

ICS 67.040
X 04



中华人民共和国国家标准

GB/T 9695.32—2009

量的测定

amphenicol content

肉与肉制品 氯霉素含量

Meat and meat products—Determination of chlor

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由全国肉禽蛋制品标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：中国肉类食品综合研究中心、中国商业联合会商业标准中心、武汉市疾病预防控制中心、江阴市产品质量监督所、厦门市疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：徐志勇、程松、刘吉强、郭吉强、吕文军、张和友、郭成英、刘振宇。

肉与肉制品 氯霉素含量的测定

1 范围

本标准规定了畜禽肉中氯霉素的测定方法。

本标准适用于畜禽肉中氯霉素的测定。

本标准检出限：气相色谱-质谱法，检出限为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；酶联免疫法为 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

3.3 仪器设备

实验室常规设备及下列仪器。

- 3.3.1 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)。
- 3.3.2 分析天平:可准确称重至 0.000 1 g。
- 3.3.3 分析天平:可准确称重至 0.01 g。
- 3.3.4 离心机:5 500 r/min。
- 3.3.5 涡旋仪。
- 3.3.6 固相萃取装置。
- 3.3.7 旋转蒸发仪。
- 3.3.8 均质器。
- 3.3.9 振荡器。
- 3.3.10 机械设备:用于试样的均质。包括:绞肉机、斩拌机等肉类组织粉碎机。
- 3.3.11 氮吹仪。
- 3.3.12 具塞离心管:50 mL、10 mL。
- 3.3.13 C₁₈固相萃取柱或相当者:200 mg,3 mL。

3.4 分析步骤

3.4.1 试样液制备

3.4.1.1 试样的制备

按 GB/T 9695.19 规定的方法取样。至少取有代表性的试样 200 g,使用适当的机械设备(3.3.10)将试样均质。均质后的试样尽快分析,否则,应密封低温贮存,防止试样变质或成分发生变化。贮存的试样在启用时,应重新混匀。

3.4.1.2 提取

称取 10 g 样品(精确至 0.01 g)置于 50 mL 具塞离心管中,加入少量无水硫酸钠和 20 mL 乙腈

3.4.4 测定

3.4.4.1 气相色谱-质谱法测定条件

色谱柱: DB-FMS(20 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 石英毛细管柱或相当者

载气: 氦气, 纯度 $\geq 99.999\%$;

流速: 1.65 mL/min;

进样口温度: 250 °C;

进样量: 1 μ L;

进样方式: 无分流(保持 1 min)进样;

柱温程序: 初始 55 °C, 保持 1 min, 以 25 °C/min 速度升至 280 °C, 保持 6 min;

NCI 源: 70 eV;

离子源温度: 150 °C;

接口温度: 280 °C;

溶剂延迟: 7 min;

反应气: 甲烷, 纯度 $\geq 99.99\%$;

选择离子检测:

保留时间/min	目标物	检测离子 m/z
12.58	CAP-TMS	466, 468, 376, 378

3.4.4.2 定性测定

进行样品测定时, 如果检出峰保留时间与标准样品一致, 并且有扣除背景后的峰质量谱图

4 酶联免疫法(ELISA 筛选法)

4.1 原理

采用间接竞争 ELISA 方法,在酶标板微孔条上包被偶联抗原,样本中残留的氯霉素和微孔条上包被的偶联抗原竞争抗氯霉素抗体,加入酶标二抗后,加入底物显色,样本吸光值与其残留物氯霉素的含

量成负相关,与标准曲线比较再乘以其对应的稀释倍数,即可得出样品中氯霉素的含量。

4.2 试剂

4.2.2 正己烷。

4.2.3 氯霉素酶联免疫试剂盒:2℃~8℃冰箱中保存。

注:试剂盒应选用国家有关行政管理部门备案的生产商的合格产品。

4.2.3.1 酶标板:8孔×12条,包被有偶联抗原。

4.2.3.2 氯霉素系列标准液:0 μg/L、0.05 μg/L、0.15 μg/L、0.45 μg/L、1.35 μg/L、4.05 μg/L。

4.2.3.3 酶标二抗。

4.2.3.4 抗体工作液。

4.2.3.5 底物液(A液)。

4.2.3.6 底物液(B液)。

4.2.3.7 终止液。

4.2.3.8 洗涤液(浓缩液)。

4.2.3.9 复溶液(浓缩液)。

4.2.3.10 复溶工作液:将浓缩复溶液 20 mL 用水稀释至 40 mL。

4.4.3.3 加酶标一抗:将酶标一抗(3.2.3.2)加入标准品、样品、空白样品到对应的微孔中,再加洗涤工作液(3.2.3.11)250 μL/孔。

50 μL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置 25 °C 避光环境中反应 30 min。

4.4.3.4 洗板:小心揭开盖板膜,将孔内液体甩干,用洗涤工作液(3.2.3.11)250 μL/孔,充分洗涤 4 次~5 次,每次间隔 10 s,用吸水纸拍干。

4.4.3.5 加酶标二抗:加入酶标二抗(3.2.3.3)100 μL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置 25 °C 避光环境中 30 min,取出重复洗板步骤(3.5.4)。

4.4.3.6 显色:加入底物液 A 液(3.2.3.5)50 μL/孔,再加底物液 B 液(3.2.3.6)50 μL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置 25 °C 避光环境反应 15 min。

4.4.3.7 测定:加入终止液(3.2.3.7)50 μL/孔,轻轻振荡混匀,设定酶标仪 450 nm 及 630 nm 双波长检测,测定每孔的吸光度值。

4.5 结果计算

按式(2)计算百分吸光度值:

$$\text{相对吸光度值} = \frac{B}{B_0} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

B——标准溶液或样本溶液的平均吸光度值;

B₀——0ppb 标准溶液的平均吸光度值。

将式(2)计算得到的相对吸光度值(%)对应氯霉素(μg/L)的自然对数,作半对数坐标校正曲线,根据样本的相对吸光度值,从校正曲线上查出溶液中对应的氯霉素浓度值。

按式(3)计算样品中氯霉素的含量:

$$X = \frac{(A - A_0) \times f}{m \times 1\,000} \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

X 试样中氯霉素的含量,单位为微克每千克(μg/kg);

A 试样的相对吸光度值(%)对应的氯霉素含量,单位为微克每升(μg/L);

附录 A

(资料性附录)

标准物质衍生物总离子流图、质谱图 and 选择离子质谱图

A.1 氯霉素标准物质衍生物的总离子流, 见图 A.1。

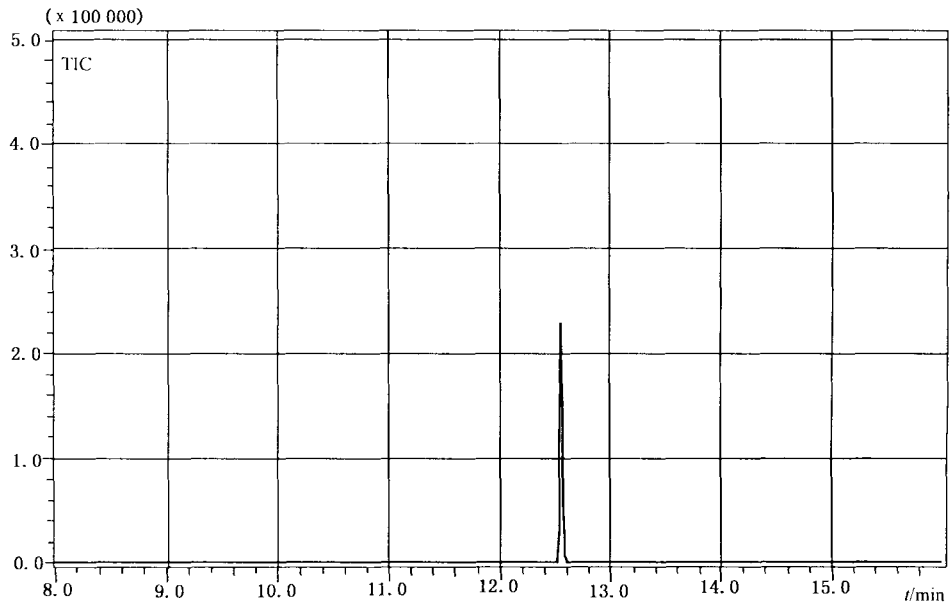


图 A.1

A.2 氯霉素标准物质衍生物的质谱图, 见图 A.2。

%

A.3 氯霉素标准物质衍生物的选择离子质谱图,见图 A.3。

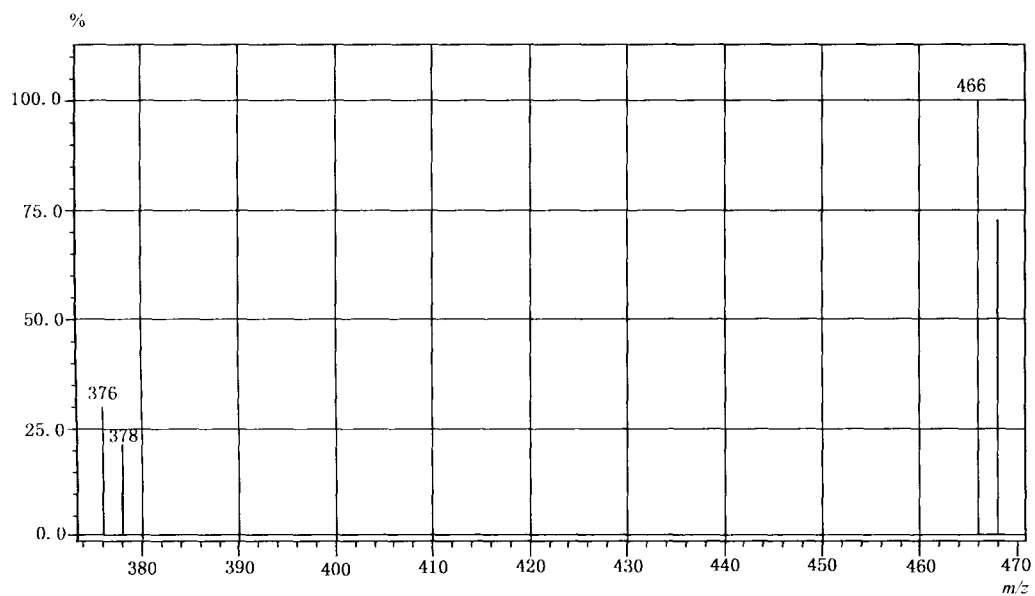


图 A.3