

水产品中环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量的测定 高效液相色谱法 GB 31656.3—2025

1、适用范围

本文件规定了水产品中环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量检测的制样和高效液相色谱测定方法。(本实验样品采用虾)

本文件适用于鱼类肌肉和皮等可食组织，虾、蟹、贝类的可食组织中环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量的检测。其他水产品的检测可参照执行。

参考标准：《GB 31656.3—2025 水产品中环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量的测定 高效液相色谱法》

2、溶液的配制

- 1) 盐酸溶液：取盐酸 50 mL，加水稀释至 100 mL，混匀。
- 2) 磷酸溶液：取磷酸 1 mL，加水稀释至 10 mL，混匀。
- 3) 酸化乙腈溶液：取乙腈 250 mL，加盐酸溶液 2 mL，充分混匀。
- 4) 乙腈饱和正己烷溶液：取正己烷 200 mL 于 250 mL 分液漏斗中，加适量乙腈后，剧烈振摇，待分配平衡后，弃去乙腈层，即得。
- 5) 0.1 mol/L 盐酸溶液：取盐酸 9 mL，用水稀释至 1000 mL。
- 6) 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液：取氢氧化钠 4 g，用水溶解并稀释至 1000 mL。
- 7) 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲溶液：取二水合磷酸氢二钠 1.56 g，加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 79 mL 溶解，用水稀释至 200 mL。
- 8) 0.01 mol/L 四丁基溴化铵溶液(pH 3.0)：取四丁基溴化铵 3.22 g，加水 900 mL 使溶解，用磷酸溶液调节 pH 到 3.0，用水稀释至 1000 mL。
- 9) 洗脱液：取氨水 25 mL，用甲醇稀释至 100 mL。
- 10) 环丙沙星、恩诺沙星标准储备液(1000 µg/mL)：取环丙沙星、恩诺沙星各 1 mg，精密称定，用甲醇溶解并稀释定容至 1 mL 棕色容量瓶中，摇匀，即得。-18 °C 以下避光保存，有效期 6 个月。

11) 环丙沙星、恩诺沙星标准中间液(100 $\mu\text{g/mL}$): 取环丙沙星、恩诺沙星标准储备液(1000 $\mu\text{g/mL}$)0.1 mL, 用甲醇溶解并稀释定容至 1 mL 棕色容量瓶中, 摇匀, 即得。-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存, 有效期 6 个月。

12) 噁喹酸、氟甲喹标准储备液(1000 $\mu\text{g/mL}$): 取噁喹酸、氟甲喹各约 1 mg, 精密称定, 用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液使其溶解, 加乙腈稀释定容至 1 mL 棕色容量瓶中, 摇匀, 即得。-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存, 有效期 6 个月。

13) 噁喹酸、氟甲喹标准中间液(100 $\mu\text{g/mL}$): 取噁喹酸、氟甲喹标准储备液(1000 $\mu\text{g/mL}$)0.1 mL, 用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液使其溶解, 加乙腈稀释定容至 1 mL 棕色容量瓶中, 摇匀, 即得。-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存, 有效期 6 个月。

14) 混合标准工作液(5 $\mu\text{g/mL}$): 精密量取环丙沙星、恩诺沙星、噁喹酸、氟甲喹标准中间液(100 $\mu\text{g/mL}$)各 5 μL 于 1 mL 棕色容量瓶中, 用流动相 A 稀释至刻度, 摇匀, 配制成浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准工作液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存, 有效期, 1 个月。

3、提取步骤

称取虾试料(5 ± 0.05) g, 加酸化乙腈 20 mL、无水硫酸钠 10 g, 高速均质 1 min~2 min, 3000 r/min 离心 5min, 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, 取下层乙腈至梨形瓶, 40 $^{\circ}\text{C}$ 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, 3000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 备用。

4、净化

SPE: C18, 规格: 500 mg/3 mL

活化: 3 mL 甲醇、3 mL 水、3 mL 磷酸盐缓冲液

上样: 备用液, 弃去。

淋洗: 3 mL 水, 弃去, 抽干。

洗脱: 5 mL 洗脱液, 收集。

浓缩与复溶：收集的洗脱液于 50 °C 水浴下氮气吹干，加入流动相 A1.0 mL 使溶解，过 0.22 μm 微孔尼龙滤膜，高效液相色谱测定。

5、注意事项

加标水平：5 g 样中加入 20 μL 5 μg/mL 对照溶液，因此加标水平为 20 μg/kg，最终机度数为 100 ng/mL。

6、色谱条件

色谱柱：Ultimate Polar RP, 5 μm, 4.6×150 mm

流动相：A：0.01 mol/L 四丁基溴化铵溶液—乙腈(94：6)，B：乙腈；

柱温：35 °C；

流速：0.9 mL/min；

进样体积：10 μL；

梯度洗脱程序：见表 1

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0	100	0
14	100	0
15	60	40
24	60	40
25	100	0
30	100	0

检测波长程序：见表 2

表 2 检测波长程序

时间/min	激发波长/nm	发射波长/nm
0	280	480
18	325	365

7、色谱图或者加标回收率结果

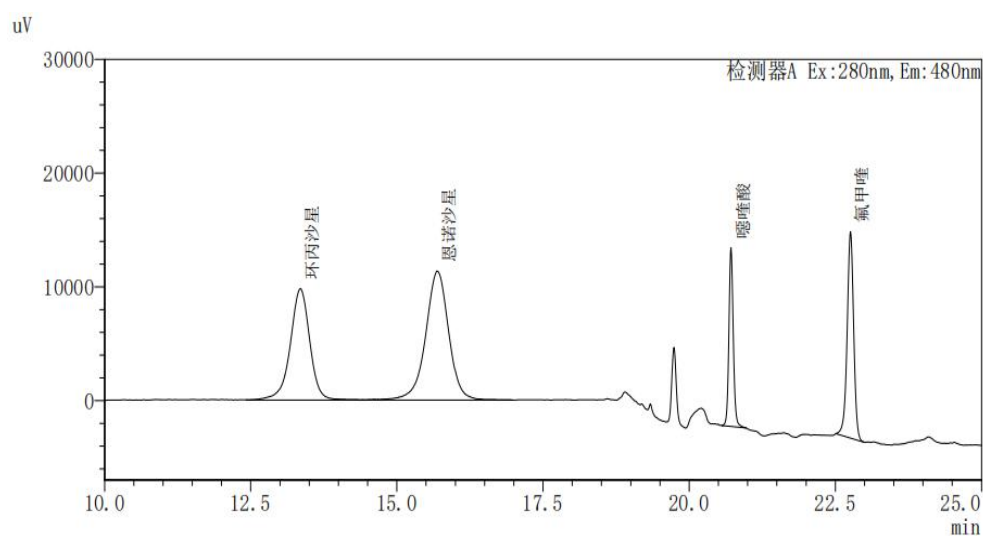


图 1. 对照溶液 100 ng/mL 图谱

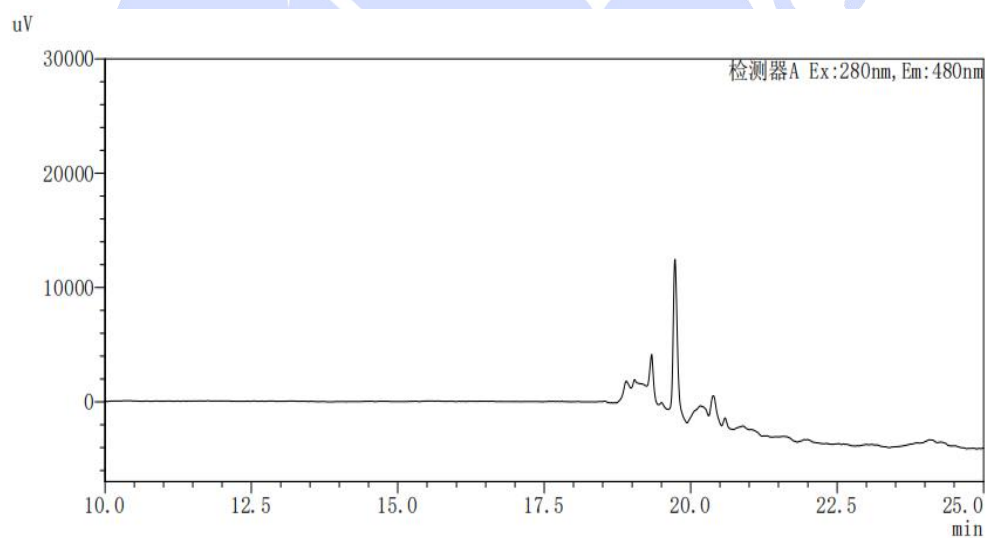


图 2 虾样品空白图谱

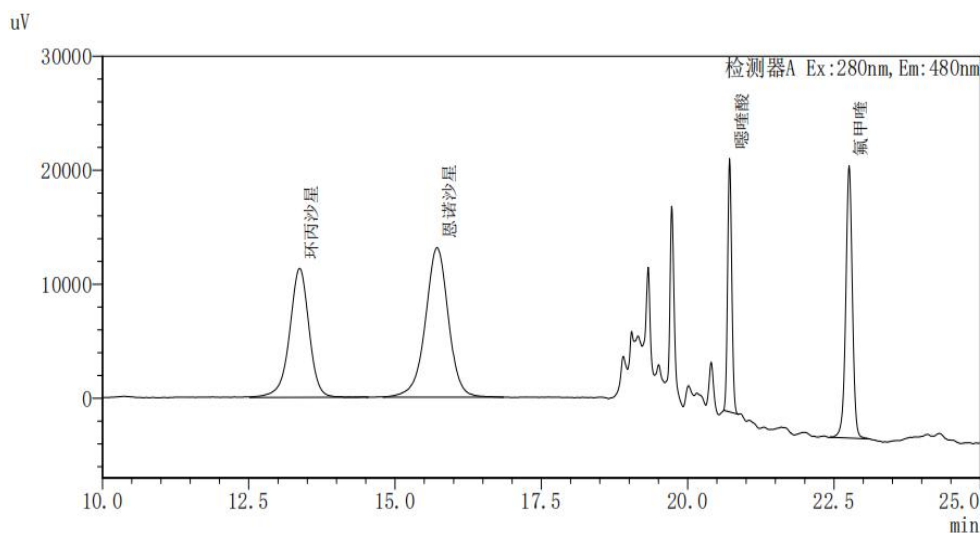


图 3 虾样品基质标 20 µg/kg 图谱

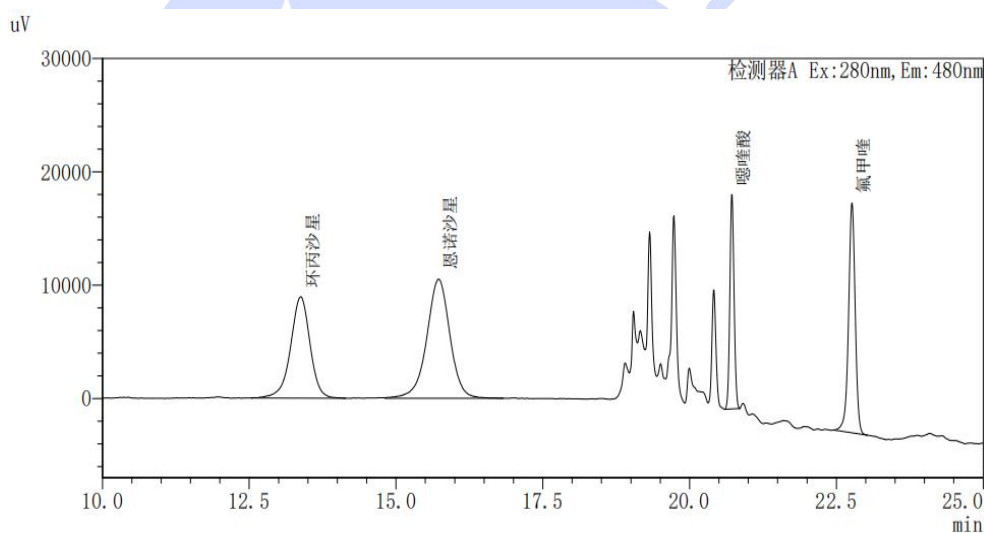


图 3 虾样品样加标 20 µg/kg 图谱

表 3. 加标回收率表（加标水平为 20 µg/kg）

基质	虾	
物质	平均回收率	RSD
环丙沙星	81.08%	3.77%
恩诺沙星	82.38%	5.37%
噁喹酸	87.43%	4.91%
氟甲喹	85.25%	1.13%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
DP1618-1	离心管	50mL 尖底离心管，配橙色实心盖，未灭菌，25 个/包
DP1639-1	离心管	15mL 尖底离心管，配橙色实心盖，未灭菌，25 个/包
00821-39191	盖子+垫片	白色特氟龙/红色硅胶隔垫，9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm，100/pk
00821-40927	样品瓶	2ml 透明短螺纹广口进样瓶 带书写处 9-425 11.6*32mm 新包装 一级水解玻璃，100/pk
00215-31041	分析柱	Ultimate Polar RP, 5 μ m, 4.6 $\times$ 150mm