

牛奶中左旋咪唑残留量的测定 GB 29681-2013、GB/T22994-2008

1、适用范围

适用于牛奶中左旋咪唑残留量的测定（该实验选用基质为纯牛奶）

参考标准：《GB 29681-2013 食品安全国家标准 牛奶中左旋咪唑残留量的测定 高效液相色谱法》

《GB/T 22994-2008 牛奶和奶粉中左旋咪唑残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》

2、溶液的配制

- 1) 标准贮备液：精密称取盐酸左旋咪唑标准品 10mg，于 10mL 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配置成浓度为 1mg/mL 的左旋咪唑标准贮备液。2℃~4℃保存，有效期 3 个月。
- 2) 标准工作液：精密量取 1mg/mL 的左旋咪唑标准贮备液 0.1mL，于 10mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配置成 10μg/mL 的左旋咪唑标准工作液。2℃~4℃保存，有效期 3 个月。
- 3) 0.02mol/L 磷酸二氢钠二乙胺缓冲溶液：取磷酸二氢钠 2.44g，加水 850mL 溶解，加二乙胺 3mL 混合，用 20%磷酸调 pH 至 7.5，用水稀释并定容至 1L，抽滤。

3、提取步骤

称取 5g 混匀的试样（精确至 0.01g）于离心管①中，加入 5g 氯化钠和 20mL 乙酸乙酯，涡旋 1min，超声 10min，以 4000r/min 离心 10min，取上层乙酸乙酯于另一个离心管②中；往离心管①中再加入 20mL 乙酸乙酯提取，涡旋 1min，超声 10min，以 4000r/min 离心 10min，取上层乙酸乙酯于离

离心管②中，混匀。准确移取离心管②中的溶液 10mL 于离心管③中，再加 0.2mol/L 盐酸 20mL，涡旋 1min，以 6000r/min 离心 2min。取下层盐酸溶液 10mL，待净化。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom[®] P-SCX 规格：500 mg/3mL

活化：3mL 甲醇，3mL 水，1mL 0.2mol/mL 盐酸，弃去；

上样：准确移取 10mL 待净化液上样，弃去；

淋洗：3mL 水，1mL 0.2mol/mL 盐酸，3mL 甲醇，弃去，并压干；

洗脱：加入 4mL 氨水-甲醇溶液，收集流出液；

浓缩：将洗脱液置于 45℃ 水浴中氮吹至干；

复溶：磷酸二氢钠二乙胺缓冲溶液-甲醇（70-30）定容至 1mL，用 0.22μm 滤头过滤，作为 HPLC 供试样品，上机测定。

5、注意事项

- 1) 加标水平：5g 样中加入 400μL 10μg/mL 左旋咪唑标准工作液，定容至 1mL，加标水平为 0.8mg/kg，机读数为 0.5μg/mL。
- 2) 采用的是《GB 29681-2013 食品安全国家标准 牛奶中左旋咪唑残留量的测定 高效液相色谱法》的液相方法（国标中以甲醇为有机相，但实验发现标品不出峰，查阅文献，改用于乙腈为有机相）及定容溶液（国标中以甲醇-缓冲液（3-7）为定容液，后尝试乙腈-缓冲液（3-7），发现标品出峰位置有杂峰影响积分）；选用《GB/T 22994-2008 牛奶和奶粉中左旋咪唑残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》的净化方法。
- 3) 国标中需使用 10mol/L 氢氧化钠调节 pH，但实验发现，加入氢氧化钠后，回收率不高，后取消

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编：321000

E-mail:Lingyuyu@welchmat.com

氢氧化钠。

- 4) 国标使用 10g 样品，但实验过程中发现，10g 样品加入 20mL 乙酸乙酯后，离心后上清液无法按标准取出 10mL，后改为 5g 即可。

6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate® XB-C18,4.6×150mm,5μm

流动相：0.02mol/L 磷酸二氢钠二乙胺缓冲溶液-乙腈=70-30（等度）

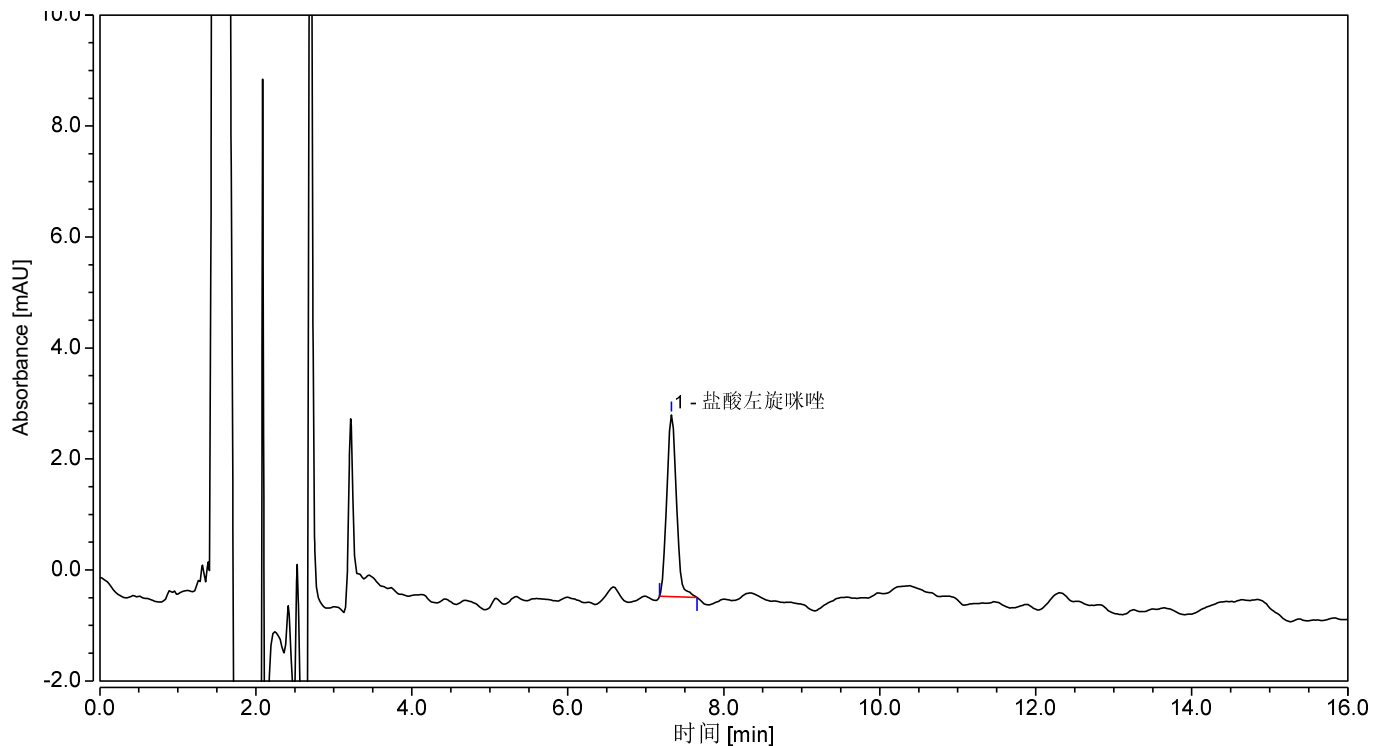
流速：1.000mL/min

柱温：30℃

进样量：20μL

检测波长：220nm

7、色谱图或者加标回收率结果



声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 TeL:400-810-6969

邮编:321000

E-maiL:Lingyuyu@weLchmat.com

图 1. 左旋咪唑对照品 0.5 μ g/mL 图谱

峰名称	保留时间	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	分离度	塔板数
	min	mAU*min	mAU	%		(EP)	(EP)
左旋咪唑	7.330	0.475	3.278	100.00	1.08	n.a.	16681

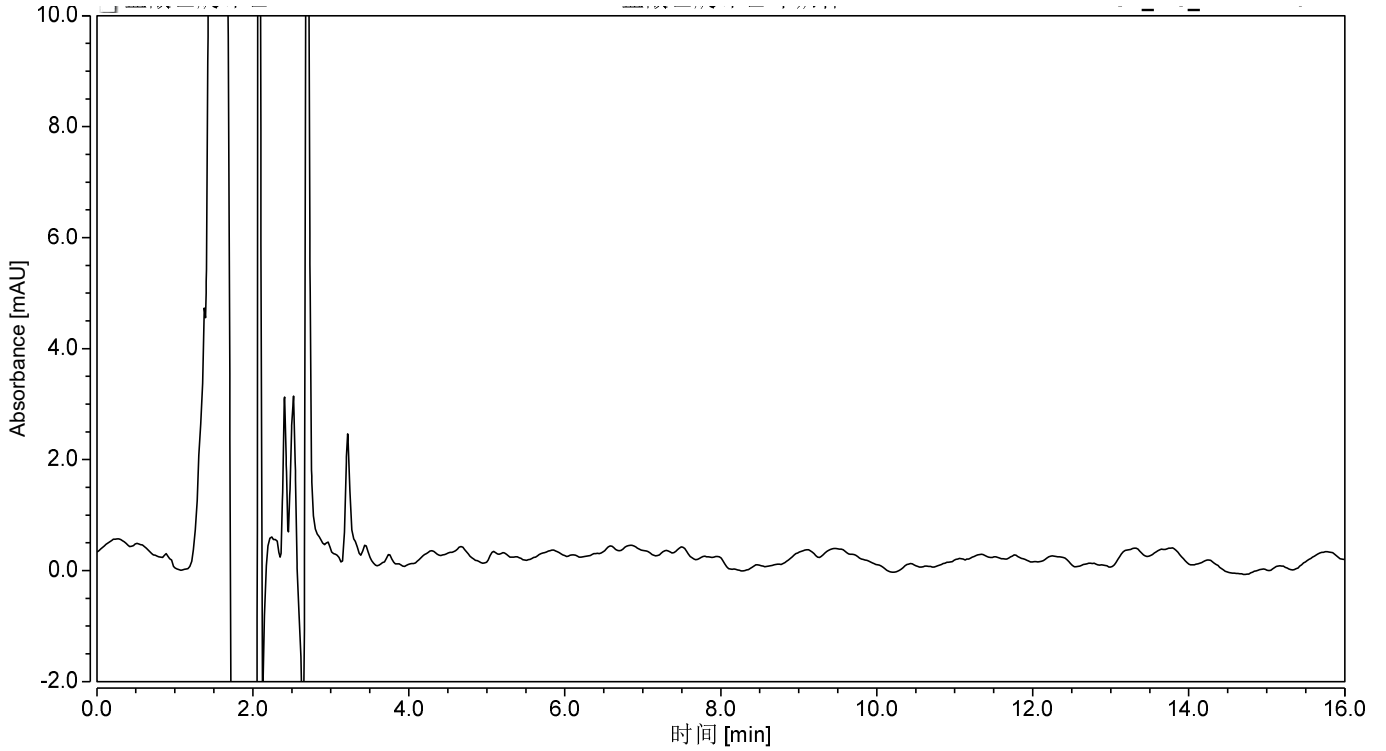


图 2. 牛奶样品空白 图谱

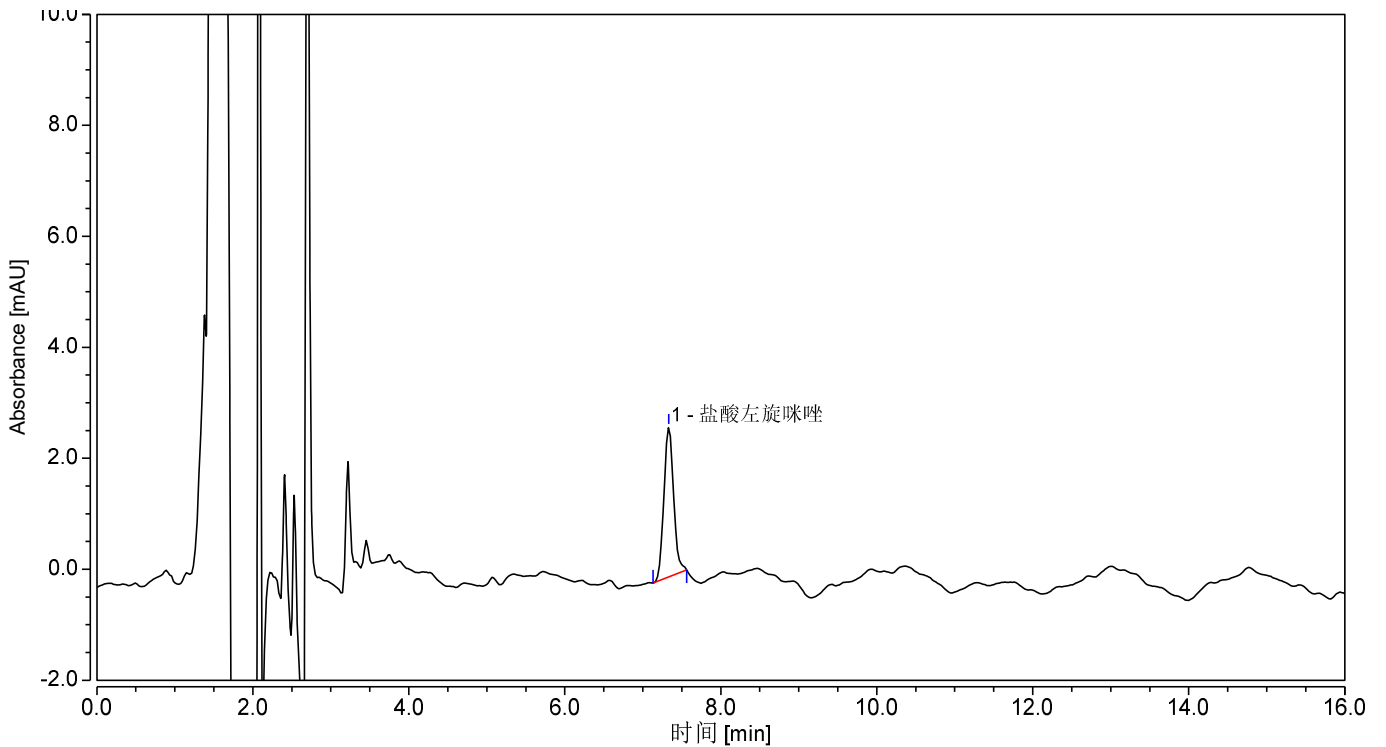


图 3. 牛奶样加标 0.8mg/kg 图谱

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:Lingyuyu@weLchmat.com

表 1.加标回收率表

名称	加标水平 mg/kg	平均回收率%	RSD %
盐酸左旋咪唑	0.1	83	0.83

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00523-20005	SPE 小柱	Welchrom® P-SCX,500mg/3ml,50pk
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌, 50mL, 50/包
00837-05002	15mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌, 15mL, 50/包
00824-31001	Welch 固相萃取装置	12 位方缸
00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-31041	液相色谱柱	Ultimate®XB-C18, 4.6×150mm, 5µm
	左旋咪唑标准品	CAS 号: 16595-80-5

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 TeL:400-810-6969

邮编: 321000

E-maiL:Lingyuyu@weLchmat.com