

动物性食品中大观霉素、林可霉素多残留的测定

1、适用范围

本标准规定了动物性食品中大观霉素、林可霉素残留量检测的气相色谱-质谱法（GC-MS）（本实验样品为猪肉）。

参考标准：《GB 29685-2013 食品安全国家标准 动物性食品中林可霉素、克林霉素和大观霉素多残留的测定 气相色谱-质谱法》

2、溶液的配制

- 1) 提取液：取磷酸二氢钾 1.36g，用水溶解并稀释至 1000mL，用磷酸调节 pH 至 4.0。
- 2) 3%三氟乙酸溶液：取三氟乙酸 3.0g，用水溶解并稀释至 100mL。
- 3) 2mol/L 氢氧化钾溶液：取氢氧化钾 5.8g，用水溶解并稀释至 50mL。
- 4) 十二烷基苯磺酸钠溶液：取十二烷基苯磺酸钠 2.78g，用水溶解并稀释至 50mL。
- 5) 十二烷基苯磺酸钠缓冲液：取十二烷基苯磺酸钠 0.278g，用水溶解，加乙酸 1mL，用水稀释至 50mL。
- 6) 标准储备溶液：准确称取 1.0mg 大观霉素、林可霉素标准品，用甲醇溶解并定容至 10mL，配制成 100 μ g/mL 标准储备液，标准储备溶液避光于 0~4 $^{\circ}$ C 保存。
- 7) 标准工作溶液：准确移取标准储备液 100 μ L 用甲醇定容至 10mL，得到 1 μ g/mL 混合标准工作溶液，标准工作溶液避光于 0~4 $^{\circ}$ C 保存。



3、提取步骤

准确称取 5g 试样（精确至 0.01g）于 50 mL 离心管中，加入提取液 10mL，涡旋混匀 5min，以 5000r/min 离心 3min，取上清液于 50 mL 离心管中，重复提取一次，合并提取液。加入 3%三氟乙酸溶液 5mL，混匀，再用 2mol/L 氢氧化钾调节 pH 至 5.8 ± 0.2 ，加十二烷基磺酸钠溶液 2mL，涡旋混匀，以 8000r/min 离心 3min，取上清液备用。

4、净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom® BRP 小柱，规格：60mg/3mL。

活化平衡：3mL 甲醇，3mL 水，3mL 十二烷基磺酸钠缓冲液；

上样：将备用液全部上样，弃去；

淋洗：3mL 水+3mL 水，弃去并压干；

洗脱：4mL 甲醇，收集并压干。

5、衍生

将洗脱液于 40°C 下氮吹至近干，室温吹干，在衍生瓶中加入 N,O-双（三甲基硅烷基）三氟乙酰胺 500 μ L 和乙腈 100 μ L，充分涡旋混匀后，置 75°C 烘箱中，反应 1h，室温氮吹至干，用正己烷 0.5mL 溶解残余物，混匀，转入进样小瓶，上机测定。

6、注意事项

- 1) 加标水平：5g 样品中加入 50 μ L 标准工作液，因此加标水平为 0.01mg/kg，最终机度数为 0.1 μ g/mL。



7、色谱条件

7.1 气相色谱条件

色谱柱	WM-5MS ,30m×0.25mm×0.25μm
进样口温度	280°C
升温程序	150°C, 保持 2min, 以 20°C/min 升温至 300°C, 保持 10min
载气	高纯氦气 (纯度>99.999%)
进样方式	不分流进样
恒流模式	1mL/min
进样量	1μL

7.2 质谱条件

电离方式	电子轰击电离源 (EI)
电离能量	70eV
传输线温度	280°C
离子源温度	230°C
四极杆温度	150°C
监测方式	大观霉素: 145/171/187/201 林可霉素: 126/127/73
溶剂延迟	8min



8、色谱图或者加标回收率结果

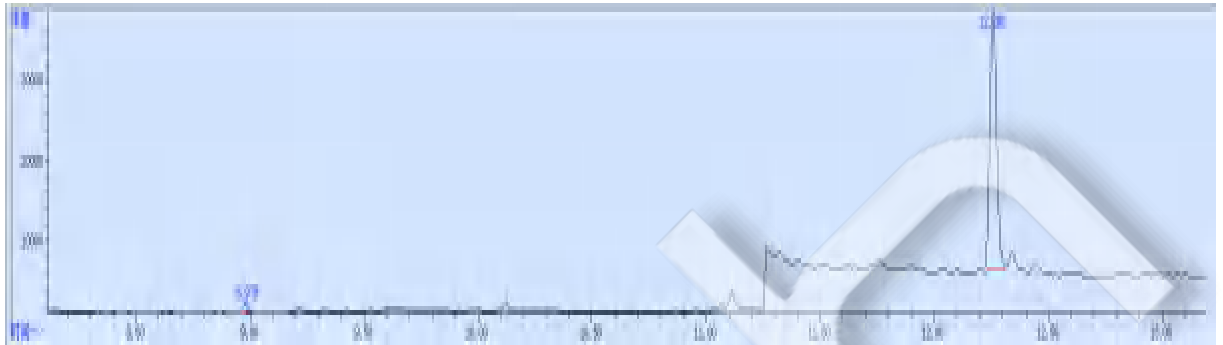


图 1. 大观霉素、林可霉素 0.1µg/mL 图谱

表 1、出峰情况

峰号	保留时间	类型	峰宽	面积	开始时间	结束时间
大观霉素	8.979	M	0.021	15336	8.957	8.995
林可霉素	12.26	M	0.031	641950	12.217	12.314

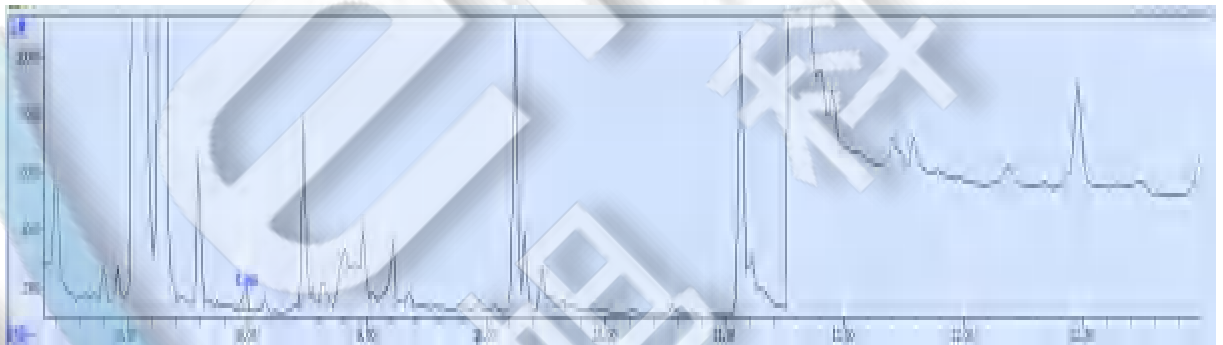


图 2. 猪肉样品图谱

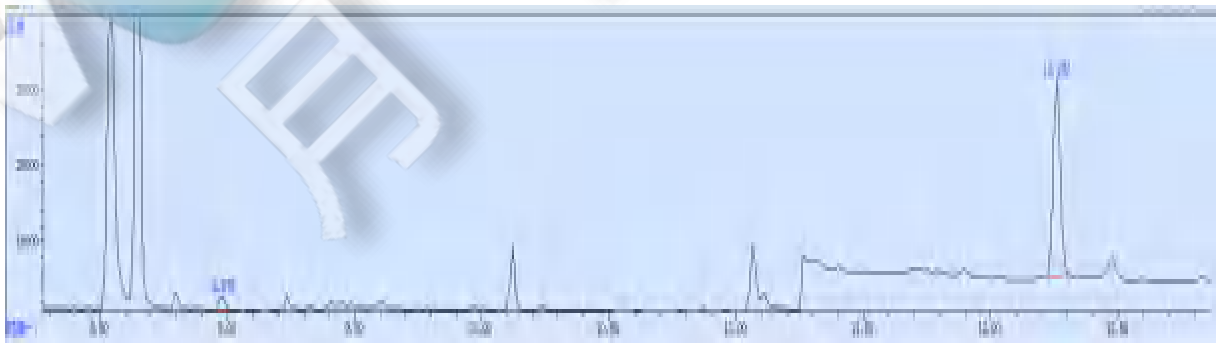


图 3.猪肉样品加标 0.01mg/kg 图谱



表 2、加标回收率表

物质	加标水平	平均回收率	RSD 值 (n=2)
大观霉素	0.01mg/kg	92.48%	3.74%
林可霉素	0.01mg/kg	78.15%	3.16%

9、相关产品信息

货号	名称	规格
00522-20009	SPE 小柱	Welchrom® BRP,60mg/3mL,50pk
00824-31001	固相萃取装置	Welch 固相萃取装置, 12 位方缸
00821-32291	盖子+垫片	Welchrom® 预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	Welchrom® 2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
03904-22001	气相色谱柱	WM-5MS ,30m×0.25mm×0.25μm
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	Welchrom® 离心管 一次性离心管, 平盖, 锥形底,RCF12000xg, 袋装,未灭菌, 50mL, 50/包
00826-S334P250	壮观霉素二盐酸盐五水合物/大观霉素标准品	A2S, CAS No.:22189-32-8,250mg
00826-L051P250	林可霉素盐酸盐五水合物标准品	A2S, CAS No.:7179-49-9,250mg

