



中华人民共和国水产行业标准

SC/T 3015—2002

水产品中土霉素、四环素、金霉素 残留量的测定

Determination of oxytetracycline, tetracycline
and chlortetracycline residues in fish

2002-11-05 发布

2002-12-20 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由农业部渔业局提出。

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：国家水产品质量监督检验中心。

本标准主要起草人：李兆新、李晓川、王联珠、陈远惠、翟毓秀。

水产品中土霉素、四环素、金霉素 残留量的测定

1 范围

本标准规定了水产品中土霉素、四环素、金霉素残留量的测定方法,规定了最低检出浓度。
本标准适用于水产品可食部分中土霉素、四环素、金霉素残留量的测定。

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

3 原理

样品经高氯酸提取,固相萃取,纯化、浓缩,微孔滤膜过滤后,直接进样,用反相色谱分离,紫外检测器检测,外标法定量。出峰顺序为土霉素、四环素、金霉素。

4 试剂

4.1 乙腈:色谱级。

4.2 0.01 mol/L 磷酸二氢钠溶液:称取 1.56 g(称准至 0.01 g)分析纯磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)溶于蒸馏水中,定容至 1 000 mL,以磷酸调 pH 至 2.5,经微孔滤膜(0.45 μm)过滤后备用。

4.3 土霉素、四环素、金霉素混合标准溶液:称取土霉素 0.01 g(称准至 0.000 1 g)、四环素 0.01 g(称准至 0.000 1 g)、金霉素 0.02 g(称准至 0.000 1 g),溶于 0.01 mol/L 磷酸二氢钠溶液中,定容至 100.0 mL,此溶液每毫升含土霉素 100 μg 、四环素 100 μg 、金霉素 200 μg 。

以上标准品均按 1 000 IU/mg 计算,本溶液于 0℃~4℃时保存,可使用一周。

4.4 土霉素、四环素、金霉素混合标准使用溶液:移取 4.3 中的混合标准溶液 10.0 mL,定容至 100.0 mL,得土霉素、四环素浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$,金霉素浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准溶液。

以上述混合标准溶液配制土霉素、四环素标准使用浓度系列:0.05、0.10、0.20、0.25、0.50、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$;以上述混合标准溶液配制金霉素标准使用浓度系列:0.10、0.20、0.40、0.50、1.0、2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。此标准使用液使用时现配。

4.5 0.5%或 1%高氯酸溶液。

4.6 甲醇:分析纯。

4.7 5%乙二胺四乙酸二钠溶液:取 5 g 分析纯乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)溶解定容至 100 mL。

4.8 水:实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水标准。

4.9 正己烷:分析纯。

4.10 氮气:纯度大于 99%。

5 仪器

5.1 高效液相色谱仪:具紫外检测器。

- 5.2 分析天平:感量为 0.000 1 g。
- 5.3 均质器。
- 5.4 预处理柱:ODS-C₁₈。
- 5.5 离心机:4 000 r/min。
- 5.6 负压抽滤器。

6 色谱条件

- 6.1 色谱柱:ODS-C₁₈。
- 6.2 检测器:紫外检测器,检测波长为 355 nm。
- 6.3 灵敏度:0.002AUFS。
- 6.4 柱温:37℃。
- 6.5 流速:1.0 mL/min。
- 6.6 进样量:30 μL。
- 6.7 流动相:乙腈和 0.01 mol/L 磷酸二氢钠溶液的体积比为 26 : 74。

7 操作方法

7.1 工作曲线

在上述工作条件下,分别取标准使用溶液各 30 μL 进样,以峰面积为纵坐标,以标准样品含量为横坐标,绘制工作曲线。

7.2 样品测定

7.2.1 样品处理

鱼去鳞、去皮沿背脊取肌肉;虾去头、去壳取可食肌肉部分;蟹、甲鱼等取可食部分;样品切为不大于 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的小块后混匀。

7.2.2 样品提取

称取 5.000 g±0.001 g 样品,置于 50 mL 离心管中,加入 0.5%高氯酸溶液 10 mL(水溶性蛋白含量高的样品,用 1%高氯酸溶液),用均质器均质 30 s,于振荡器上振荡提取 3 min,以 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液于 50 mL 试管中,向离心管中的残渣再加入 0.5%高氯酸溶液 5 mL,重复操作一次,合并上清液。加入 1 mL 正己烷,振荡 1 min 后,离心,除去正己烷相;再加入 1 mL 正己烷,振荡 1 min 后,离心,除去正己烷相。水相用 ODS-C₁₈柱(预先用 5 mL 甲醇、2 mL 5%乙二胺四乙酸二钠溶液、5 mL 实验用水洗过)预处理,用 10 mL 蒸馏水洗去杂质,以 5 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液,40℃水浴中氮气吹干,以甲醇定容至 1.0 mL,以 0.45 μm 滤膜过滤。滤液备用。

7.2.3 样品测定

取样品滤液 30 μL 进样,记录峰面积,从工作曲线查得样品滤液中土霉素、四环素、金霉素的含量。

7.3 计算

样品中土霉素、四环素、金霉素的含量按式(1)计算。

$$X = c \times V/m \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X——样品中抗生素含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- c——样品溶液中抗生素含量,单位为微克每毫升(μg/mL);
- m——样品质量,单位为克(g);
- V——样品溶液体积,单位为毫升(mL)。

8 方法回收率

本方法的回收率 $\geq 70\%$ 。

9 方法检测限

本方法检测限:土霉素 ≤ 0.05 mg/kg,四环素 ≤ 0.05 mg/kg,金霉素 ≤ 0.1 mg/kg。

10 方法批间变异系数

本方法批间变异系数 $\leq 15\%$ 。
