

水产品中甲氧苄氨嘧啶残留量的测定 液相色谱法

Determination of trimethoprim residues in aquatic product-

Liquid chromatography

2006-11-27 发布

2006-12-27 实施

浙江省质量技术监督局 发布

前 言

本标准附录A为资料性附录。

本标准由浙江省海洋与渔业局提出并归口。

本标准起草单位：农业部渔业环境及水产品质量中心（舟山）。

本标准主要起草人：陈雪昌、郑斌、刘士忠。

水产品中甲氧苄氨嘧啶残留量的测定 液相色谱法

1 范围

本标准规定了水产品中甲氧苄氨嘧啶残留量的液相色谱测定方法。

本标准适用于水产品可食部分中甲氧苄氨嘧啶残留量的测定。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

样品用碱性二氯甲烷提取，正己烷脱脂，固相萃取小柱净化，反相色谱柱分离，紫外检测器检测，外标法定量。

4 试剂与材料

实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水标准。

4.1 甲氧苄氨嘧啶标准品：纯度 > 98%。

4.2 正己烷：分析纯。

4.3 二氯甲烷：分析纯。

4.4 三乙胺：分析纯。

4.5 碱性二氯甲烷：每 500mL 二氯甲烷加三乙胺 10mL。

4.6 甲醇：色谱纯。

4.7 乙酸：优级纯。

4.8 5%乙酸溶液。

4.9 1%乙酸溶液。

4.10 氨水：分析纯。

4.11 氨水甲醇溶液（5+95，V/V）。

4.10 无水硫酸钠：分析纯，650℃灼烧 4h，冷却后贮存于密封容器中备用。

4.11 阳离子固相萃取小柱(60mg/3mL)。

4.12 甲氧苄氨嘧啶标准储备液：100mg/L，准确称取 10mg 的标准品于 100mL 容量瓶中，用 1%乙酸溶液溶解并定容，配成标准储备液，浓度为 100 mg/L。避光 4℃冷藏保存，保存期为三个月。

4.13 甲氧苄氨嘧啶标准工作液：用流动相稀释成各质量浓度的标准溶液 0.10mg/L、0.50mg/L、1.0mg/L、2.0mg/L、5.00mg/L，现配现用。

5 仪器与设备

5.1 液相色谱仪：配紫外检测器。

5.2 组织捣碎机。

5.3 均质机。

5.4 超声波仪。

5.5 离心机：4000rpm。

5.6 旋转蒸发器。

5.7 固相萃取装置。

5.8 旋涡混匀器。

5.9 天平，感量 0.01g 和 0.0001g。

6 色谱条件

6.1 色谱柱：ODS C-18，5 μ m，250mm $\times$ 4.6mm 或同类型号色谱柱。

6.2 柱温：35℃。

6.3 流动相：甲醇+0.5%乙酸溶液=25+75（V/V）。

6.4 流速：0.8mL/min。

6.5 进样量：20 μ L。

6.6 检测器波长：275nm。

7 分析步骤

7.1 试样制备

鱼去鳞、去皮沿背脊取肌肉；虾去头、去壳、去附肢，取可食部分；蟹、中华鳖等取可食部分；样品经组织捣碎机捣碎，放置-18℃以下冷冻贮存备用。

7.2 提取

将样品自然解冻，称取样品 10g（称准至 0.01g），置于 100mL 聚丙烯离心管，加入无水硫酸钠约 10g，加入碱性二氯甲烷 20mL，超声波辅助提取 15min（每 5min 取出振摇几下），取出均质（10000r/min）2min，4000r/min 离心 5min，二氯甲烷层经过无水硫酸钠滤入 100mL 梨形瓶，加入 20mL 二氯甲烷于离心管中，重复提取 1 次，合并二氯甲烷于 100mL 梨形瓶。

7.3 净化

将提取液于 30℃减压旋转蒸发浓缩至近干。3mL 乙酸溶液（4.8）溶解残渣，移入 10mL 离心试管，加 3mL 正己烷涡旋振荡萃取脱脂，重复 2 次，下层通过（预先以 6mL 甲醇活化，6mL 乙酸溶液（4.8）平衡）MCX 固相萃取柱后上样。依次以 6mL 乙酸溶液（4.8），6mL 甲醇洗涤。最后以 15mL 氨水甲醇溶液（4.11）洗脱。洗脱液经 40℃减压旋转蒸发浓缩至近干，以 1.0mL 乙酸溶液（4.9）溶解残渣，流动相定容至 2.0mL，经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤，滤液备用。

7.4 工作曲线

取甲氧苄氨嘧啶标准储备液，用流动相稀释成浓度为 0.10mg/L、0.50mg/L、1.0mg/L、2.0mg/L、

5.00mg/L 的标准工作液。分别取 20μL 进样，以峰面积为纵坐标，以标准样品中甲氧苄氨嘧啶含量为横坐标，绘制工作曲线。

7.5 色谱测定

取试样滤液 20μL 进样，记录峰面积，从工作曲线查得样品提取液中甲氧苄氨嘧啶的含量。

8 计算

样品中甲氧苄氨嘧啶的含量按下式计算。

$$X = \frac{C \times V}{m}$$

式中：X——试样中甲氧苄氨嘧啶的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C——试样溶液中甲氧苄氨嘧啶的含量，单位为毫克每升（mg/L）；

m——试样质量，单位为克（g）；

V——试样溶液体积，单位为毫升（mL）。

9 方法准确度和精密度

本方法回收率为74.4%~97.0%。

本方法的相对标准偏差为<10%。

10 方法检出限

本方法检出限为 20μg/kg。

11 结果表述

检验结果保留 2 位有效数字。

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

附录 A
(资料性附录)
甲氧苄氨嘧啶色谱分析图

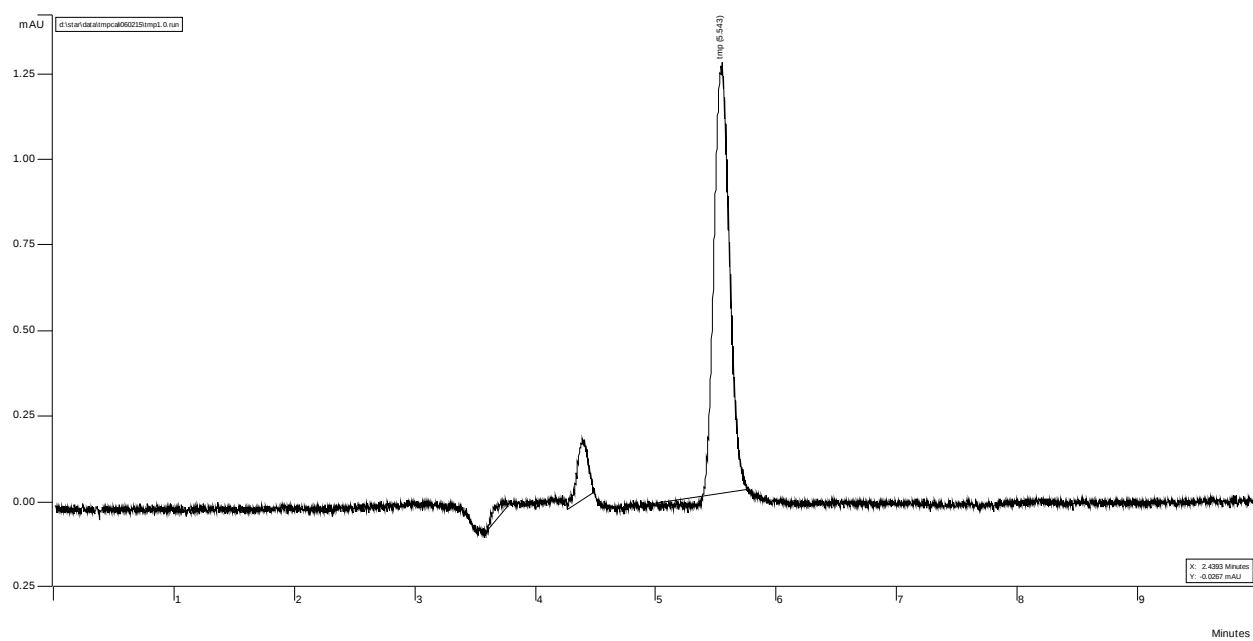


图 A. 1 甲氧苄氨嘧啶标准品色谱图