

美国农业部 (USDA) 实验室指南 (上)

化学实验室检测指南

国家质量监督检验检疫总局 编译

蒋原 于文军 赵增连 主编



中国农业科学技术出版社

美国农业部 (USDA) 实验室指南 (上)

化学实验室检测指南

国家质量监督检验检疫总局 编 译

蒋 原 于文军 赵增连 主 编

中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

化学实验室检测指南/国家质量监督检验检疫总局编译.

北京: 中国农业科学技术出版社, 2007. 5

[美国农业部 (USDA) 实验室指南]

ISBN 978-7-80233-266-9

I. 化… II. 国… III. 化学实验—指南 IV. 06-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 047258 号

责任编辑 鲁卫泉

责任校对 贾晓红 王 丽

出版发行 中国农业科学技术出版社

地 址 北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010) 62150862 (编辑室) (010) 68919704 (发行部)

传 真 (010) 62189012

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 新华书店北京发行所

印 刷 北京忠信诚胶印厂

开 本 880mm×1230mm 1/16

印 张 26.75

字 数 685 千字

版 次 2007 年 5 月第 1 版

印 次 2007 年 5 月第 1 次印刷

印 数 1~1 600 (上·下册)

定 价 160.00 元 (上·下册)

版权所有·翻印必究

序 言

食品中有害化学物质的污染一直是困扰食品工业的主要问题，特别是进入 21 世纪，随着科学技术的迅猛发展，越来越充分的数据表明，农药和兽药残留物质会通过食物链直接对人类健康造成危害或通过诱导细菌生成耐药菌株间接对人类健康形成威胁。为此，各国政府和食品安全管理机构都十分重视对食品中有害化学物质的监控。近几十年来化学物质的检测技术日趋完善，尤其是质谱技术手段的应用和发展，使农药和兽药残留物质的检测实现了从量变到质变的飞跃，从化学分子水平的角度为准确检测这类物质奠定了基础。

美国是我国最大的贸易伙伴之一，我国每年都向美国出口农产品，同时每年也从美国进口大量的肉类产品。食品安全一直是中美两国食品安全主管机构关注的焦点。

多年来我国几代食品安全科技工作者，创造性地研究出大量的新的检测技术方法，为食品安全检测作出了重大贡献。中国有句俗语“谦受益，满招损”，因此及时了解与掌握美国官方机构的检测技术规范，对提升我国出口产品的竞争力具有重大的现实意义，也有利于增强中美两国检测技术部门对相互间检测技术水平的了解。

《化学实验室检测指南》是由美国农业部食品安全检验局编写的技术规范，通常在对肉类和蛋类产品进行安全性和标志符合性检查时使用，这次国家质量监督检验检疫总局组织编译的美国农业部食品安全检验局理化检测技术规范，是美国农业部食品安全局多年来对许多技术方法进行验证后形成的一系列技术规范，值得我们广大食品安全检测人员和从事食品安全研究人员以及对外出口农产品的企业学习和借鉴。我衷心希望该书的出版能对从事食品理化检验和研究的工作人员有所帮助，从技术层面进一步提升食品安全工作的力度，有利于促进中美两国农产品的贸易。

国家质量监督检验检疫总局副局长

2006 年 12 月

编译说明

《美国农业部 (USDA) 实验室指南 (上) ——化学实验室检测指南》(以下简称《指南》) 是在国家质量监督检验检疫总局进出口食品安全局指导与组织下编译的一部理化检测技术规范的汇编。

《指南》用于美国农业部对指定肉类、禽类及蛋类产品的理化检测分析, 这些方法是美国农业部食品安全局日常检验使用的方法, 《指南》对不同产品和检测试剂都经过大量的方法验证, 在实际应用中有很强的操作性。

《指南》是在日趋严峻的有害化学物质污染和原有的方法已不适应现有检测需要的情况下, 由美国农业部食品安全局的专家对原有的《指南》进行重新修订后出版的, 主要包括食品成分、食品添加剂、食品营养以及兽药和农药残留物质的检测方法, 《指南》中采用了许多最新的初筛技术和质谱确认技术, 大大提高了对农药和兽药残留物质的鉴别能力。该《指南》的另外一个特点是自 1998 年出版以来, 不断更新, 随时更新完善检测方法, 以便检测人员及时掌握。本次编译是收集了美国农业部食品安全检验局截止到 2006 年公布的最新版本。

为及时了解掌握美国农业部检测技术规范, 国家质量监督检验检疫总局食品安全局组织检验检疫系统的有关专业人员翻译了美国农业部食品安全检验局公布的理化检测方法, 并汇编为《指南》。本书的翻译出版对于帮助我检验检疫机构以及出口食品企业按照美国官方检测方法有效进行官方控制与企业自控, 保障我国出口动物源制品符合美国的有关规定, 避免因检测技术方法不一致造成对我国出口食品贸易的影响, 具有重要意义。

本书翻译出版后, 可面向我国检验检疫机构人员、畜牧兽医管理部门以及进出口肉类和蛋制品等食品企业等方面的广大读者, 也可供我国从事食品研究的大专院校、科研院所等单位使用参考。

由于时间仓促, 难免存在不足之处, 恳请各位读者批评指正!

本书编译委员会

2006 年 12 月

《美国农业部 (USDA) 实验室指南 (上) ——化学实验室检测指南》

编译委员会

顾问	葛志荣					
主任	李元平					
副主任	(按姓氏笔画为序)					
	车文毅	李春风	吴毅	陈思刚	陈建东	林伟
编委	(按姓氏笔画为序)					
	于文军	车文毅	刘坚	刘晓辉	毕克新	李元平
	李春风	吴毅	陆永贵	陈思刚	陈建东	林伟
	赵增连	郭喜良	蒋原			
主编	蒋原	于文军	赵增连			
副主编	储晓刚	管恩平	沈崇钰	陈惠兰	乔建淮	
编译	(按姓氏笔画为序)					
	乙小娟	丁涛	王凤池	王丽	王毅谦	叶春艳
	孙建刚	刘一军	刘艳	朱敏琪	朱卫娟	许泓
	许璐	李平	李萌	吴斌	岳振峰	陆曦
	陈惠兰	张晓峰	张婧	张睿	张慧	汪琦
	邵景东	林峰	林黎明	周红斌	金勉勉	胡进
	祝长青	赵佳胤	赵增运	俞晔	郭德华	徐锦忠
	徐逸云	黄娟	曾义	谢文	魏海燕	
审校	徐锦忠	赵增运	丁涛	沈伟建		

目 录

一、含水量测定	(1)
二、燃烧法测定蛋白质	(4)
三、原子吸收法测定砷	(9)
四、ICP 法测定钙含量	(17)
五、ICP-MS 测定镉和铅	(22)
六、ICP 法测定铊、砷、汞	(30)
七、原子吸收分光光度计检测汞	(35)
八、氨基糖类 HPLC-MS/MS 方法的检测	(42)
九、酶联免疫法检测玉米赤霉醇(右环十四酮酚)	(50)
十、GC/MS 测定和确证己烯雌酚(DES)和玉米赤霉醇	(56)
十一、动物组织中残留抗寄生虫药 Ivermectin,Doramectin 和 Moxidectin 的测定	(65)
十二、LC/APCI/MS 法确证依维菌素、多拉菌素和莫西菌素	(72)
十三、ELISA 筛选检测动物视网膜组织中 β -激动剂残留	(79)
十四、高效液相色谱检测莱克多巴胺盐酸盐	(86)
十五、应用液相色谱串联质谱法测定 β -内酰胺抗生素残留量	(98)
十六、气相色谱仪-电子捕获检测器检测卡巴氧代谢物	(106)
十七、应用气相色谱串联质谱法(EI Ion-trap) 测定猪肝中卡巴氧代谢物(Carbadox Metabolite)残留量	(117)
十八、牛肉中氯霉素的检测与确证方法	(123)
十九、环丙马秦和三聚氰胺的检测与确证方法	(134)
二十、地塞米松的测定与确证方法	(147)
二十一、HPLC 法检测安乃近释放残留量	(161)
二十二、氟甲砜霉素的测定方法——高效液相色谱法	(168)
二十三、GC/MS 法氟苯尼考残留.....	(176)
二十四、用 ELISA 法检测牛肝中氟尼辛残留量	(183)

二十五、高效液相色谱法测定牛肝中的氟胺烟酸	(190)
二十六、应用液相色谱串联质谱法测定氟苄烟酸(Flunixin)残留量	(200)
二十七、HPLC/ESI-MS/MS 方法确证牛肝中 Flunixin 残留量	(208)
二十八、HPLC 法检测猪肉组织中的庆大霉素	(213)
二十九、卤夫酮	(219)
三十、牛组织中的拉沙里菌素	(229)
三十一、组织中麦角酰二乙胺和苯环己哌啶残留检测方法	(235)
三十二、离子阱 HPLC/MS/MS 方法确证	
大环内酯类和林可胺类抗生素	(238)
三十三、酶联免疫法检测脂肪中的醋酸美仑孕酮	(246)
三十四、牛脂肪中醋酸甲烯雌醇测定.....	(253)
三十五、醋酸甲烯雌醇的 APCI/LC/MS ³ 确证	(260)
三十六、组织中莫能菌素.....	(264)
三十七、莫仑太尔和噻嘧啶及其代谢物	(269)
三十八、畜禽组织中甲基盐霉素残留检测方法.....	(276)
三十九、呋喃唑酮和呋喃它酮代谢物的 ELISA 筛选方法	(281)
四十、羟基二甲硝唑(DMZOH)和羟基异丙硝唑(IPROH).....	(287)
四十一、抗生素化合物新生霉素(novobiocin, NOV)	
和威及霉素(virginiamycin, VIR)	(293)
四十二、运用 ELISA 检测牛肾中苯基丁氮酮残留	(300)
四十三、牛肾中苯基保泰松的 LC-MS/MS 确证	(306)
四十四、磺胺的定性、定量方法	(312)
四十五、组织中四环素类的定性鉴别	(328)
四十六、应用液相色谱串联质谱法测定 Thyreostats 残留量.....	(334)
四十七、采用高效液相色谱/离子对色谱检测替米考量	(340)
四十八、Trenbolone(群勃龙)的 ELISA 检测方法	(350)
四十九、GC/MS/MS 测定 α , β 型 trenbolone	(356)
五十、含氟喹诺酮类抗生素的 HPLC 离子阱质谱确证法	(363)

五十一、卤代环境污染物的初筛	(374)
五十二、组织、加工肉类以及血清中的氰化物	(381)
五十三、二溴乙烯	(383)
五十四、倍硫磷	(388)
五十五、罐头食品中汽油的测定	(392)
五十六、超临界流体萃取分析亚硝胺	(396)
五十七、用竞争性 ELISA 法检测拟除虫菊酯	(403)
五十八、采用高液相色谱检测苯甲酸、山梨酸以及甲基、 乙基、丙基和丁基对羟基苯甲酸酯	(413)

SOP No.CLG-MOI.02

一、含水量测定

生效日期：2001 年 12 月 26 日

A. 引言

样品称重后加热、冷却，再次称重，损失的重量就是含水量。

B. 仪器设备

注意：可用等效的仪器替代。

仪器

- a. 有盖子的铝器皿：直径 $\geq 50\text{mm}$ ，深度 $\leq 40\text{mm}$ ，带有一搅拌桨。
- b. 机械热对流烘箱：带有加热器。
- c. Robot Coup 食品加工机：Robot Coup U.S.A. Inc., Jackson MS 39236。
- d. 分析天平：可称量至 0.1mg 。
- e. 铝称量搅拌桨：L 形，大约 25mm 长， 12.5mm 宽。

C. 试剂和溶液（没有合适的）

D. 标准（没有合适的）

E. 样品准备

所有的样品必须处理足够长时间以得到均匀的组织混合物，但是不能变热。

F. 分析步骤

1. 样品精确称重（含有大约 2g 干物质），放入铝器皿中。

- a. 样品称重时尽可能快，以减少水分损失。
- b. 器皿的重量应包括搅拌桨的重量，搅拌桨可将器皿底部的样品搅开，使样品的表面积增大，有利于除去水分。
- c. 如果所取的样品相对较干，在样品称重后可向器皿中加入少量蒸馏水。这些水有利于器皿底部样品的散开，而且不会产生误差，因为样品在烘箱中干燥时这些水分也将蒸发。

2. 去掉盖子，在机械热对流烘箱中，于 $100 \sim 102^\circ\text{C}$ 干燥 $16 \sim 18$ 小时，或在 125°C 干燥 4 小时 10 分钟。所有的烘箱温度计用 NIST 温度计校正。

注意：在干燥箱中样品不能加入过多，否则样品干燥不充分，导致结果偏低。当达到初始温度时开始计算干燥时间，如果烘箱带有加热器，则使用加热器，以减少复原时间。

3. 用烘箱除去器皿中的水分，盖上器皿，冷却至室温并将锡垫板称重。

G. 结论

步骤

$$\text{百分含量} = 100 (B - C) / A$$

其中，A：样品重量。

B：器皿重量+干燥前的样品重量。

C：器皿重量+干燥后的样品重量。

注意：如果实验室没有空气调节装置，则湿度会产生影响，建议在最初和最后称量前均要将器皿干燥。

H. 危险分析

1. 方法名称：含水量测定。
2. 所需的保护性器材：防护手套、实验服以及隔热手套。
3. 危险：本法中不存在不平常的危险。
4. 处理步骤：在处理干的肉类样品时，操作要卫生。

I. 质量保证计划

1. 操作标准

分析范围 (%)	重复性	再现性
1	<0.46 ²	<0.65 ²

1 由于样品大小及样品种类的变化，限度也会发生改变。

2 是过去数据基础上的标准偏差。

2. 关键控制点和规范

记录	合适的控制
样品大小	3 ~ 6g (含有大约 2g 干物质)
器皿大小	直径 ≥ 50mm, 深度 ≤ 40mm, 带有盖子
烘箱温度	烘箱达到所需温度后，在 101℃ 16 ~ 18 小时或 125℃ 4 小时 10 分钟；机械热对流强制通风烘箱；用校准温度计检查温度，用 NIST 温度计校准
烘箱载样量	器皿没有缝隙，放在固体托盘中，要求有适当的空气循环
烘箱复原	从关上门开始 10 分钟内恢复至原温度，每 15 分钟检查并记录一次
计算	重新检查

3. 操作准备

a. 熟悉

- i. 标准：无合适的。
- ii. 加添加剂的样品：随机重复抽取以前分析的样品。
- iii. 用检测样品来检验分析者的资格。
 - (a) 用 36 个检测样品来检查最初的分析者的资格。
 - (b) 样品由 FSIS 公认的实验室计划 (ALP) 提供。

(c) 向 ALP 报告分析结果。

(d) 开始法定分析应有 ALP 的通告。

b. 适用性标准

参考 I.1 部分操作标准。

4. 实验室内部检测样品

a. 系统, 最小含量

i. 频率: 若分析样品, 每位分析者每星期一次。

ii. 初始分析后由主管者或设计者选择盲目抽样或随机重复抽样。

iii. 分析者做好记录, 由主管者和实验室质保经理 (QAM) 进行检阅。

b. 适用性标准

参考 I.1 操作标准。

若得到不可接受值, 应采取如下措施:

i. 停止分析者的所有法定分析。

ii. 调查并确定可能的原因。

iii. 采取正确的措施。

5. 实验室外部检测样品计划

a. 频率: 每隔一个月一次。

b. 样品: 由 FSIS 购买、准备和提交。

c. 根据提供者的规范向其报告分析结果。

d. 若得到不可接受值, 应采取如下措施:

i. 停止分析者的所有法定分析。

ii. 调查并确定可能的原因。

iii. 采取正确的措施。

6. 样品适用性和稳定性

a. 基质: 肉类、家禽类以及加工过的产品。

b. 取样条件: 未受损的和密封的。;

c. 样品保存:

时间和条件: 冷冻 24 小时或者冷藏 1~3 个星期。

7. 样品安排

一批 1~20 个样品, 每批都要测定一个质量控制 (QC) 样品。

8. 灵敏度

方法检测限 (MDL): 0.5%。

J. 工作表 (略)

K. 附录

参考文献

Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 15th Edition, 950.46.

CLG-PRO4.02

二、燃烧法测定蛋白质

生效日期：2001 年 12 月 26 日

A. 引言

1. 原理

总蛋白是通过分析氮来测定的。样品与氧气燃烧生成的含有氮的氧化物的气体收集在压载罐中，直到达到特定的压力为止。以氦为载气，含有氮的氧化物的燃气被还原为氮，然后通过含有高氯酸镁的玻璃管以及硅酸盐载体上的氢氧化钠以除去水和二氧化氮。以氦为参照，用热传导检测器来测量氮，然后用转化因子将氮的含量转化为蛋白质的含量。

注意：相对于其他商用仪器，本法并不是由 LECO FP-2000 的食品安全和检验机构 (FSIS) 认可保证的。

它必须按照操作程序或者制造商对其他制造商的等效仪器的说明使用。

2. 应用

本操作程序可用于测定新鲜的和加工过的肉类和家禽类产品的蛋白质含量。

B. 仪器设备

1. 仪器

可用等效的仪器替代

- a. Robot Coup 食品加工机, Robot Coup U.S.A. Inc., Jackson MS 39236。
- b. 可称至 0.1mg 的分析天平。
- c. 强制通风烘箱, 设置在 101℃。
- d. 3 个有两级调节器的压缩气体钢瓶, 每个 40psi。
- e. 陶瓷燃烧器皿 (船形), LECO No.529-203。
- f. 器皿中的箔衬垫 (用于液体样品), LECO No.502-343。

2. 仪器用法

- a. LECO FP-2000 蛋白分析仪—版本 4.08 或等效软件, 以及自动进样器 (仪器参数必须使用特定的方法优化)。下面列举了设置 LECO FP-2000 的一些例子:

炉温: 1150℃

喷枪流速: 1.0L/min

吹洗速度: 4.5L/min

TC 细胞敏感性: 1500

氮转化因子: 6.25 (肉及肉制品)

- b. 打印机: 9pin, Okidata Microline 320

C. 试剂和溶剂

试剂:

可用等效的试剂替代

- N-催化剂: LECO No.502-049。
- 吸水剂: 高氯酸镁, LECO No.501-171。
- LECO 吸收剂: 硅酸盐载体上的氢氧化钠, LECO No.502-174。
- 硅润滑油: LECO No.501-241。
- 检漏溶液: LECO No.502-213。
- 铜棒: LECO No.502-304-500。
- 铜弯头: LECO No.501-621。
- 用于填塞炉过滤器的玻璃棉: LECO No.501-081。
- 钢丝绒: LECO No.502-310。
- 钢瓶: 压缩空气, 医用质量。
- 钢瓶: 氧气, 纯度 99.99%, Airco 4.4 级。
- 钢瓶: 氦气, 纯度 99.99%, Airco 5.0 级。

D. 标准

烧校准 EDTA:

纯度大约 99.5% 的催化量的 No.25, 404-5 (Aldrich 化学公司), 或其他合适的高纯度已知氮含量的有机物质。

将纯度 (%) 乘以 59.91 [6.25 × EDTA 中的 N (%) (9.586%)] 可测定标准的肉蛋白当量 (%)。

注意: 每种方法都必须建立标准曲线 (见 LECO 手册), 若有需要, 经常分析 3 种以上 EDTA 标准并利用漂移校正因子校正曲线的漂移。

E. 样品准备

使用商用型食品加工机处理样品, 得到均匀的混合物。

F. 分析步骤

1. LECO FP-2000 的操作

按照操作说明手册上的步骤准备仪器 (如填塞试剂管、检漏等):

- 在陶瓷器皿中称取 0.2 ~ 1.0g 样品。
 - 在热对流烘箱中在 101°C 干燥 5 ~ 45 分钟, 随后放入干燥器中冷却并保存至放入仪器前。
- 注意: 样品在分析前必须保存在干燥器中。

2. LECO FP-2000 设置

- 测定 5 次以上空白至数值不再变化并低于 0.375 % 的蛋白, 用最后三个连续值来校正空白漂移。
- 测定 4 次以上 EDTA 标准至三个连续值均小于 0.15% 的蛋白, 用最后三个连续值来校

正 EDTA 漂移。

3. 样品分析

- 将一批样品放入自动进样器中（为了控制质量，每 8 个样品必须有一个 EDTA 标准。如果仪器在运行中发生漂移，这些 EDTA 标准可用来校正漂移，样品得以重新计算）。
- 按照进样架上的顺序输入标准和肉样的重量，这些重量可以从界面上的天平手动输入，也可以从软盘输入。
- 分析样品。

G. 结论

结论可由数据处理系统自动得出，除非氮因子 6.25（对于肉样）在方法设置时预先输入，否则这些结果将显示氮（%）的含量。如果在测定过程中 EDTA 样品比理论蛋白当量多 0.2，则必须进行漂移校正。正确的 EDTA 之前和之后的 4 个样品必须重新计算。

H. 危险分析

1. 方法名称

燃烧法测定蛋白质。

2. 所需的保护性器材

防护手套、隔热手套、橡胶手套以及实验服。

3. 危险

步骤	危险	建议的安全措施
仪器在 220V 交流电下运行，有一高电压	可造成严重的烧伤或电击	关掉仪器，进入仪器室时手上和臂上不可有金属物
坩锅燃烧管和还原管	极热（700 ~ 1150℃）	让其冷却或在热的时候使用合适的工具
纯氧	易爆炸	移去实验室所有的火源
压缩气体钢瓶	易爆炸	牢牢固定钢瓶，钢瓶阀打开前附加两级调节器

I. 质量保证计划

1. 执行标准

被分析物	分析范围	重复性	再现性
蛋白质	1	<0.24 ²	<0.32 ²

1 由于样品大小和种类的变化，限度也会发生改变。

2 是过去数据基础上的标准偏差。

2. 关键控制点和规范

记录	合适的控制
样品条件	样品在放入自动进样器的样品架前必须干燥
强制通风烘箱	101℃
样品重量	0.2 ~ 1.0g
	注意：若总蛋白（%）超出标准范围应减少样品量

续表

记 录	合适的控制
装样瓶	连续分析 49 次后是空的
还原试剂	分析 600 次后应重新填塞管子
钢丝绒	对于含有卤素的样品, 应加入玻璃棉微过滤器中
玻璃棉微过滤器	当有灰尘或其他污染物时必须更换
校准温度计	用于有 NIST 示踪温度计的强制通风烘箱
管线微过滤器	若燃烧吸入压力超过 10psi, 必须更换

3. 操作准备 (FSIS 培训计划)

熟悉

- i. 观察公认的分析者进行操作并测定空白和 EDTA 标准。
- ii. 分析以前的已知蛋白含量的样品。
注意: i 和 ii 应同时进行。
- iii. 用 36 个检测样品来检查分析者的资格
 - (a) 样品由 FSIS 公认的实验室计划 (ALP) 提供。
 - (b) 向 ALP 报告分析结果。
 - (c) 开始法定分析应有 ALP 的通告。

4. 实验室内部检测样品

- a. 系统, 最小含量
 - i. 频率: 若分析样品, 每位分析者每星期一次。
 - ii. 初始分析后由主管者选择盲目抽样或随机重复抽样。
 - iii. 分析者做好记录, 由主管者和实验室质保经理 (QAM) 进行检阅。
- b. 适用性标准
参考 J.I., 操作标准
若得到不可接受值, 应采取如下措施:
 - i. 停止分析者的所有法定分析。
 - ii. 调查并确定可能的原因。
 - iii. 采取正确的措施。

5. 实验室外部检测样品计划

- a. 系统, 最小含量
 - i. 频率: 每隔一个月一次。
 - ii. 样品: 由 FSIS 提供。
 - iii. 根据提供者的规范向其报告分析结果。
- b. 适用性标准
若得到不可接受值, 应采取如下措施:
 - i. 停止分析者的所有法定分析。
 - ii. 调查并确定可能的原因。
 - iii. 采取正确的措施。

6. 样品适用性和稳定性

- a. 基质: 新鲜的和加工过的肉类和家禽类产品。
- b. 取样大小, 最小量: 500g。
- c. 取样条件: 未受损的和密封的。

d. 样品保存:

时间和条件: 冷冻 24 个月或者冷藏 1~3 个星期。

7. 灵敏度

方法检测限 (MDL): 0.2%。

8. 样品安排

a. 1~20 个样品。

b. 一个质量控制 (QC) 样品。