

中华人民共和国国家标准

农业部 1077 号公告 — 3 — 2008

水产品中链霉素残留量的测定 高效液相色谱法

**Determination of streptomycin residues in fish and fishery products
by high performance liquid chromatography**

2008-08-11 发布

2008-08-11 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会归口。

本标准起草单位：中国海洋大学。

本标准主要起草人：林洪、江洁、王立、徐杰、王静雪。

水产品中链霉素残留量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了水产品中链霉素残留量的高效液相色谱荧光测定方法。
本标准适用于水产品中链霉素残留量的测定。

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

SC/T 3016 水产品抽样方法

3 原理

以三氯乙酸提取样品中的链霉素,经过 C_{18} 固相萃取柱净化,在碱性条件下柱后衍生,高效液相色谱荧光检测器测定,外标法定量。

4 试剂

所有试剂在给定的色谱条件下应无干扰峰,除标明纯度外,均为分析纯。

4.1 试验用水应符合 GB/T 6682 一级水的要求。

4.2 链霉素标准品:硫酸链霉素,纯度 $\geq 98\%$ 。

4.3 甲醇:色谱纯。

4.4 叔丁基甲醚:色谱纯。

4.5 正己烷:色谱纯。

4.6 庚烷磺酸钠:色谱纯。

4.7 萘醌磺酸钠:1,2-萘醌-4-磺酸钠,色谱纯。

4.8 乙腈:色谱纯。

4.9 三氯乙酸:分析纯。

4.10 氢氧化钠:优级纯。

4.11 10%三氯乙酸溶液:称取三氯乙酸 27.7 g,用 250 mL 水溶解。

4.12 0.5 mol/L 庚烷磺酸钠溶液:准确称取 5.05 g 庚烷磺酸钠,用水溶解,定容至 50 mL。

4.13 叔丁基甲醚-正己烷溶液:叔丁基甲醚+正己烷(4+1)。

4.14 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液:称取 8.00 g NaOH,用 1 000 mL 水溶解,使用前过 0.45 μm 微孔滤膜过滤并脱气。

4.15 乙腈溶液:乙腈+水(3+7)。

4.16 庚烷磺酸钠-萘醌磺酸钠溶液:准确称取 1.10 g 庚烷磺酸钠、0.052 g 萘醌磺酸钠,用乙腈溶液(4.15)溶解,定容至 500 mL,用乙酸调节至 pH3.3(± 0.1),避光。

农业部 1077 号公告—3—2008

- 4.17 0.01 mol/L 庚烷磺酸钠溶液:准确称取 1.10 g 庚烷磺酸钠,用乙腈溶液(4.15)溶解,定容至 500 mL,用乙酸调节至 pH3.3(± 0.1)。
- 4.18 链霉素标准储备液:准确称取链霉素标准品 0.100 g,用水溶解定容至 100 mL,配制成 1 mg/mL 的储备液, -4°C 密封避光存放,存放时间不超过 15 天。
- 4.19 链霉素标准工作液:使用前将链霉素标准储备液用庚烷磺酸钠溶液(4.17)稀释成一系列标准工作液,现用现配。

5 仪器

- 5.1 高效液相色谱仪:配荧光检测器。
- 5.2 柱后衍生仪:PCX5200,Pickerling;或性能相当者。
- 5.3 固相萃取仪。
- 5.4 分析天平:感量 0.000 1 g。
- 5.5 天平:感量 0.01 g。
- 5.6 离心机:最大转速 5 000 r/min。
- 5.7 均质机。
- 5.8 旋转蒸发器。
- 5.9 容量瓶:5 mL,25 mL。
- 5.10 鸡心瓶:50 mL。
- 5.11 离心管:50 mL。
- 5.12 C_{18} 固相萃取柱:500 mg,3 mL,AccuBOND C_{18} ,Agilent;或性能相当者。

注:提及公司的信息及标识,除非做了说明,并不意味着推荐使用该公司的产品。

6 色谱条件

- 6.1 色谱柱:Hypersil C_{18} 柱,150 mm $\times$ 4.6 mm,5 μm ,或性能相当者。
- 6.2 色谱柱温度: 45°C 。
- 6.3 流动相:庚烷磺酸钠-萘醌磺酸钠溶液(4.16)。
- 6.4 流动相流速:0.8 mL/min。
- 6.5 进样量:50 μL 。
- 6.6 检测波长:激发波长 263 nm,发射波长 438 nm。
- 6.7 衍生试剂:0.2 mol/L NaOH(4.14)。
- 6.8 反应温度: 50°C 。
- 6.9 衍生试剂流速:0.3 mL/min。
- 6.10 反应管:10 m $\times$ 2.8 mm。

7 操作方法

7.1 试样制备

按照 SC/T 3016 的要求制备试样。

7.2 提取

称取试样(5 ± 0.02 g)于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 三氯乙酸溶液,10 000 r/min 均质 1 min,振荡 5 min,4 500 r/min 离心 15 min,上清液转移至烧杯中,残渣用 10 mL 三氯乙酸溶液同上述方法再提取一

次,所得上清液合并过滤,收集到 25 mL 容量瓶中,加入 2 mL 庚烷磺酸钠溶液(4.12),用水定容至 25 mL,摇匀。

7.3 固相萃取净化

依次用 5 mL 甲醇和 10 mL 水预洗 C₁₈ 固相萃取柱。将 7.2 步骤的提取液以约 1.5 mL/min 流速通过固相萃取柱。依次用 10 mL 水和 4 mL 叔丁基甲醚-正己烷溶液洗柱,弃去洗出液。用 5 mL 甲醇以约 1.5 mL/min 流速进行洗脱,收集洗脱液于鸡心瓶中,加入 2 mL 水,45℃减压浓缩至液体剩余 1 mL~2 mL,转移至 5 mL 容量瓶,用 2 mL 庚烷磺酸钠溶液(4.17)洗瓶,合并于容量瓶,用庚烷磺酸钠溶液(4.17)定容至 5 mL,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,待上机分析。

注:固相萃取柱的预处理和净化过程保持柱子湿润。

7.4 标准工作曲线的制作

准确取标准储备液(4.18),用庚烷磺酸钠溶液(4.17)稀释成浓度为 0.1 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、2.5 μg/mL、5.0 μg/mL 系列标准工作液,供高效液相色谱仪分析。

7.5 色谱分析

分别注入 50 μL 标准工作液和试样提取液于高效液相色谱仪中,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。在 6 规定的条件下,链霉素保留时间约为 6.4 min。根据标准品的保留时间定性,外标法定量。色谱图参见附录 A。

7.6 空白试验

除不加试样外,均按上述测定条件和步骤进行。

8 计算

试样中链霉素的含量按公式(1)计算。计算结果需扣除空白值,结果保留三位有效数字。

$$X = \frac{A \times C_s \times V \times 1\,000}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中链霉素含量,单位为微克每千克(μg/kg);
- C_s —— 标准溶液中链霉素含量,单位为微克每毫升(μg/mL);
- A —— 试样液中链霉素的峰面积;
- V —— 试样提取液最终定容体积,单位为毫升(mL);
- A_s —— 标准溶液中链霉素的峰面积;
- m —— 试样质量,单位为克(g)。

9 方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法最低定量限 100 μg/kg,最低检出限 20 μg/kg。

9.2 准确度

本方法加标浓度为 100 μg/kg~5 000 μg/kg 时,回收率为 70%~120%。

9.3 精密度

本方法批内和批间相对标准偏差≤15%。

附录 A
(资料性附录)
链霉素液相色谱图

A.1 链霉素标准品液相色谱图

1.0 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素标准品液相色谱图见图 A.1。

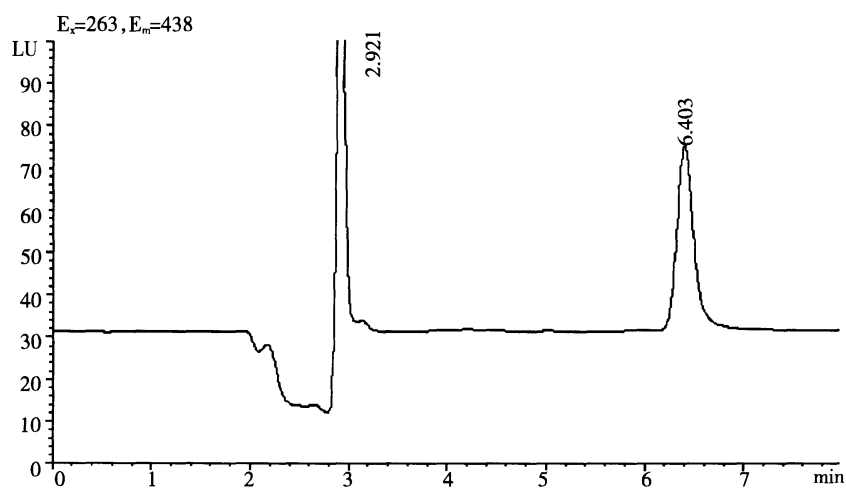


图 A.1 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素标准品液相色谱图

A.2 空白鲫鱼试样液相色谱图

空白鲫鱼试样液相色谱图见图 A.2。

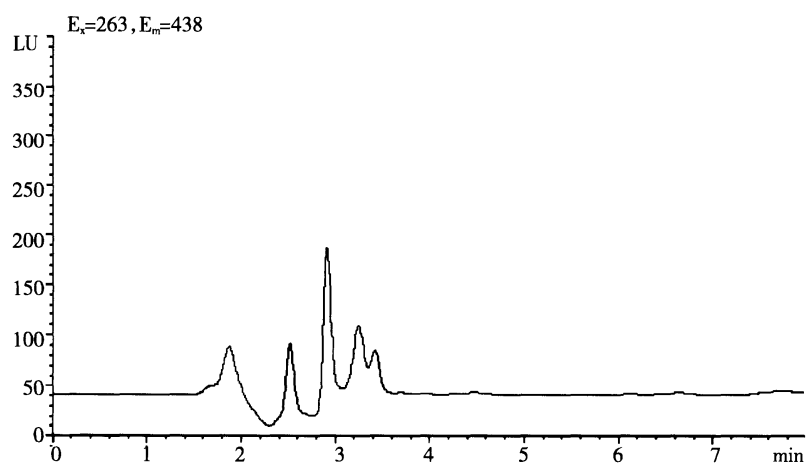


图 A.2 空白鲫鱼试样液相色谱图

A.3 链霉素加标鲫鱼试样液相色谱图

链霉素加标鲫鱼试样液相色谱图见图 A. 3。

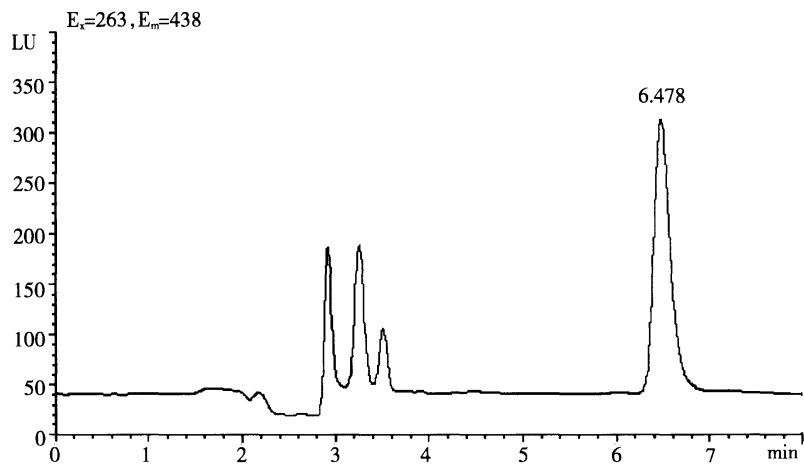


图 A. 3 5.0 $\mu\text{g/kg}$ 链霉素加标鲫鱼试样液相色谱图

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
水产品中链霉素残留量的测定
高效液相色谱法

农业部 1077 号公告—3—2008

* * *

中 国 农 业 出 版 社 出 版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)
(邮政编码: 100125 网址: www.ccap.com.cn)
北京昌平环球印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

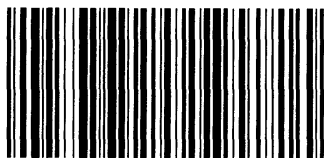
* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.75 字数 7 千字

2008 年 8 月第 1 版 2008 年 8 月北京第 1 次印刷

书号: 16109·1798

定价: 18.00 元



农业部1077号公告—3—2008

版权专有 侵权必究
举报电话: (010) 65005894