



中华人民共和国国家标准

GB 29702—2013

食品安全国家标准 水产品中甲氧苄啶残留量的测定 高效液相色谱法

Determination of Trimethoprim residues in aquatic products
by High Performance Liquid Chromatographic method

(电子版仅供参考，以标准正式出版物为准)

2013-09-16 发布

2014-01-01 实施

中华人民共和国农业部 发布
中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会

目 次

目 次	I
前 言	II
水产品中甲氧苄啶残留量的测定 高效液相色谱法	1
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 原理.....	1
4 试剂和材料.....	1
5 仪器	2
6 试料的制备与保存	3
6.1 试料的制备.....	3
6.2 试料的保存.....	3
7 测定步骤	3
7.1 提取.....	3
7.2 净化.....	3
7.3 标准曲线的制备.....	3
7.4 测定.....	4
7.5 空白试验.....	4
8 结果计算	4
9 方法灵敏度、准确度和精确度.....	5
9.1 灵敏度.....	5
9.2 准确度.....	5
9.3 方法精密度.....	5
附录 A.....	6

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准系国内首次发布的国家标准。

水产品中甲氧苄啶残留量的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了水产品中甲氧苄啶残留量的制样和高效液相色谱测定方法。

本标准适用于鱼（包括鳊鲌）、虾、蟹和龟鳖可食组织中甲氧苄啶残留量的检测。

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 1.1-2000 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则

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

试样中残留的甲氧苄啶，用三氯甲烷和酸性甲醇溶液提取，二氯甲烷反萃取，MCX固相萃取柱净化，高效液相色谱-紫外测定，外标法定量。

4 试剂和材料

以下所用的试剂，除特别注明外均为分析纯试剂；水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲氧苄啶标准品：含量 $\geq 98\%$ 。

4.2 三氯甲烷：色谱纯。

4.3 甲醇：色谱纯。

4.4 高氯酸：优级纯。

4.5 硫酸：优级纯。

4.6 二氯甲烷：色谱纯。

4.7 氢氧化钠：优级纯。

4.8 乙酸：优级纯。

4.9 氨水

4.10 MCX阳离子固相萃取柱：60 mg/3 mL，或相当者。

4.11 0.5 %高氯酸溶液：取高氯酸 5 mL，用水溶解并稀释至 1 000 mL。

4.12 0.1 mol/L硫酸溶液：取硫酸5.4 mL，用水溶解并稀释至1 000 mL。

4.13 2 mol/L氢氧化钾：取氢氧化钾112.2 g，用水溶解并稀释至1 000 mL。

4.14 5 %乙酸溶液：取乙酸 50 mL，用水溶解并稀释至 1 000 mL。

4.15 5 %氨水甲醇溶液：取氨水 5 ml，用甲醇溶解并稀释 100 mL。

4.16 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 甲氧苄啶标准贮备液：精密称取甲氧苄啶标准品10 mg，于100 mL量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甲氧苄啶标准贮备液。-4 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期3个月。

4.17 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 甲氧苄啶标准工作液：精密量取甲氧苄啶标准贮备液1.0 mL，于10 mL量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甲氧苄啶标准工作液。-4 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期3个月。

5 仪器

5.1 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

5.2 分析天平：感量 0.000 01 g。

5.3 天平：感量 0.01 g。

5.4 均质机

5.5 旋涡混合器

5.6 离心机

5.7 旋转蒸发器

5.8 固相萃取装置

5.9 茄形瓶

5.10 具塞离心管：50 mL。

5.11 分液漏斗：150 mL。

5.12 滤膜：0.45 μm 。

6 试料的制备与保存

6.1 试料的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织，绞碎，并使均质。

——取均质后的供试样品，作为供试试料。

——取均质后的空白样品，作为空白试料。

——取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试料。

6.2 试料的保存

-18 °C 以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试料 (5 ± 0.05) g，于50 mL具塞离心管中，加三氯甲烷15 mL、甲醇14 mL、0.1 mol/L硫酸溶液6 mL，旋涡混合2 min，4 000 r/min 离心3 min，取上清液于150 mL分液漏斗中。残渣中加甲醇14 mL和0.1 mol/L硫酸溶液6 mL，重复提取一次，合并两次上清液于分液漏斗中，加2 mol/L氢氧化钾溶液2 mL、二氯甲烷30 mL，振摇2 min，静置分层，取下层液于茄形瓶中，分液漏斗中加二氯甲烷30 mL重复提取一次，合并两次下层液，于40°C旋转蒸发至近干，用5%乙酸溶液6 mL溶解残余物，备用。

7.2 净化

MCX阳离子交换柱依次用甲醇6 mL和5%乙酸溶液6 mL活化，取备用液过柱，用5%乙酸溶液6 mL和甲醇6 mL淋洗，用氨水甲醇溶液15 mL洗脱，于40°C旋转蒸发至近干，用流动相1.0 mL溶解残余物，滤膜过滤，供高效液相色谱测定。

7.3 标准曲线的制备

精密量取甲氧苄啶标准工作液适量，用流动相稀释，配制成浓度为 50、200、500、1 000、2 000、5 000 $\mu\text{g/L}$ 系列标准溶液，供高效液相色谱测定。以测得峰面积为纵坐标，对应的标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线。求回归方程和相关系数。

7.4 测定

7.4.1 色谱条件

色谱柱： ZORBAX-C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm，粒径 5 μm），或相当者。

流动相： 甲醇+0.5 %高氯酸溶液（30+70，v/v）；

流速： 1.0 mL/min；

柱温： 35℃；

进样量： 20 μL；

检测波长： 230 nm。

7.4.2 测定法

取试样溶液和相应的标准溶液，作单点或多点校准，按外标法，以峰面积计算。标准溶液及试样溶液中甲氧苄啶响应值应在仪器检测的线性范围之内。在上述色谱条件下，标准溶液和空白添加试样溶液的高效液相色谱图见附录A。

7.5 空白试验

除不加试料外，采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果计算

试料中甲氧苄啶的残留量（μg/kg）：按下式计算

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

式中：

X——供试试料中甲氧苄啶的残留量，μg/kg；

C——试样溶液中甲氧苄啶的浓度，μg/mL；

V——溶解残余物体积，mL。

m——供试试料质量，g；

注：计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

9 方法灵敏度、准确度和精确度

9.1 灵敏度

本方法的定量限为20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法在20~1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为70%~110%。

9.3 方法精密度

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)

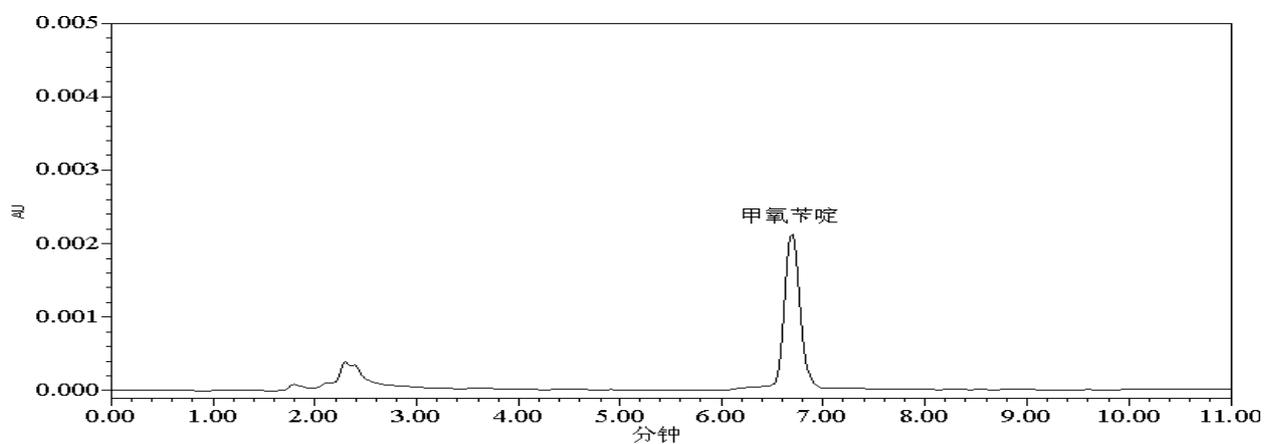
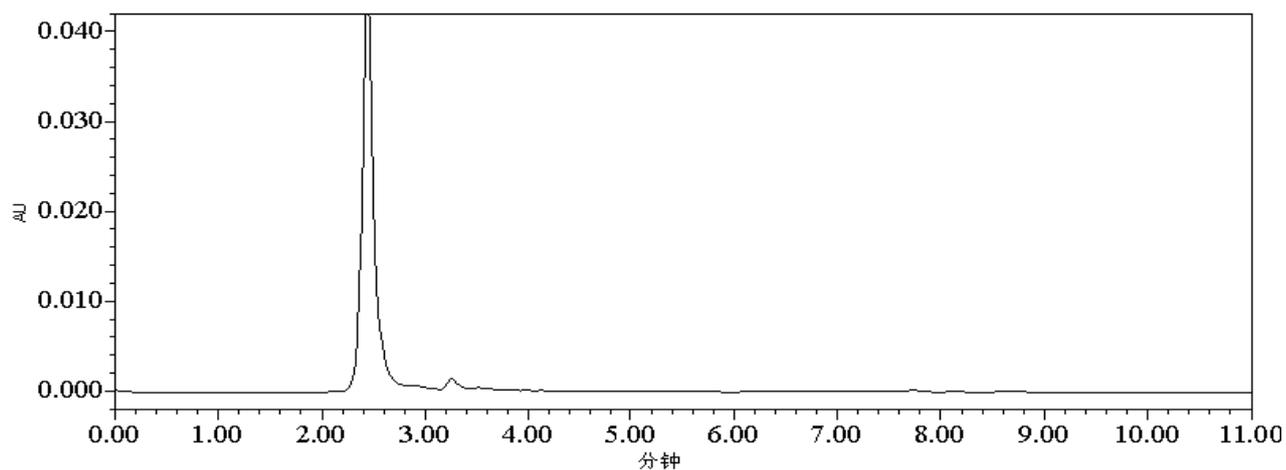
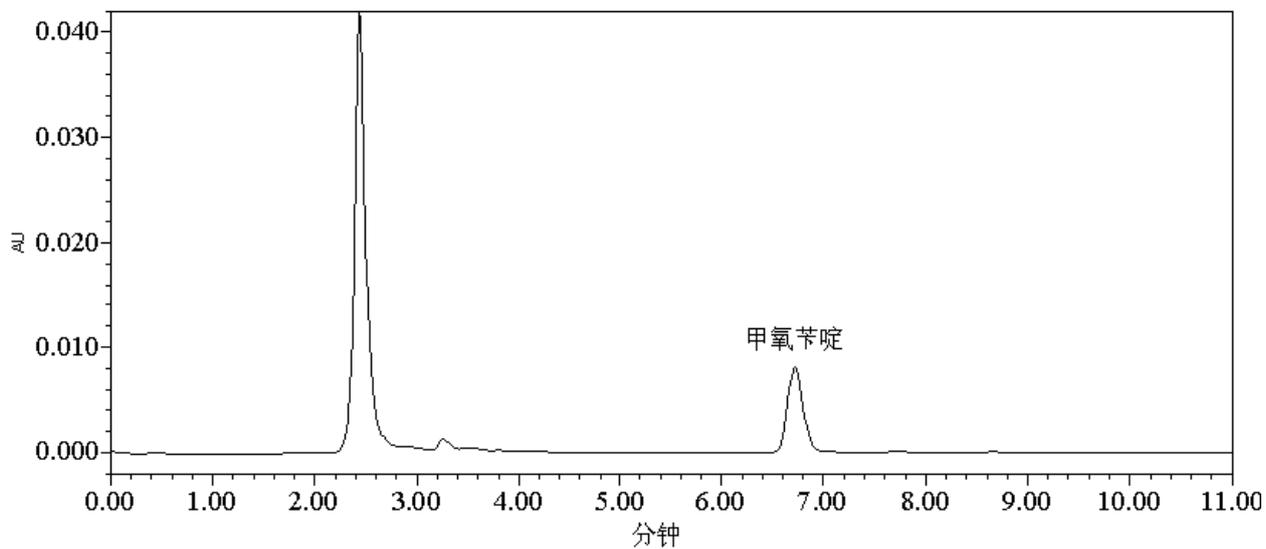


图 A1 甲氧苯胺标准溶液色谱图 (200 µg/kg)



图A2 大黄鱼肌肉组织空白试样色谱图



图A3 大黄鱼肌肉组织空白添加甲氧苯胺试样色谱图 (200 µg/kg)