

中华人民共和国国家标准

农业部 1077 号公告—5—2008

水产品中喹乙醇代谢物残留量的测定 高效液相色谱法

Determination of olaquinox metabolite residues in 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：农业部渔业环境及水产品质量监督检验测试中心（舟山）、舟山市越洋食品有限公司。

本标准主要起草人：郑斌、虞岚、陈雪昌、张小军、陈伟斌、朱婧睿、梅光明、蔡水根。

水产品中喹乙醇代谢物残留量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了水产品中喹乙醇代谢物 3-甲基喹噁啉-2-羧酸(MQCA)残留量的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于水产品中喹乙醇代谢物 3-甲基喹噁啉-2-羧酸残留量的测定。

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

以乙酸乙酯提取样品中残留的喹乙醇代谢物 3-甲基喹噁啉-2-羧酸,用 pH8 的磷酸盐缓冲液萃取,萃取液用盐酸调至酸性,再用乙酸乙酯进行反萃取,萃取液浓缩至干后,残渣用流动相溶解,反相色谱柱分离,紫外检测器检测,外标法定量。

4 试剂和材料

除有特殊说明外,所用试剂均为分析纯。

4.1 试验用水应符合 GB/T 6682 一级水的要求。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 乙酸乙酯:色谱纯。

4.4 盐酸。

4.5 甲酸。

4.6 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液:称取 12.0 g 磷酸二氢钠和 14.2 g 磷酸氢二钠,加水溶解,用 1 mol/L 氢氧化钠调 pH 至 8.0,加水定容至 1 000 mL。

4.7 1.0%甲酸水溶液:量取 10 mL 甲酸并加水定容至 1 000 mL。

4.8 3-甲基喹噁啉-2-羧酸标准品:纯度>98%。

4.9 MQCA 标准储备液:准确称取 10 mg 的标准品,用甲醇溶解并定容至 100 mL 棕色容量瓶中,配成标准储备液,浓度为 100 mg/L。避光冷藏保存,保存期为 3 个月。

4.10 MQCA 标准工作液:用流动相稀释成各质量浓度的标准溶液,现配现用。

5 仪器

5.1 高效液相色谱仪:配紫外检测器。

5.2 天平:感量 0.01 g。

5.3 分析天平:感量 0.000 01 g。

5.4 旋涡混合器。

- 5.5 离心机:最大转速 14 000 r/min。
- 5.6 氮吹仪。
- 5.7 高速组织捣碎机。
- 5.8 分液漏斗:150 mL。

6 操作方法

6.1 样品处理

6.1.1 试样制备

按 SC/T 3016 的规定执行。

6.1.2 提取

称取(5±0.02)g 样品置于 50 mL 离心管中,加入 15 mL 乙酸乙酯,匀浆 5 min,盖塞,旋涡混匀,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液转入 150 mL 分液漏斗中。再用 15 mL 乙酸乙酯重复提取一次,合并提取液于同一分液漏斗中。

往样品残渣中加入 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 10 mL,旋涡混匀,振荡 30 s,8 000 r/min 离心 10 min,取上清液合并到分液漏斗中。手摇振荡分液漏斗 30 s,静置分层,收集下层溶液至 25 mL 具塞离心管中。

加入盐酸 200 μL,混匀,再加入乙酸乙酯 6 mL,旋涡混匀,振荡 30 s,8 000 r/min 离心 10 min,上层溶液转入玻璃试管中,再用 6 mL 乙酸乙酯重复提取一次,合并上层溶液于同一玻璃试管,55℃ 氮气流下吹干,用 1 mL 流动相溶解残渣,旋涡混匀,0.45 μm 微孔滤膜过滤,待测。

6.2 样品测定

6.2.1 色谱条件

- a) 色谱柱:ZORBAXSB-C18 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);或性能相当者。
- b) 流动相:甲醇+1.0%甲酸水溶液(40+60)。
- c) 流速:1.0 mL/min。
- d) 柱温:30℃。
- e) 进样量:50 μL。
- f) 检测波长:320 nm。

6.2.2 标准工作曲线的制作

准确取 MQCA 标准储备液,用流动相稀释成为 0.005 μg/mL、0.01 μg/mL、0.05 μg/mL、0.25 μg/mL、0.50 μg/mL、1.0 μg/mL 系列标准工作液,供高效液相色谱分析。

6.2.3 色谱分析

根据样品液中 MQCA 残留量情况,选定峰面积相近的标准工作溶液进行定量。分别注入 50 μL MQCA 标准工作溶液及样品溶液于液相色谱仪中,按上述色谱条件进行分析,记录峰面积,响应值均应在仪器检测的线性范围之内。根据 MQCA 标准品的保留时间定性,外标法定量。色谱图参见附录 A。

7 空白试验

除不加试样外,均按上述测定步骤进行。

8 结果计算

样品中 MQCA 的残留量按公式(1)计算,计算结果需扣除空白值。结果保留 3 位有效数字。

$$X = \frac{C \times V}{m} \times 1000 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——试样中 MQCA 的含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

C ——试样溶液中 MQCA 的含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

m ——试样质量,单位为克(g);

V ——试样溶液体积,单位为毫升(mL)。

9 方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法最低定量限为 $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法添加浓度为 $4.0 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 200 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时,加标回收率为 $70\% \sim 120\%$ 。

9.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 15\%$,批间相对标准偏差 $\leq 15\%$ 。

附录 A
(资料性附录)
色谱图

A.1 MQCA 标准品的液相色谱图

0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MQCA 标准品的液相色谱图见图 A.1。

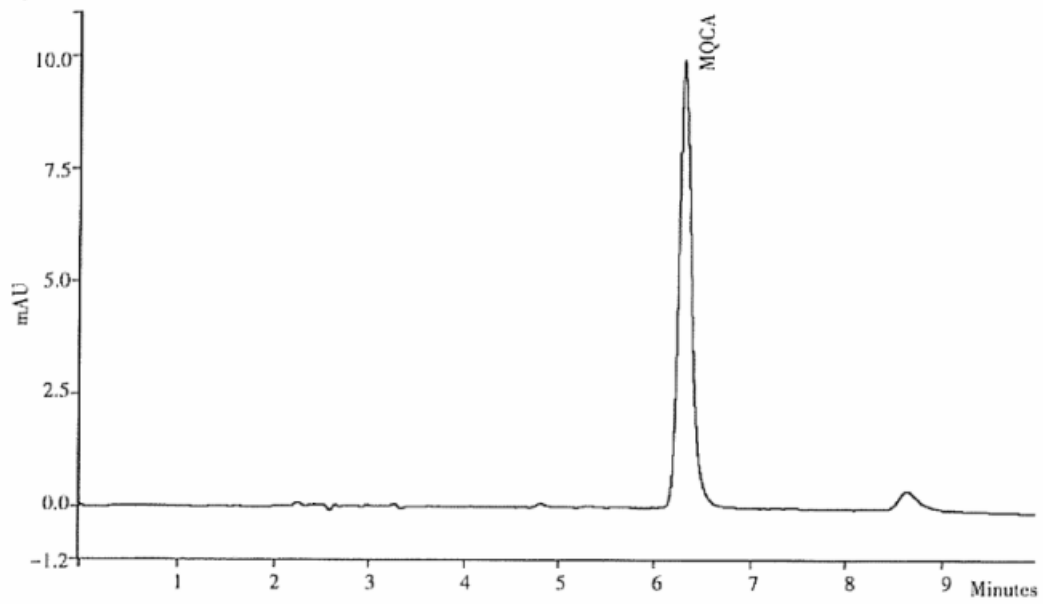


图 A.1 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MQCA 标准品的液相色谱图

A.2 空白草鱼样品的液相色谱图

空白草鱼样品的液相色谱图见图 A.2。

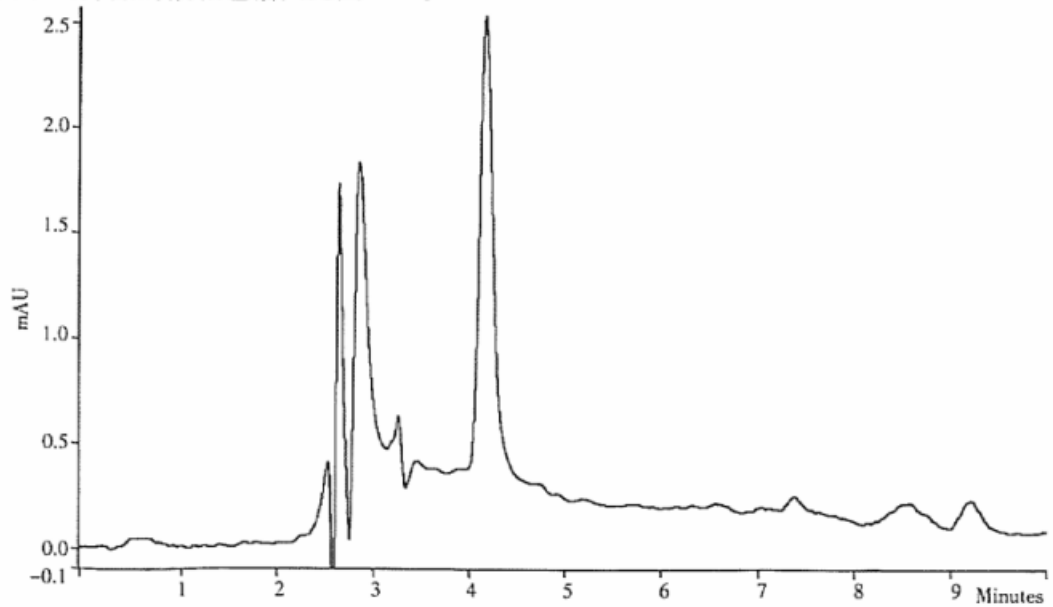


图 A.2 空白草鱼样品的液相色谱图

A.3 加标草鱼样品的液相色谱图

10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标草鱼样品的液相色谱图见图 A.3。

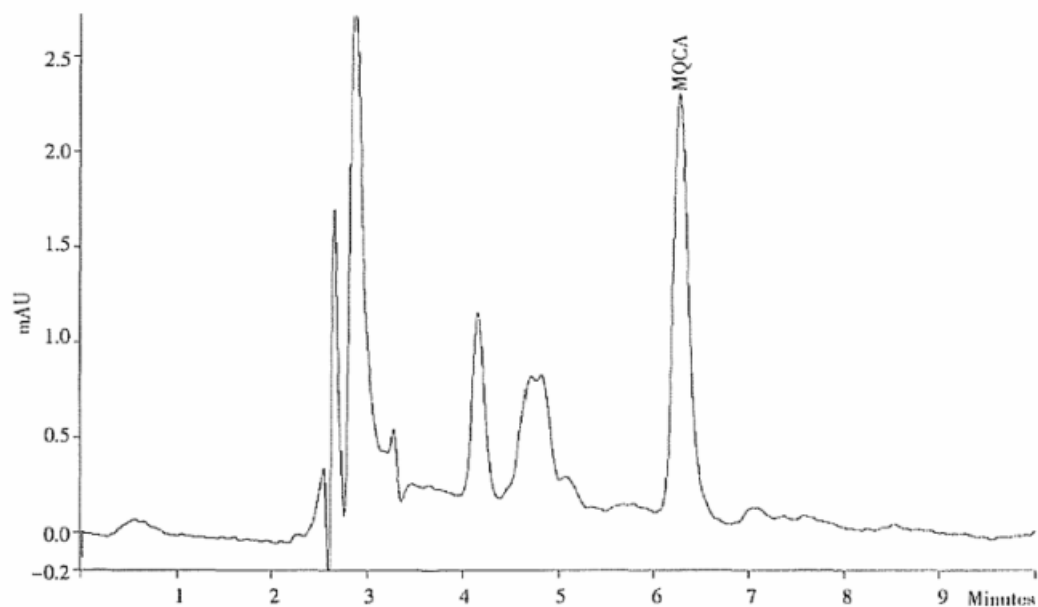


图 A.3 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标草鱼样品的液相色谱图