

前言

本标准是根据GB/T1.1—1993《标准化工作导则第1单元：标准的起草与表述规则 第1部分：标准编写的基本规定》及SN/T 0001—1995《出口商品中农药、兽药残留量及生物毒素检验方法标准写的基本规定》的要求进行编写的。其中测定方法采用了美国农业部安全检查署《化学实验室指南》中苯硫苯咪唑残留量分析方法。但在技术内容上稍作改进，经验证后，按规定格式要求作了编辑性修改。本标准同时还制定了抽样和制样方法。

测定低限是根据国际上对肉及肉制品中苯硫苯咪唑残留量的最高限量及测定方法的灵敏度而制定的。

本标准的附录A为提示的附录。

本标准由中华人民共和国国家进出口商品检验局提出并归口。

本标准由中华人民共和国天津进出口商品检验局负责起草。

本标准主要起草人：唐翊、佟晖、高晓敏。

本标准系首次发布的行业标准。

1 范围

本标准规定了出口肉及肉制品中苯硫苯咪唑残留量检验的抽样、制样和液相色谱测定方法。

本标准适用于出口猪肉中苯硫苯咪唑残留量的检验。

2抽样和制样

2.1 检验批

以不超过2500件商品为一检验批。

同一检验批的商品应具有相同的特征，如包装、标记、产地、规格和等级等。

2.2 抽样数量

批量，件	最低抽样数，件
1～25	1
26～100	5
101～250	10
251～500	15
501～1000	17
1001～2500	20

2.3 抽样方法

按2.2规定的抽样件数随机抽取，逐件开启。从每件中取一袋作为原始样品，其总量不得少于2kg。

放入清洁容器内，加封后，标明标记，及时送实验室。

如每件中无小包装或有小包装但每袋重量超过2kg者，则可用灭菌后的锋利刀，在抽出的包件中，每件割取不少于100 g，混合后置于清洁容器内，作为混合原始样。混合原始样的重量不少于2kg。加封后，标明标记，及时送交实验室。

2.4 试样制备

从所取全部样品中分取出1kg，充分绞碎混匀，分成两等份，装入清洁的容器内密封，作为试样，并标明标记。

2.5 试样保存

将试样于－18℃以下冷冻保存。

注：在抽样和制样的操作过程中，必须防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

3 测定方法

3.1 方法提要

试样中残留的苯硫苯咪唑用乙酸乙酯提取，用无水硫酸钠脱水，经正己烷和乙醇—盐酸混合溶液分配净化，用配有紫外检测器的高效液相色谱仪检测，外标法定量。

3.2试剂和材料

所用试剂除另有规定外均为分析纯，水为蒸馏水。

3.2.1 乙酸乙酯。

3.2.2 无水乙醇。

3.2.3 正己烷。

3.2.4 甲醇：液相色谱用。

3.2.5 二甲基亚砩。

3.2.6 无水硫酸钠：经650℃灼烧4h，置干燥器内备用。

3.2.7 碳酸钾溶液：4mol/L，将552.84g无水碳酸钾溶于1000 mL水中。

3.2.8 盐酸溶液：0.2mol/L将16.5mL浓盐酸溶于1000 mL水中。

3.2.9 乙醇—盐酸溶液：将66mL乙醇与33mL盐酸溶液(3.2.8)混合，每两周配一次。

3.2.10 氨水(1+1)：取1份浓氨水加1份水。

3.2.11 磷酸二氢铵缓冲液：0.01mol/L，将1.15g磷酸二氢铵用950 mL水溶解，用氨水(1+1)调节PH至7.0，并定容至1000 mL。

3.2.12 苯硫苯咪唑标准品：纯度≥99%。

3.2.13 苯硫苯咪唑标准溶液：准确称取适量的苯硫苯咪唑标准品，溶解于二甲基亚砩，配成浓度为1.00 mg/mL的标准储备液，根据需要再用甲醇配成适当浓度的标准工作溶液。

3.3仪器和设备

3.3.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器。

3.3.2 捣碎机。

3.3.3 振荡器。

3.3.4 离心机。

3.3.5 涡旋混合器。

3.3.6微孔过滤膜：0.45μm。

3.3.7玻璃抽滤器。

3.3.8 离心管：玻璃，具塞，50 mL。

3.3.9 微量注射器：100μL。

3.4 测定步骤

3.4.1 提取

称取试样10 g(精确到0.1g)于50 mL离心管中，顺序加入10 g无水硫酸钠、1mL碳酸钾溶液及30 mL乙酸乙酯，盖塞，用手振摇30 s，于振荡器上高速振荡10 min。于2500 r/min离心5min。将上清液通过盛有20g无水硫酸钠的滤纸过滤到另一个50 mL离心管中。再向第一个离心管中加入20 mL乙酸乙酯，重复振荡提取，过滤如上述。合并提取液于第二个50 mL离心管中。在55℃水浴上用缓缓氮气吹去溶剂。

3.4.2 净化

向上述离心管中加入20 mL正己烷，在涡旋混合器上振荡溶解残渣。再加入20 mL乙醇—盐酸溶液(3.2.9)，充分振摇后，于1000 r/min离心2min。弃去上层正己烷(不要干扰到分界面处的乳化物)。再加入10 mL正己烷，重复上述操作。于40℃水浴上用氮气缓缓将下层溶液吹至近干，用2.0 mL甲醇溶解，备HPLC测定。

3.4.3 测定

3.4.3.1 色谱条件

- a) 色谱柱：RP—C<sub>18</sub>柱，YWG，250 mm×4.6mm(内径)，10μm或相当者；
- b) 流动相：甲醇—磷酸二氢铵缓冲液(8+2)；配制后经0.45μm滤膜抽滤，脱气；
- c) 流速：0.5mL/min；
- d) 检测波长：298nm；
- e) 进样量：20μL；
- f) 柱温：25℃。

3.4.3.2 色谱测定

根据样液中苯硫苯咪唑的含量情况，选定峰高与样液相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中苯硫苯咪唑应值均在仪器检测线性范围内。标准工作溶液和样液等体积参插进样测定。在上述色谱条件下，苯硫苯咪唑的保留时间约为10 min。标准品的色谱图见附录A中图A1。

3.4.4 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

3.4.5 结果计算和表述

用色谱数据处理机或按式(1)计算试样中苯硫苯咪唑残留含量：

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

式中：X—试样中苯硫苯咪唑残留量，mg/kg；

h—样液中苯硫苯咪唑的峰高，mm；

h<sub>s</sub>—标准工作溶液中苯硫苯咪唑的峰高，mm；

c—标准工作溶液中苯硫苯咪唑的浓度，μg/mL；

V—最终样液的体积，mL；

m—最终样液所代表的试样量，g。

注：计算结果需扣除空白值。

4 测定低限、回收率

4.1 测定低限

本方法的测定低限为0.02mg/kg。

4.2 回收率

回收率的实验数据：

苯硫苯咪唑添加浓度在0.02mg/kg时，回收率为81.4%；

苯硫苯咪唑添加浓度在0.10 mg/kg时，回收率为82.0%；

苯硫苯咪唑添加浓度在0.20 mg/kg时，回收率为91.4%。

附 录 A  
(提示的附录)  
标准品色谱图



图 A1 苯硫苯咪唑标准品液相色谱图