



中华人民共和国水产行业标准

SC/T 3018—2004

水产品中氯霉素残留量的测定 气相色谱法

Determination of chloramphenicol residues in fishery products
Gas chromatography

2004-01-07 发布

2004-03-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准起草单位：国家水产品质量监督检验中心。

本标准主要起草人：冷凯良、李兆新、李晓川、王联珠、翟毓秀、陈远惠。

水产品中氯霉素残留量的测定 气相色谱法

1 范围

本标准规定了水产品中氯霉素残留量的气相色谱测定方法。

本标准适用于水产品可食部分中氯霉素残留量的检测。

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

样品经乙酸乙酯提取并浓缩,提取物溶于水,用正己烷脱脂, C_{18} 固相萃取柱净化,硅烷化试剂衍生化后,用配有电子捕获检测器的气相色谱仪测定,外标法定量。

4 试剂

所有试剂在氯霉素出峰处应无干扰峰,最好选择优级纯或色谱纯试剂。

4.1 氯霉素标准品:纯度 $\geq 99\%$ 。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 乙酸乙酯:色谱纯。

4.4 正己烷:优级纯。

4.5 氯仿:分析纯。

4.6 乙腈:色谱纯。

4.7 无水硫酸钠:分析纯,650℃灼烧4 h,冷却后贮于密闭容器中备用。

4.8 氯化钠:分析纯。

4.9 4%氯化钠溶液:称取氯化钠20 g,加水溶解,稀释到500 mL。

4.10 氯霉素标准溶液:准确称取氯霉素标准品0.025 0 g,用甲醇溶解并定容至50 mL,配成浓度为500 $\mu\text{g/mL}$ 的标准贮备液,置4℃冰箱中保存,保存期不超过3个月。临用前,取此贮备液,用甲醇稀释成浓度为0.100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液。

注:通常的玻璃器皿洗涤程序对于从玻璃表面除去痕量氯霉素不总是很有效的,建议使用甲醇淋洗所有玻璃器皿,以避免污染问题。

4.11 衍生化试剂:N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)/三甲基氯硅烷(TMCS)体积比99:1。

4.12 水:实验用水应符合GB/T 6682中一级水标准。

5 仪器

实验室常规仪器、设备及下列各项。

5.1 气相色谱仪:配 ^{63}Ni 电子捕获检测器。

5.2 电子天平:感量0.000 1 g。

- 5.3 均质机。
- 5.4 离心机。
- 5.5 旋涡混合器。
- 5.6 电热恒温水浴锅。
- 5.7 旋转蒸发器。
- 5.8 鸡心瓶:50 mL、100 mL,细口。
- 5.9 玻璃离心管:50 mL。
- 5.10 刻度离心管:5 mL,具塞。
- 5.11 氮吹仪。
- 5.12 C₁₈固相萃取柱,填料 300 mg。
- 5.13 SPE 固相萃取装置。
- 5.14 无水硫酸钠柱:砂芯玻璃层析柱中装无水硫酸钠 5 g。

6 色谱条件

- 6.1 色谱柱:DB-5 石英毛细管柱,固定相:SE-54(聚甲基苯基乙烯基硅氧烷),30 m×0.53 mm×0.5 μm;或与之相当的色谱柱。
- 6.2 载气:氮气,线速度 29 cm/s。
- 6.3 进样口温度:260 ℃。
- 6.4 温度程序:初始柱温 150 ℃,维持 1 min,15 ℃/min 升至 260 ℃,维持 10 min 或直到氯霉素已经流出,然后设定 30 ℃/min 升至 280 ℃,维持 5 min,以确保所有的样品已经流出。
- 6.5 检测器温度:300 ℃。
- 6.6 进样方式及进样量:无分流方式进样,1 μL。
- 6.7 检测器:⁶³Ni 电子捕获检测器。

7 测定步骤

7.1 样品预处理

鱼去鳞、皮,沿背脊取肌肉;虾去头、壳、附肢,取可食肌肉部分;蟹、中华鳖等取可食肌肉部分;样品切为不大于 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的小块后混匀,放置冰箱中冷冻贮存备用。

7.2 提取

将样品解冻,称取样品 5 g(精确到 0.001 g),置于 50 mL 玻璃离心管中,加入乙酸乙酯 20 mL,均质机均质 1 min,分散均匀,提取氯霉素,4 000 r/min 离心 3 min,将乙酸乙酯层转移到 100 mL 细口鸡心瓶中。再向离心管中加乙酸乙酯 10 mL,用原均质机均质混合 1 min,4 000 r/min 离心 3 min,合并乙酸乙酯提取液于 100 mL 细口鸡心瓶中,于 40 ℃水浴中减压旋转蒸发至干。

注:均质机清洗方法,先用大量水浸洗,再用甲醇浸洗,最后用蒸馏水浸洗。

7.3 脱脂净化

向鸡心瓶中加入 1 mL 甲醇旋涡混合溶解残留物,再加入 15 mL 正己烷和 25 mL 4%氯化钠溶液,盖塞振荡混合 1 min,充分混合提取脂肪,转移到另一 50 mL 离心管中,4 000 r/min 的速度离心 2 min,除去上层正己烷相并弃去。再向水相中加 10 mL 正己烷,重复提取一遍,弃去正己烷相。

水相中加入 15 mL 乙酸乙酯,旋涡混合器混合 2 min,3 000 r/min 离心 3 min,吸取乙酸乙酯层,经过无水硫酸钠柱脱水过滤于 50 mL 鸡心瓶中。再向水相中加入 5 mL 乙酸乙酯,重复上述操作。用少量乙酸乙酯淋洗无水硫酸钠柱,合并提取液于 50 mL 鸡心瓶中,在 40 ℃水浴中减压旋转蒸发至干。对

于大部分样品,到此步骤净化效果已可达到要求,对于净化不完全的样品可经 C_{18} 固相萃取柱进一步净化。

加入 2 mL 乙酸乙酯溶解提取物并转移于 5 mL 具塞离心管中,用 1 mL 乙酸乙酯洗涤鸡心瓶,合并乙酸乙酯,于 50 ℃ ~ 55 ℃ 的砂浴中吹氮蒸发至近干,再用 1 mL 乙酸乙酯洗涤离心管壁并吹干。注意防潮。

7.4 C_{18} 柱净化

注意:以下步骤必须连续做完,切莫让吸附剂变干。

给每个样品准备一根 C_{18} 柱,顺序用 5 mL 甲醇、5 mL 氯仿、5 mL 甲醇和 5 mL 水淋洗活化 C_{18} 柱,弃掉洗涤液。用 5 mL 体积分数为 5% 的乙腈水溶液溶解 7.3 中在 40 ℃ 水浴中减压旋转蒸发至干的提取物,吸取水溶液装入 C_{18} 柱过柱,弃掉流出液。注意流速保持每秒一滴,否则净化效果和回收率都较差。用 1 mL 水淋洗鸡心瓶 2 遍,并将淋洗液加入 C_{18} 柱过柱,弃掉流出液。用 5 mL 水淋洗 C_{18} 柱,让洗涤液完全流出 C_{18} 柱,用微氮吹干。用乙腈将 C_{18} 柱中的氯霉素洗脱,洗脱 2 次,每次 1.5 mL,合并洗脱液于 5 mL 具塞离心管中。在温度 50 ℃ ~ 55 ℃ 的砂浴中,用氮气吹除乙腈至近干,再用 1 mL 乙腈洗涤离心管壁并用氮气吹干。注意防潮。

7.5 衍生化

7.5.1 试样的衍生化

向干的残留物中加 100 μ L 衍生化试剂,盖塞并旋涡混合 10 s,在 70 ℃ 烘箱中反应 30 min。再在 50 ℃ ~ 55 ℃ 砂浴中,用氮气流吹除多余的试剂,至样品管刚好吹干为止(注意:此步过长的吹干时间可导致丢失分析物)。加入 0.5 mL 正己烷,旋涡混合 10 s,供气相色谱分析用。

7.5.2 标准工作液的衍生化

取适量标准工作液于 5 mL 具塞离心管中,在温度 50 ℃ ~ 55 ℃ 的砂浴中,用氮气吹除溶剂至干。以下按 7.5.1 的步骤操作。

7.6 样品测定

分别注入 1 μ L 适当浓度的氯霉素标准硅烷化衍生物溶液及样品提取物硅烷化衍生物溶液于气相色谱仪中,按上述色谱条件进行色谱分析,记录峰面积,响应值均应在仪器检测的线性范围之内。根据标准样品的保留时间定性,外标法定量。

7.7 计算

样品中氯霉素的含量按公式(1)计算。

$$X = \frac{A \times C_s \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——样品中氯霉素含量,单位为微克每千克(μ g/kg);

C_s ——标准衍生物溶液相当氯霉素含量,单位为纳克每毫升(ng/mL);

A ——试样液中氯霉素衍生物的峰面积或峰高,单位为微伏秒或毫米(μ V·s 或 mm);

V ——样品提取物衍生化溶液体积,单位为毫升(mL);

A_s ——氯霉素标准衍生物的峰面积或峰高,单位为微伏秒或毫米(μ V·s 或 mm);

m ——样品质量,单位为克(g)。

注:计算结果需扣除空白值。

8 方法回收率

标准添加浓度为 0.1 μ g/kg ~ 20.0 μ g/kg 时,回收率 $\geq 70\%$ 。

9 方法检测限

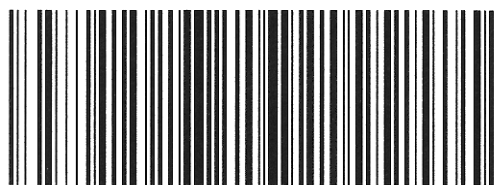
本方法检测限: $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10 允许差

两次平行测定结果相对偏差 $\leq 15\%$ 。

11 方法的线性范围

本方法的线性范围:标准衍生物溶液相当氯霉素浓度为 $0.5 \text{ ng/mL} \sim 250 \text{ ng/mL}$ 。



SC/T 3018-2004

书号: 16109 · 305

定价: 6.00 元

* * *

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 65005894