

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
GB 31656.3-2021

1、适用范围

适用于水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量的测定（该实验选用基质为龙利鱼）

参考标准：《GB 31656.3-2021 食品安全国家标准 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 高效液相色谱法》

2、溶液的配制

- 1) 盐酸溶液：取盐酸 50mL，加水稀释至 100mL，混匀。
- 2) 磷酸溶液：取磷酸 1mL，加水稀释至 10mL，混匀
- 3) 酸化乙腈溶液：取乙腈 250mL，加 1 的盐酸溶液 2mL，充分混匀
- 4) 乙腈饱和正己烷溶液：取正己烷 200mL，加适量乙腈，充分混匀后，静置分层，上层即为乙腈饱和正己烷溶液
- 5) 0.1mol/L 盐酸溶液：取盐酸 0.9mL，用水稀释至 100mL
- 6) 0.1mol/L 氢氧化钠溶液：取盐酸 0.4g，用水稀释至 100mL
- 7) 0.05mol/L 磷酸盐缓冲溶液：取二水合磷酸二氢钠 1.56g，加 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 79mL 溶解，用水稀释到 200mL
- 8) 0.01mol/L 四丁基溴化铵溶液（pH3.0）：取四丁基溴化铵 3.22g，加水 900mL 使溶解，用磷酸溶液调节 pH 到 3.0，用水稀释至 1000mL
- 9) 洗脱液：取氨水 25mL，用甲醇稀释至 100mL

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

- 10) 诺氟沙星、氧氟沙星标准储备液(100 μ g/mL): 精密称取诺氟沙星、氧氟沙星各 1mg, 用 0.1mol/L 盐酸溶液 1mL 使溶解, 用乙腈定容至 10mL
- 11) 环丙沙星、恩诺沙星标准储备液 (100 μ g/mL): 精密称取环丙沙星、恩诺沙星各 1mg, 用甲醇溶解, 并定容至 10mL
- 12) 噁喹酸、氟甲喹标准储备液 (100 μ g/mL): 精密称取噁喹酸、氟甲喹各 1mg, 用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 1mL 使溶解, 用乙腈定容至 10mL
- 13) 混合标准工作液 (1 μ g/mL): 诺氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星标准储备液 0.1mL, 用流动相 A 定容至 10mL; 噁喹酸、氟甲喹标准储备液 0.1mL, 用流动相 A 定容至 10mL 【流动相更换, 混合工作液就需要重新配制】

3、提取步骤

称取试样 5g \pm 0.02g, 加酸化乙腈溶液 20mL、无水硫酸钠 10g, 高速均质 1-2min, 4000r/min 离心 5min, 取上清液至分液漏斗, 用酸化乙腈溶液 20mL 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 60mL, 震荡 5min, 静置, 取下层乙腈至梨形瓶, 40 $^{\circ}$ C 旋蒸至干。加磷酸盐缓冲溶液 4mL, 超声震荡 1min, 静置 30s, 溶液转至 15mL 离心管, 再重复溶解 2 次, 转移至同一离心管, 3000r/min 离心 5min, 取上清液备用。

4、SPE

SPE 柱: 月旭 Welchrom C18E, 500mg/3mL,

活化: 3mL 甲醇; 3mL 水; 3mL 磷酸缓冲溶液;

上样: 待净化液全部上样;

淋洗: 3mL 水淋洗;

洗脱: 25%氨水甲醇 5mL 洗脱; 收集, 50 $^{\circ}$ C 氮吹至干

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

复溶：加流动相 A 1 mL，过 0.22 μ m 微孔滤膜，HPLC 测定

5、注意事项

1、加标水平：在 5g 样中精确加入 25 μ L 的 1mg/L 诺氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星标准工作液，加标水平为 5 μ g/kg，机读数为 25 μ g/L；50 μ L 的 1mg/L 噁唑酸、氟甲喹标准工作液，加标水平为 10 μ g/kg，机读数为 50 μ g/L。

2、流动相 A 更换时，标准工作液需重新配制，否则氟甲喹出峰异常。

6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate®AQ-C18 4.6*150mm, 5 μ m

流动相：A-0.01mol/L 四丁基溴化铵—乙腈（94:6）；B-乙腈

	A%	B%
0	100	0
14	100	0
15	60	40
24	60	40
25	100	0
30	100	0

流速：0.9mL/min

柱温：35 $^{\circ}$ C

进样量：10 μ L

检测波长：0min Ex280nm;Em:480nm

18.5min Ex325nm;Em:365nm

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

7、色谱图或者加标回收率结果

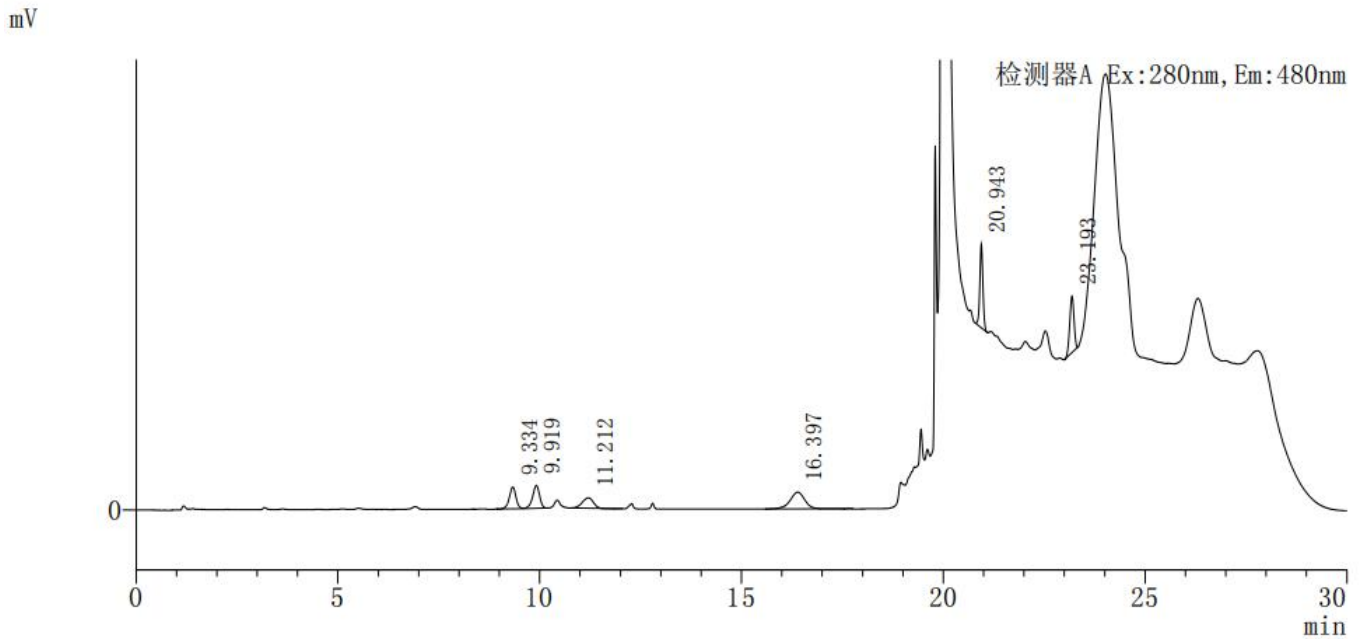


图 1、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星 25 μ g/L；噁唑酸、氟甲喹 50 μ g/L

化合物名	保留时间	高度	面积	理论塔板数	拖尾因子	分离度 (USP)
氧氟沙星	9.334	7274	83905	15076	0.934	—
诺氟沙星	9.919	7596	92009	15173	0.893	1.867
环丙沙星	11.212	3503	65463	7386	0.909	3.065
恩诺沙星	16.397	5622	143558	10224	0.94	8.859
噁唑酸	20.943	27747	146774	296494	1.025	11.332
氟甲喹	23.193	18716	139520	196811	0.937	12.395

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

mV

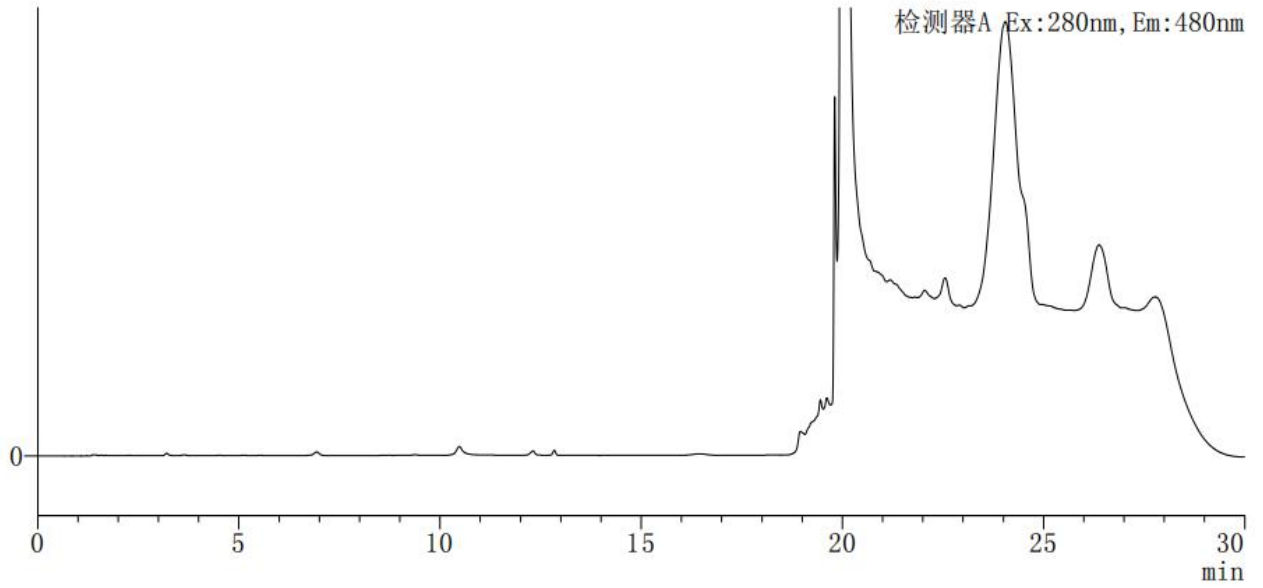


图 2、 龙利鱼样品图谱

mV

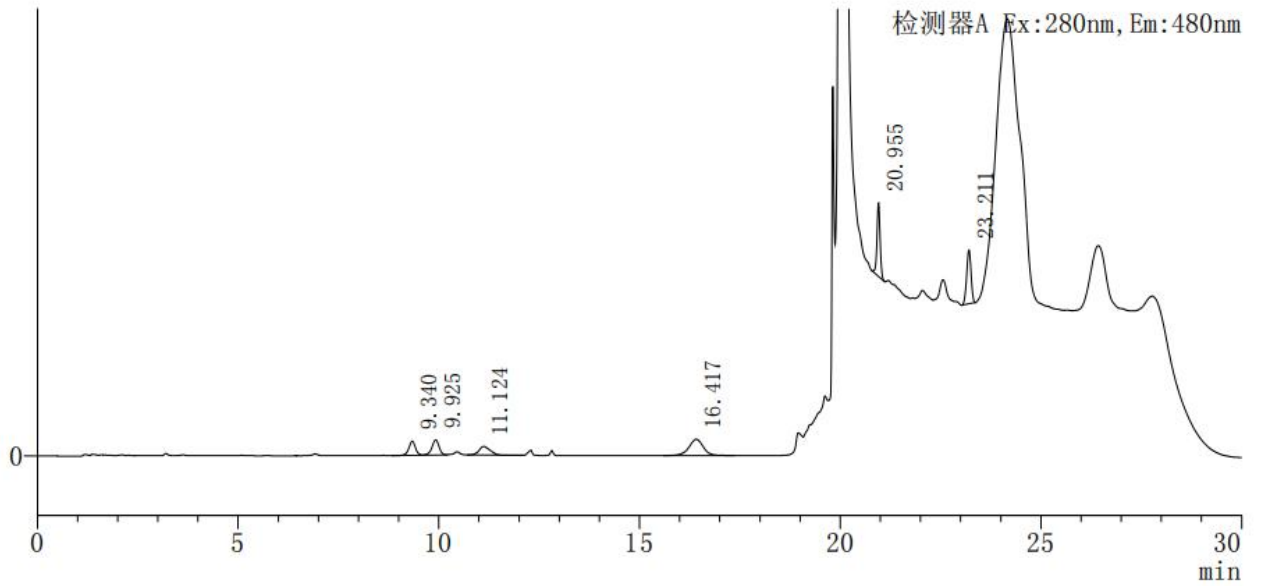


图 3、 龙利鱼样加标诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星 5 μ g/kg; 噁喹酸、氟甲喹 10 μ g/kg

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	平均回收率%	RSD%(N=3)
1	氧氟沙星	5µg/kg	81.65%	2.85%
2	诺氟沙星		71.24%	2.33%
3	环丙沙星		83.01%	0.60%
4	恩诺沙星		90.25%	4.52%
5	恶喹酸	10µg/kg	83.72%	2.35%
6	氟甲喹		87.52%	2.48%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00559-11005	SPE 小柱	Welchrom® C18E,500mg/3ml,50pk
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
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
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
00207-31041	液相色谱柱	Ultimate®AQ-C18 4.6*150mm,5µm
00802-02201	针头式过滤器	进口 NY,13mm*0.22µm,100pk

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