



中华人民共和国国家标准

GB/T 8381.9—2005

饲料中氯霉素的测定 气相色谱法

Determination of chloramphenicol in feed—
Gas chromatography

2005-09-05 发布

2006-02-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准参考美国 FDA《分析化学指导手册》(1991 年版)残留化学部分、SN 0341—1995《出口肉及肉制品中氯霉素残留量检验方法》和 SN 0215—1993《出口禽肉中氯霉素残留量检验方法》及相关文献,提出了饲料中氯霉素的气相色谱测定法。

本标准由国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:国家饲料质量监督检验中心(北京)。

本标准主要起草人:高生、范理、田静、李玉芳、王彤。

饲料中氯霉素的测定 气相色谱法

1 范围

本标准规定了用气相色谱法测定饲料中氯霉素的方法。

本标准适用于配合饲料、添加剂预混合饲料中氯霉素的测定,方法最低检出限为 0.005 mg/kg。

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

GB/T 14699.1 饲料 采样

3 原理

试样中的氯霉素用乙酸乙酯提取,取部分提取液用氮气吹去乙酸乙酯后,残渣用甲醇/氯化钠溶液溶解,与正己烷液-液分配除去油脂及脂溶物,再用乙酸乙酯提取氯霉素,吹干, C_{18} 小柱净化,经衍生剂衍生后用配有电子捕获检测器的气相色谱仪检测。

4 试剂与材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

4.1 水,符合 GB/T 6682 中二级水的规定。

4.2 甲醇。

4.3 乙酸乙酯。

4.4 正己烷。

4.5 环己烷。

4.6 正己烷-环己烷溶液:取 300 mL 环己烷加 200 mL 正己烷。

4.7 三氯甲烷。

4.8 乙腈溶液

4.8.1 取 5.0 mL 乙腈加水 95 mL;

4.8.2 吸取乙腈 50 mL 加水 50 mL。

4.9 氯化钠。

4.10 4%氯化钠溶液:称取 40.0 g 氯化钠(4.9)加水溶解定容到 1000 mL。

4.11 氯化钠甲醇溶液:取 200 mL 甲醇(4.2)加氯化钠溶液(4.10)800 mL。

4.12 吡啶。

4.13 六甲基二硅烷。

4.14 氯化三甲基硅烷。

4.15 衍生剂:取六甲基二硅烷(4.13)3 份,加氯化三甲基硅烷(4.14)1 份,加吡啶(4.12)9 份。

4.16 氯霉素标准品:纯度大于 98%。

4.17 氯霉素标准溶液

4.17.1 标准贮备液:准确称取 20.0 mg 氯霉素(4.16)用甲醇溶解,定容到 100 mL,该溶液氯霉素浓度

为 200 mg/mL,密封贮于冰箱内有效期为一年。

4.17.2 标准中间液 I:吸取标准贮备液(4.17.1)5.00 mL,于 100 mL 容量瓶内,用乙酸乙酯定容至 100 mL,该溶液氯霉素浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$,密封贮于冰箱内,有效期 3 个月。

4.17.3 标准中间液 II:吸取标准中间液 I(4.17.2)10.0 mL 于 50 mL 容量瓶内,用乙酸乙酯定容至 50 mL,该溶液氯霉素浓度为 2 $\mu\text{g/mL}$,密封贮于冰箱内,有效期为 3 个月。

4.17.4 标准工作溶液:吸取标准中间液 II(4.17.3)0.25 mL、0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL,分别用乙酸乙酯定容至 10 mL,该溶液氯霉素浓度依次为 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、0.20 $\mu\text{g/mL}$ 、0.30 $\mu\text{g/mL}$ 、0.40 $\mu\text{g/mL}$ 。

4.18 C_{18} 固相萃取小柱:200 mg/3 mL。

5 仪器

5.1 离心机:4 000 r/min 以上。

5.2 超声波提取器。

5.3 涡流混合器。

5.4 密封盖塑料离心管:50 mL。

5.5 气相色谱仪:配备电子捕获检测器和长 30 m、外径 0.25 mm、膜厚 0.17 μm 的聚甲基硅酮毛细管柱。

6 试样的制备

按 GB/T 14699.1 选取有代表性的实验室样品,用四分法缩分至约 200 g,粉碎过 0.45 mm 孔径筛,混合均匀,装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 提取

称取一定量的试样(配合饲料 5.00 g,预混合饲料 1.00 g),置于 50 mL 塑料离心管内(5.4),加 40.0 mL 乙酸乙酯(4.3),盖好密封盖于涡旋混合器上混合 2 min,超声波提取器提取 20 min,其间用手摇动两次,离心机(5.1)上 4 000 r/min 离心分离 4 min,取于上清液 20.0 mL,于 50℃ 加热器上用氮气吹至近干,待净化。

7.2 净化

7.2.1 液-液分配净化

用氯化钠甲醇溶液(4.11)2 mL、1 mL、1 mL 三次溶解残渣(7.1),均转移到同一个 10 mL 具塞试管内,加 4 mL 正己烷,混合器混合 2 min,4 000 r/min 离心 4 min,吸出上层正己烷弃去,重复上述操作一次。水相加乙酸乙酯(4.3)3 mL,混合器上混合 2 min,4 000 r/min 离心 4 min,吸取上层乙酸乙酯,置另一个 5 mL 具塞试管内,加乙酸乙酯(4.3)2 mL,重复上述操作一次,吸取上层乙酸乙酯,置于同一个 5 mL 具塞试管内,在 50℃ 加热器上用氮气吹干,用 3 mL 乙腈-水(4.8.1)溶解,待柱净化。

7.2.2 固相萃取柱净化

每一试样各准备一支 C_{18} 小柱(4.18),顺序用 5 mL 甲醇、5 mL 三氯甲烷、5 mL 甲醇和 10 mL 水预清洗 C_{18} 柱,将样液(7.2.1)转移到柱上,用 5 mL 乙腈-水(4.8.1)淋洗,弃去,用 3 mL 乙腈-水(4.8.2)洗脱,收集在 10 mL 具塞试管内,洗脱物加 5 mL 乙酸乙酯涡旋混合 1 min,2 000 r/min 离心,重复提取一次,合并乙酸乙酯提取液于 5 mL 具塞试管内,在加热器上(50℃)用氮气吹干,待衍生化。

7.3 衍生化

向具塞试管(7.2.2)加 200 μL 衍生剂(4.15),塞紧塞子,涡旋混合 10 s,于 70℃ 烘箱内反应 30 min,取出,在 50℃ 加热器上用氮气吹干,加 200 μL 正己烷-环己烷溶液(4.6),涡旋混合 10 s,氯霉素标准溶

液同时进行衍生化处理,供气相色谱测定。

7.4 测定

7.4.1 气相色谱条件

载气:氮气,1.5 mL/min。

补充气:氮气,25 mL/min。

分流比:1/10。

温度:气化室 280℃,检测器 300℃。

柱温:230℃。

7.4.2 试样的测定

在上述仪器条件下,分别注入标准工作液(4.17.4)和试样溶液(7.3)1 μL,调整试样定容体积,使试样溶液中氯霉素的峰值与标准工作液中氯霉素峰值相近,以保留时间和峰值的比较对氯霉素进行定量计算,见式(1)。

$$X = \frac{h \cdot c \cdot V}{m \cdot h_s} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——试样中氯霉素的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

h ——试样溶液(7.3)中氯霉素的峰面积或峰高;

c ——注入氯霉素标准工作液(4.17.4)的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——试样的定容体积,单位为毫升(mL);

h_s ——氯霉素标准工作液的峰面积或峰高;

m ——试样的质量,单位为克(g)。

计算结果表示到 0.005,最多不得超过三位有效数字。

8 重复性

在同一实验室,由一操作人员使用同一仪器完成的两个平行测定的结果相对偏差不得大于 20%。