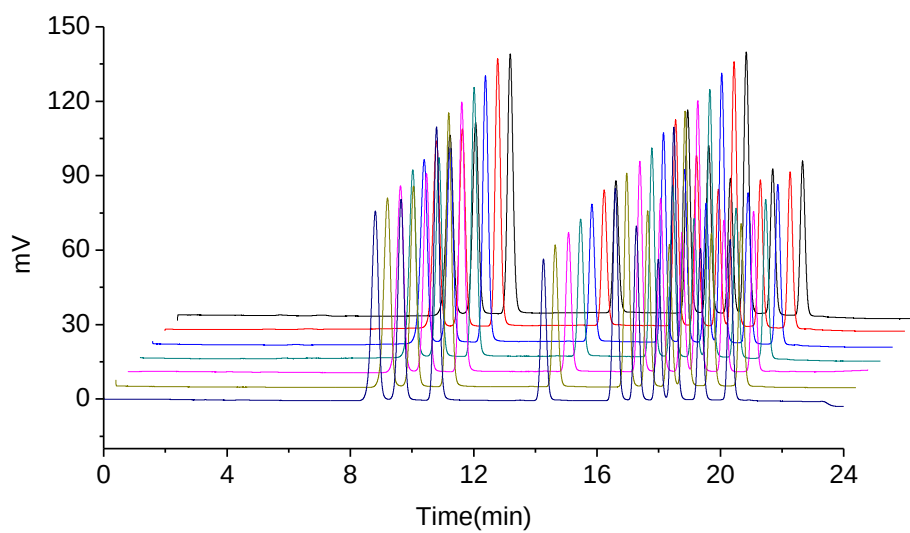


图 1-3 10 种氨基酸酯连续进样谱图叠加重叠谱图

表1-5 标准品连续进样7次重复性数据

编号	名称	保留时间 RSD 值	峰面积 RSD 值
1	涕灭威亚砷	0.21%	1.38%
2	涕灭威砷	0.23%	1.17%
3	灭多威	0.21%	1.14%
4	3-羟基克百威	0.16%	0.99%
5	涕灭威	0.09%	0.98%
6	速灭威	0.08%	1.00%
7	克百威	0.08%	1.00%
8	甲萘威	0.07%	1.00%
9	异丙威	0.08%	0.80%
10	仲丁威	0.08%	1.18%

2.5 【线性范围】

10 种氨基甲酸酯在 0.05～10.0 mg/L（测试浓度）范围内具有良好的线性相关性。

表1-6 氨基甲酸酯类农药线性相关性

峰号	名称	线性方程	线性相关系数
1	涕灭威亚砷	Y=104.07x-4.6139	R=0.9999
2	涕灭威砷	Y=106.47x-4.5611	R=0.9999
3	灭多威	Y=140.42x-5.1506	R=0.9999
4	3-羟基克百威	Y=70.005x-2.9517	R=0.9999
5	涕灭威	Y=105.33x-4.2844	R=0.9999
6	速灭威	Y=84.315x-3.3494	R=0.9999
7	克百威	Y=57.280x-2.8600	R=0.9999
8	甲萘威	Y=122.17x-3.9678	R=0.9999
9	异丙威	Y=68.789x-2.7711	R=0.9999
10	仲丁威	Y=61.055x-3.1133	R=0.9999

2.6 【方法检出限】

表1-7 方法检出限(S/N=3)

峰号	名称	方法检出限(mg/kg)
1	涕灭威亚砷	0.015
2	涕灭威砷	0.015
3	灭多威	0.010
4	3-羟基克百威	0.020
5	涕灭威	0.015
6	速灭威	0.015
7	克百威	0.025
8	甲萘威	0.010
9	异丙威	0.015
10	仲丁威	0.020

2.7 【方法回收率】

表1-8 某苹果样品加标回收率

峰号	名称	加标0.4μg		加标2.0μg	
		回收率%	RSD 值%	回收率%	RSD 值%
1	涕灭威亚砷	91.45	2.00	87.60	0.32
2	涕灭威砷	96.80	4.35	92.33	0.97
3	灭多威	95.22	2.62	86.89	5.05
4	3-羟基克百威	97.35	3.80	92.45	1.00
5	涕灭威	93.70	3.26	84.57	2.14
6	速灭威	84.15	8.90	75.20	5.85
7	克百威	100.37	1.75	89.10	2.90
8	甲萘威	100.00	2.45	93.65	1.05
9	异丙威	90.26	2.95	80.90	3.15
10	仲丁威	95.90	3.10	85.75	3.89

3. 系统配制

3.1 EClassical3100 系统配置

表 3-1 液相色谱仪标准配置包

序号	名 称	数 量
梯度系统仪器配置		
1	D3250 荧光检测器	1 套
2	P3100 高压恒流泵	2 台
3	TD-1-15 梯度混合器	1 个
4	Rheodyne 7725i 高压六通进样阀	1 支
5	ZJ-1 阀支架	1 个
6	O3100 色谱柱恒温箱	1 台
7	A/D 适配器	1 台
8	W5100 色谱数工作站	1 套
9	TP3100 溶剂瓶托盘	1 个
10	3100 系统工具包	
11	500mL 流动相储液瓶（棕色）、溶剂瓶塞、蓝盖	1 套
12	500mL 流动相储液瓶（透明）、溶剂瓶塞、蓝盖	3 套
柱后衍生系统仪器配置		
13	PCD3020 柱后衍生反应器（含启动包）	1 套
14	P3100 高压恒流输液泵	2 台
色谱柱		
15	Elite ACO 氨基甲酸酯类农药分析专用柱	1 支
高级配置（更多功能，人性化配置，工作效率更高）		
16	M3100 溶剂管理器（含进口二元脱气机）	1 台
17	S3100 自动进样器	1 套

注：P230II 系列的同等配置高效液相色谱仪亦可，具体情况请来电咨询



走进依利特
www.eliteHPLC.com

来到依利特
大连公司
中国·辽宁·大连市高新技术产业园区七贤岭学子街2号
苏州公司
中国·江苏·苏州工业园区金鸡湖大道99号苏州纳米城西北区14栋501

了解依利特
销售服务免费热线：400-66-35483 转 3
(非工作时间请拨打13604289881)

尊享依利特
售后服务免费专线：400-66-35483 转1(仪器)/ 转2(耗材)
(非工作时间请拨打13604289881)

分享依利特



抖音官方账号



微信售后小程序



依利特视频号



依利特服务号



依利特订阅号