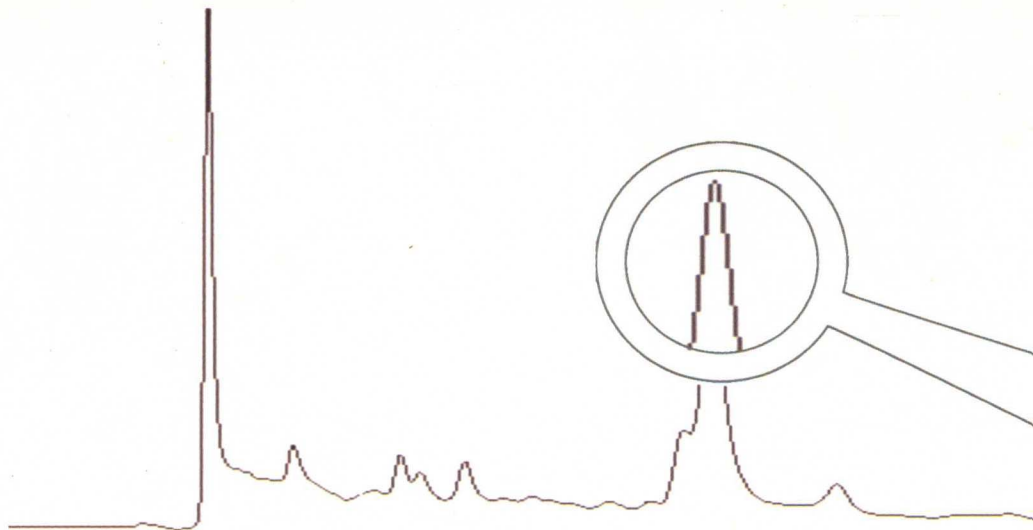




水产品中有毒有害物质 残留检测操作手册(下卷)



农业部渔业局
中国水产科学研究院

编

水产品中有毒有害物质 残留检测操作手册 (下卷)

农业部渔业局
中国水产科学研究院



中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

水产品中有毒有害物质残留检测操作手册. 下卷 /
农业部渔业局, 中国水产科学研究院编. —北京: 中国
农业出版社, 2013. 12

ISBN 978 - 7 - 109 - 18771 - 9

I. ①水… II. ①农… ②中… III. ①水产品-残留
毒害-残留量测定-技术手册 IV. ①TS254.7 - 62

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 310203 号

中国农业出版社出版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号)
(邮政编码 100125)
责任编辑 林珠英 黄向阳

北京中科印刷有限公司印刷 新华书店北京发行所发行
2014 年 1 月第 1 版 2014 年 1 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 21.75

字数: 550 千字

定价: 68.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

《水产品中有毒有害物质残留检测操作手册（下卷）》

编 委 会

主 任 李彦亮

副主任 崔国辉 陈家勇

委 员 (按姓名笔画排序)

马 兵	牟振波	宋 恂	李宝华	杨贤庆	张秀珍
郑光明	郑福来	段青源	贾 丽	郭云峰	郭远明
蔡友琼	翟毓秀				

主 编 崔国辉 陈家勇

副主编 马 兵 郭云峰 宋 恂

编写人员 (按姓名笔画排序)

于 欢	马 丹	王海涛	王 媛	尹 怡	叶红梅
田良良	史永富	邢红艳	邢丽红	任利华	刘丽娟
刘爱英	刘慧慧	江艳华	孙国华	李兆千	李 强
杨贤庆	沈晓盛	张小军	张天闻	陈中祥	尚德荣
郑 丹	姚 琳	宫向红	赵春晖	赵艳芳	钟惠英
徐英江	高丽娜	郭远明	郭萌萌	梅光明	黄冬梅
黄奕雯	惠芸华				

统 稿 李 强 于慧娟 叶 玫 沈晓盛 赵艳芳 严 华

前言

为保证检测结果的准确性和科学性，规范并提升水产品中有毒有害物质检测水平和能力，农业部渔业局和中国水产科学研究院继续组织有关专家编写了《水产品中有毒有害物质残留检测操作手册》（下卷）。本书由从事水产品有毒有害物质检测的专家在我国现行标准的基础上，结合日常检测工作编写而成，通过对每项标准进行细化，使之更加适应实验室操作。

《水产品中有毒有害物质残留检测操作手册》分上下两卷，上卷侧重水产品药物残留检测操作规范，下卷共分为八章，涉及重金属、有机污染物、生物毒素、微生物等物质的检测操作规范，并对部分药物残留内容进行了补充。其中，第一章由叶红梅、赵艳芳、李兆千、史永富、梅光明、尚德荣、邢红艳等编写；第二章由杨贤庆、钟惠英、张天闻、王海涛、陈中祥等编写；第三章由江艳华、高丽娜、惠芸华、于欢、郭萌萌、郭远明、郑丹等编写；第四章由刘丽娟、黄奕雯、任利华、马丹、刘爱英、姚琳、沈晓盛、王媛、孙国华等编写；第五章由惠芸华、宫向红、刘慧慧等编写；第六章由田良良、黄冬梅、张小军、尹怡等编写；第七章由邢丽红、徐英江等编写；第八章由王媛、赵春晖、黄冬梅等编写。

本书面向水产品检验和科研机构、水产品生产加工企业等，旨在为从事水产品有毒有害物质残留检测技术人员和相关高等院校学生提供一本实用工具书。

本书在编写过程中，广泛征求了从事水产品检验检测工作的部级、省（市）级质检机构的意见，在此表示感谢。

由于水平和时间有限，难免存在一些疏漏之处，恳请各位读者提出宝贵意见。

编著者

2013年12月

目 录

前言

第一章 重金属检测操作规程	1
第一节 镉	3
水产品中镉的测定——石墨炉原子吸收光谱法	3
第二节 铅	8
水产品中铅的测定——石墨炉原子吸收光谱法	8
第三节 铬	13
水产品中铬的测定——石墨炉原子吸收光谱法	13
第四节 总汞及甲基汞	17
水产品中总汞的测定	17
第一法 原子荧光光谱法	17
第二法 直接测汞仪法	21
水产品中甲基汞的测定——液相色谱-原子荧光法	24
第五节 总砷及无机砷	30
水产品中总砷及无机砷的测定——氢化物原子荧光光度法	30
海藻中无机砷的测定——高效液相色谱-氢化物发生原子荧光法	38
第二章 有机污染物检测操作规程	43
第一节 多环芳烃	45
水产品中苯并(a)芘的测定——高效液相色谱荧光法	45
水产品中16种多环芳烃(PAHs)的测定——气相色谱-质谱法	51
第二节 多氯联苯	65
水产品中指示性多氯联苯含量的测定——气相色谱法	65
第三节 挥发酚	71
水产品中挥发酚残留量的测定——分光光度法	71
第四节 硝基苯	76
水产品中硝基苯残留量的测定——气相色谱法	76
第三章 生物毒素检测操作规程	81
第一节 腹泻性贝类毒素	83
贝类中腹泻性贝类毒素的测定——生物法	83

第二节 麻痹性贝类毒素.....	87
贝类中麻痹性贝类毒素的测定——生物法	87
贝类中麻痹性贝类毒素的测定——液相色谱-串联质谱法	95
第三节 软骨藻酸.....	103
贝类中软骨藻酸的测定——液相色谱-串联质谱法	103
第四节 河豚毒素.....	110
水产品中河豚毒素的测定——液相色谱-荧光检测法	110
鲜河豚中河豚毒素的测定——酶联免疫法	119
第五节 有毒生物胺	124
鱼和虾中有毒生物胺的测定——液相色谱-紫外检测法	124
第四章 微生物检测操作规程	131
水产品中菌落总数的测定	133
水产品中大肠菌群的计数	139
水产品中大肠菌群的快速检测	147
水产品中大肠菌群和大肠杆菌的快速计数法——Petrifilm™测试片法	155
第一法 大肠菌群和大肠杆菌 Petrifilm™测试片直接计数法	156
第二法 大肠菌群和大肠杆菌 Petrifilm™测试片 MPN 法	159
水产品中粪大肠菌群计数	163
水产品中大肠埃希氏菌计数	168
水产品中单核细胞增生李斯特氏菌的检验	181
水产品中沙门氏菌的检验	191
水产品中副溶血性弧菌的检验	206
水产品中空肠弯曲菌的检验	218
第一法 常规培养法	219
第二法 全自动酶联荧光免疫分析仪筛选法	223
水产品中志贺氏菌的检验	231
水产品中金黄色葡萄球菌的检验	245
第五章 抗菌类药物检测操作规程	257
水产品中红霉素残留量的测定——液相色谱-串联质谱法	259
水产品中多西环素残留量的测定——液相色谱法	266
水产品中二氟沙星、达氟沙星、沙拉沙星残留量的测定——液相色谱法	272
第六章 杀虫药物检测操作规程	277
水产品中甲苯咪唑及代谢物残留量的测定——液相色谱法	279
水产品中阿苯达唑及其代谢物残留量的测定——高效液相色谱法	285
水产品中阿苯达唑及其代谢物残留量的测定——液相色谱-串联质谱法	291
水产品中氯苯胍残留量的测定——高效液相色谱法	298

第七章 农药检测操作规程	303
水产品中阿维菌素和伊维菌素残留量的测定——高效液相色谱法	305
水产品中马拉硫磷残留量的测定——气相色谱-质谱法	311
第八章 其他化合物检测操作规程	317
水产品中亚甲基蓝残留量的测定——液相色谱法	319
水产品中亚甲基蓝残留量的测定——液相色谱-串联质谱法	325
水产品中碱性橙残留量的测定——高效液相色谱法	332

第一节

食品中锡的测定——石墨炉原子吸收光谱法

第一章

重金属检测操作规程

1. 适用范围

本标准适用于按照《食品中锡的测定》(GB 5009.15-2003)标准,采用石墨炉原子吸收光谱法测定食品中锡的含量。

2. 检测原理

试样经消解处理后,经石墨炉原子吸收分光光度计测定锡含量。锡原子在石墨炉中经激光激发,在一定波长范围内,其吸收值与锡含量成正比,与标准系列比较定量。

3. 仪器和设备

所用玻璃仪器及采回瓶乙炔气瓶均需在使用前以硝酸溶液(10:3:1 V/V/V)浸泡过夜,用自来水反复冲洗后,再用去离子水冲洗干净,晾干后使用。

4.1 原子吸收分光光度计(配石墨炉及空心阴极灯)。

4.2 微量进样仪。

4.3 加热炉酸装置。

第一节 镉

水产品中镉的测定——石墨炉原子吸收光谱法

1 安全要求

检测人员进入实验区要严格遵守实验室相关规定。实验操作时应佩戴相应的劳动防护用品；样品前处理在通风橱内进行，废弃的化学试剂分类收集到专用容器中集中处理。

2 急救措施

皮肤接触到药品或酸溶液后，立即用清水冲洗；酸、碱溶液溅入眼中，及时用清水灌注。操作时不慎被玻璃器皿割伤，应将伤口保持清洁，伤口内如有异物应小心取出，然后用酒精棉擦洗，涂上红药水，必要时敷上消炎粉包扎，严重时采取止血措施，立即送往医院。

3 适用范围

该操作规程依据《食品中镉的测定》(GB/T 5009.15—2003)编写，适用于水产品可食部分中镉的定量检测。

4 检测原理

试样经酸消解后，注入原子吸收分光光度计石墨炉中，经原子化后，吸收 228.8 nm 共振线，在一定浓度范围，其吸收值与镉含量成正比，与标准系列比较定量。

5 仪器和设备

所用玻璃仪器及聚四氟乙烯内筒均需在每次使用前以硝酸溶液 (1:5, V/V) 浸泡过夜，用自来水反复冲洗后，再用一级水冲洗干净，晾干后使用。

5.1 原子吸收分光光度计 (配石墨炉及镉空心阴极灯)。

5.2 微波消解仪。

5.3 加热赶酸装置。

- 5.4 压力消解罐。
- 5.5 恒温干燥箱。
- 5.6 分析天平：感量 0.001 g。

6 试剂和溶液

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，实验用水符合 GB/T 6682 一级水指标。

- 6.1 氩气：纯度 $\geq 99.99\%$ 。
- 6.2 硝酸：优级纯。
- 6.3 30%过氧化氢。
- 6.4 3.2%硝酸溶液：移取 3.2 mL 硝酸，用水稀释至 100 mL。
- 6.5 5%硝酸溶液：移取 5.0 mL 硝酸，用水稀释至 100 mL。
- 6.6 1 000 mg/L 镉标准储备液：国家标准溶液。
- 6.7 10.0 mg/L 镉标准中间液：准确移取镉标准储备液 1.00 mL 至 100 mL 容量瓶中，用 5%硝酸溶液定容，摇匀。冷藏保存，有效期 3 个月。
- 6.8 100 $\mu\text{g/L}$ 镉标准使用液：准确移取镉标准中间液 1.00 mL 至 100 mL 容量瓶中，用 5%硝酸溶液定容，摇匀。冷藏保存，有效期 1 个月。

7 检验步骤

7.1 试样预处理

干制水产品用粉碎机打成均匀粉末状，常温保存；鲜水产品取可食部分，切成约 0.5 cm $\times$ 0.5 cm $\times$ 0.5 cm 的小块，用匀浆机充分匀浆，冷冻保存。

7.2 试样消解

7.2.1 压力消解罐消解法

称取 1.00~3.00 g（精确到 0.001 g）试样（或按压力消解罐使用说明书称取样品）于聚四氟乙烯内罐，加硝酸 2~4 mL 浸泡过夜。再加 30%过氧化氢 2~3 mL（总量不能超过罐容积的 1/3），盖好内盖，旋紧不锈钢外套，放入恒温干燥箱，120~140 $^{\circ}\text{C}$ 保持 3~4 h。在箱内自然冷却至室温，将内罐取出放在加热赶酸装置上进行赶酸，设定赶酸温度在 120~160 $^{\circ}\text{C}$ ，将消解液赶至近干，停止加热，冷却后将消解液移至 10 mL 或 25 mL 容量瓶中，用水少量多次洗涤内罐，洗液合并于容量瓶中，定容，混匀备用。

7.2.2 微波消解法

称取 1.00~2.00 g（精确到 0.001 g）（干性样品 0.200 g 左右）试样于微波消解罐内，加入硝酸 8 mL 放置过夜。再加 30%过氧化氢 4 mL，盖好内盖，旋紧外盖，然后将消解罐放入微波消解仪中，按设定好的最佳仪器分析条件进行消解，微波消解参考条件见表 1-1。待消解程序结束，微波消解系统控制温度降至 100 $^{\circ}\text{C}$ 以下，将消解罐放在加热赶酸

装置上进行赶酸，设定赶酸温度在 120~160℃，将消解液赶至近干，停止加热，冷却后将消解液移至 10 mL 或 25 mL 容量瓶中，用水少量多次洗涤内罐，洗液合并于容量瓶中，定容，混匀备用。

表 1-1 微波消解参考条件

步 骤		1	2	3	4
功率/W	内圈	800	800	800	800
	外圈	1 600	1 600	1 600	1 600
	内圈+外圈	1 600	1 600	1 600	1 600
温度/℃		120	160	180	冷却
爬坡时间/min		5	5	10	—
保持时间/min		5	5	20	20

7.3 测定

7.3.1 仪器条件

根据各自仪器性能将仪器调至最佳状态。参考条件为：波长 228.8 nm，狭缝 0.5~1.0 nm，灯电流 8~10 mA；干燥温度 120℃，20 s；灰化温度 400~500℃，15~20 s；原子化温度 1 500~1 700℃，3~5 s。背景校正为塞曼效应。

7.3.2 标准曲线绘制

取 100 μg/L 镉标准使用液，用仪器在线稀释至 0.40、0.80、1.2、1.6、2.0 μg/L，分别吸取 20 μL 注入石墨管中，测定不同浓度吸光值，计算吸光值与浓度的线性关系，线性相关系数大于 0.995。

7.3.3 试样测定

分别吸取样液和试剂空白液各 20 μL 注入石墨炉中，测得其吸光值，样品制备液吸光值应在标准曲线线性范围内，将吸光值代入线性回归方程中，求得样液中镉含量。

7.3.4 基体改进剂的使用

对有干扰试样，在样品消解液中加入小于 5 μL 的基体改进剂，再进行测定。

7.3.5 空白试验

除不加样品外，均按上述测定条件和步骤进行。

7.3.6 质量控制

在样品测定的同时，应采用与样品基质类似的有证标准物质进行测定。如检测值与标准值的误差超过允许范围，则该批样品需重新测定。

8 记录与计算

8.1 记录

8.1.1 原始记录

原始记录应包含足够的信息，能再现检测全过程，至少包括样品名称和编号、检验方

法、检测日期、检测地点、环境条件、仪器设备名称和编号、仪器分析条件、标准溶液编号、浓度及配制记录、检测过程与量值计算有关的读数、计算公式、质控记录等。检测结果应能从计算公式直接计算出来。

8.1.2 图谱

图谱上应显示分析时间、样品编号、仪器测定条件等。还应包括标准系列各点浓度，与浓度相对应的吸光值及相对应的工作曲线（包括斜率、截距、相关系数），空白样品及标准样品（质控样）的吸光值及相对应浓度。

8.2 计算

试样中镉含量按下式计算：

$$X = \frac{(A_1 - A_2) \times V}{m \times 1000}$$

式中 X ——试样中镉含量（mg/kg）；

A_1 ——测定试样消化液中镉浓度（ng/mL）；

A_2 ——空白消化液中镉浓度（ng/mL）；

V ——试样消解液总体积（mL）；

m ——试样质量（g）。

以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示，计算结果保留 2 位有效数字。

9 方法检出限

0.1 μg/kg。

10 方法精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值，不得超过算数平均值的 20%。

11 注意事项

11.1 样品制备和称量须保证样品的均匀性。

11.2 称量样品时应使用塑料药匙，避免使用金属材质的药匙。

11.3 使用压力消解罐及微波消解仪消解样品时，将样品缓慢放入消化罐底部，避免罐壁粘上肉糜导致消解不完全，影响检测结果；保证罐盖要严密，避免加热时样品溢出。在赶酸阶段，尽量将罐内样品消化液赶至近干，避免罐内液体干枯。

11.4 系列标准溶液的配制，可采用仪器在线稀释的方法或采用手工配制，实际操作过程中可根据仪器性能及样品中镉含量的高低，配制相应的标准溶液。

11.5 根据检测需要，选择合适的基体改进剂，常用的基体改进剂包括硝酸钼、磷酸二氢铵或磷酸二氢铵和硝酸镁的混合剂等。

执笔人：叶红梅

参编人：李兆千 易 伟 张 玲 李宝华

第二节 铅

水产品中铅的测定——石墨炉原子吸收光谱法

1 安全要求

检测人员进入实验区要严格遵守实验室相关规定。实验操作时应佩戴相应的劳动防护用品；样品前处理在通风橱内进行，废弃的化学试剂分类收集到专用容器中集中处理。

2 急救措施

皮肤接触到药品或酸溶液后，立即用清水冲洗；酸、碱溶液溅入眼中，及时用清水灌注。操作时不慎被玻璃器皿割伤，应将伤口保持清洁，伤口内如有异物应小心取出，然后用酒精棉擦洗，涂上红药水，必要时敷上消炎粉包扎，严重时采取止血措施，立即送往医院。

3 适用范围

该操作规程依据《食品安全国家标准 食品中铅的测定》（GB 5009.12—2010）编写，适用于水产品可食部分中铅的测定。

4 检测原理

试样经灰化或酸消解后，注入原子吸收分光光度计石墨炉中，经电热原子化后，吸收283.3 nm共振线，在一定浓度范围，其吸收值与铅含量呈正比，与标准系列比较定量。

5 仪器设备

所用玻璃仪器及聚四氟乙烯内筒均需在每次使用前以硝酸溶液（1:5，V/V）浸泡过夜，用自来水反复冲洗后，再用一级水冲洗干净，晾干后使用。

5.1 原子吸收分光光度计（配石墨炉及铅空心阴极灯）。

5.2 微波消解仪。

5.3 加热赶酸装置。

5.4 马弗炉。

- 5.5 分析天平：感量为 0.001 g。
- 5.6 恒温干燥箱。
- 5.7 瓷坩埚。
- 5.8 压力消解罐。
- 5.9 控温消化器。
- 5.10 消化管：100 mL，定制，具塞有刻度，与控温消化器配套，经与 100 mL 移液管互校，达到刻度精度要求。
- 5.11 可调式控温电热板、可调式电炉。

6 试剂和溶液

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，实验用水符合 GB/T 6682 一级水指标。

- 6.1 氩气：纯度 $\geq 99.99\%$ 。
- 6.2 硝酸：优级纯。
- 6.3 高氯酸：优级纯。
- 6.4 混合酸：硝酸+高氯酸（4：1）。
- 6.5 30%过氧化氢。
- 6.6 3.2%硝酸溶液：移取 3.2 mL 硝酸，用水稀释至 100 mL。
- 6.7 5%硝酸溶液：移取 5.0 mL 硝酸，用水稀释至 100 mL。
- 6.8 1 000 mg/L 铅标准储备液：国家标准溶液。
- 6.9 10.0 mg/L 铅标准中间液：准确移取 1 000 mg/L 铅标准溶液 1.00 mL 至 100 mL 容量瓶中，用 5%硝酸溶液定容，摇匀。冷藏保存，有效期 3 个月。
- 6.10 100 $\mu\text{g/L}$ 铅标准使用液：准确移取铅标准中间液 1.00 mL 至 100 mL 容量瓶中，用 5%硝酸溶液定容，摇匀。冷藏保存，有效期 1 个月。

7 检验步骤

7.1 试样预处理

干制水产品用粉碎机打成均匀粉末状，常温保存；鲜活水产品取可食部分，切成约 0.5 cm $\times$ 0.5 cm $\times$ 0.5 cm 的小块，用匀浆机充分匀浆，冷冻保存。

7.2 试样消解（可根据实验室条件，选用以下任何一种方法消解）

7.2.1 压力消解罐消解法

称取 1.00~3.00 g（精确到 0.001 g）试样（或按压力消解罐使用说明书称取样品）于聚四氟乙烯内罐，加硝酸 2~4 mL 浸泡过夜。再加 30%过氧化氢 2~3 mL（总量不能超过罐容积的 1/3），盖好内盖，旋紧不锈钢外套，放入恒温干燥箱，120~140 $^{\circ}\text{C}$ 保持 3~4 h。在箱内自然冷却至室温，将内罐取出放在加热赶酸装置上进行赶酸，设定赶酸温度在 120~160 $^{\circ}\text{C}$ ，将消解液赶至近干，停止加热，冷却后将消解液移至 10 mL 或 25 mL