



中华人民共和国国家标准

GB 29691—2013

食品安全国家标准

鸡可食性组织中尼卡巴嗪残留量的测定

高效液相色谱法

Determination of Nicarbazin residues in edible tissues of chicken by High
Performance Liquid Chromatographic method

(电子版仅供参考，以标准正式出版物为准)

2013-09-16 发布

2014-01-01 实施

中华人民共和国农业部

发布

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会

目 次

目 次	I
前 言	II
鸡可食性组织中尼卡巴嗪残留量的测定 高效液相色谱法	1
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 方法提要或原理	1
4 试剂和材料	1
5 仪器和设备	2
6 样品制备与保存	2
6.1 样品的制备	2
6.2 样品的保存	2
7 测定步骤	3
7.1 提取	3
7.2 净化	3
7.3 标准曲线的制备	3
7.4 测定	3
7.5 空白实验	4
8 结果的计算与表达	4
9 检测方法的灵敏度、准确度、精密度	4
9.1 灵敏度	4
9.2 准确度	4
9.3 精密度	4
附录 A	5

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准系国内首次发布的国家标准。

鸡可食性组织中尼卡巴嗪残留量的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了鸡可食性组织中尼卡巴嗪标识残留物 4, 4'-二硝基均二苯脲残留量检测的制样和高效液相色谱测定方法。

本标准适用于鸡肌肉、肝脏和肾脏组织中尼卡巴嗪标识残留物 4, 4'-二硝基均二苯脲残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 1.1-2000 标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写规则

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试料中残留的 4, 4'-二硝基均二苯脲，用乙腈提取，正己烷除脂，C₁₈ 柱净化，乙腈水溶液洗脱，高效液相色谱测定，外标法定量。

4 试剂和材料

以下所用试剂，除特别注明者外，均为分析纯试剂，水为符合GB/T6682规定的一级水。

- 4.1 4, 4'-二硝基均二苯脲对照品：含量≥99 %。
- 4.2 N, N-二甲基甲酰胺。
- 4.3 乙腈：色谱纯。
- 4.4 甲醇：色谱纯。
- 4.5 正己烷：色谱纯。
- 4.6 正丙醇。
- 4.7 C₁₈固相萃取柱：500 mg/3 mL，或相当者。
- 4.8 洗脱液：取乙腈70mL，用水溶解并稀释至100 mL。
- 4.9 1mg/mL 4, 4'-二硝基均二苯脲标准贮备液：精密称取4, 4'-二硝基均二苯脲对照品25 mg，于25 mL

的容量瓶中，用二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度，配制成浓度为1 mg/mL的4,4'-二硝基均二苯脲标准贮备液。-20℃以下保存，有效期6个月。

4.10 100 μg/mL 4,4'-二硝基均二苯脲标准工作液：精密量取1 mg/mL 4,4'-二硝基均二苯脲标准贮备液1.0 mL，于10 mL量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度为100 μg/mL的4,4'-二硝基均二苯脲标准工作液。2-4℃以下保存，有效期一周。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

5.2 分析天平：感量0.000 01 g。

5.3 天平：感量0.01 g。

5.4 均质机

5.5 旋转蒸发器

5.6 旋涡混合器

5.7 超声波清洗器

5.8 离心机

5.9 鸡心瓶：50 mL。

5.10 具塞离心管：10 mL、50 mL。

5.11 滤膜：有机相，0.45 μm。

6 试料制备与保存

6.1 试料的制备

取适量新鲜或冷冻的空白或供试组织，绞碎，并使均质。

——取均质后的供试样品，作为供试试料。

——取均质后的空白样品，作为空白试料。

——取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试料。

6.2 试料的保存

-20℃以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试料 (2.0 ± 0.02) g, 于50 mL离心管中, 加乙腈10 mL, 超声5 min, 4 000 r/min离心12 min, 取上清液, 于50 mL鸡心瓶中。残渣中加乙腈10 mL, 重复提取一次, 合并两次上清液, 加正丙醇3 mL, 60°C旋转蒸近干。加乙腈0.5 mL、正己烷1 mL, 涡旋3 min, 溶解, 移至10 mL的具塞离心管中。用乙腈0.5 mL和正己烷1 mL重复涡旋溶解一次。合并两次溶液至10 mL的具塞离心管中, 加入正己烷2 mL, 漩涡混合3 min, 4 000 r/min 离心5 min, 弃上层正己烷液。再加正己烷2 mL, 重复提取一次, 4 000 r/min 离心5 min, 取下层液, 备用。

7.2 净化

C₁₈柱用乙腈10 mL活化, 取备用液过柱, 自然流干, 收集滤液。用洗脱液4 mL洗脱, 收集洗脱液, 合并滤液和洗脱液, 于60°C旋转蒸发近干, 用流动相2.0 mL溶解残余物, 滤膜过滤, 供高效液相色谱测定。

7.3 标准曲线的制备

精密量取100 $\mu\text{g/mL}$ 4, 4'-二硝基均二苯胺标准工作液适量, 用流动相稀释, 配制成浓度为31.25、62.5、125、250、500、1000、2000、4000和8000 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液, 供高效液相色谱测定。以测得峰面积为纵坐标, 对应的标准溶液浓度为横坐标, 绘制标准曲线。求回归方程和相关系数。

7.4 测定

7.4.1 色谱条件

色谱柱: C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 粒径5 μm), 或相当者;

流动相: 乙腈+水 (58+42, v/v);

流速: 1.0 mL/min;

检测器: 紫外检测器;

波长: 340 nm;

柱温: 30°C;

进样量: 20 μL 。

7.4.2 测定法

取试样溶液和相应的标准溶液, 作单点或多点校准, 按外标法, 以峰面积计算。标准溶液及试样溶液中4, 4'-二硝基均二苯胺响应值应在仪器检测的线性范围之内。在上述色谱条件下, 标准溶液和空白试料添加试样溶液的高效液相色谱图分别见附录A。

7.5 空白实验

除不加试料外，采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果的计算与表达

试料中4,4'-二硝基均二苯脲的残留量($\mu\text{g}/\text{kg}$):按下式计算
式中:

$$X = \frac{A \times C_s \times v}{A_s \times m}$$

X ——供试试料中4,4'-二硝基均二苯脲的残留量, $\mu\text{g}/\text{kg}$;

A ——试样溶液中4,4'-二硝基均二苯脲的峰面积;

A_s ——标准溶液中4,4'-二硝基均二苯脲的峰面积;

C_s ——标准溶液中4,4'-二硝基均二苯脲的浓度, $\mu\text{g}/\text{L}$;

V ——溶解残余物的流动相体积, mL ;

m ——供试试料质量, g 。

注:计算结果需扣除空白值,测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留至小数点后三位。

9 检测方法的灵敏度、准确度、精密度

9.1 灵敏度

本方法的检测限为 $20\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

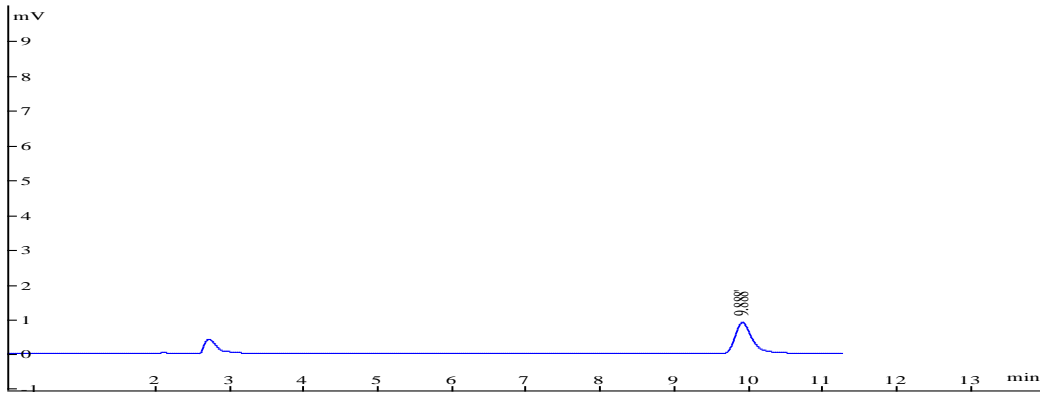
本方法在 $100\sim 400\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $70\%\sim 110\%$ 。

9.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 15\%$,批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附录 A

(资料性附录)



图A1 4,4'-二硝基均二苯胺标准液色谱图(200 µg/L)

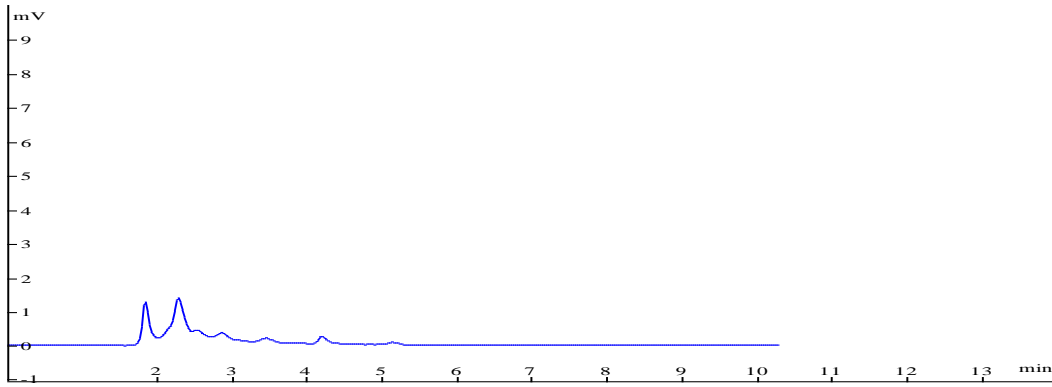


图 A2. 鸡肾脏组织空白试样色谱图

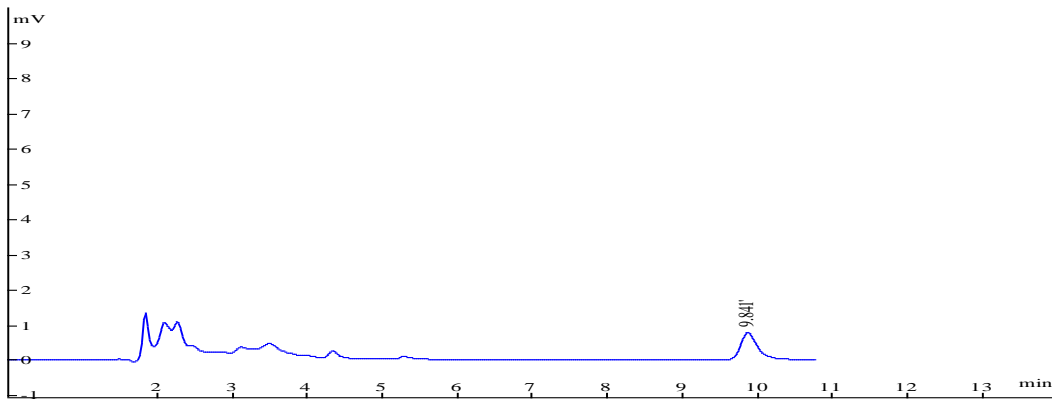


图 A3. 鸡肾脏组织空白添加 4,4'-二硝基均二苯胺试样色谱图 (200 µg/L)