



中华人民共和国国家标准

GBxxxx—20xx

食品安全国家标准 动物性食品中碘醚柳胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of rafoxanide residues in animal derived food by
liquid chromatography- tandem mass spectrometry
(征求意见稿)

xxxx-xx-xx 发布

xxxx-xx-xx 实施

中华人民共和国农业农村部
中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局

发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

征求意见稿

食品安全国家标准

动物性食品中碘醚柳胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了牛羊可食性组织及牛奶、羊奶中碘醚柳胺药物残留检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于牛和羊的肌肉、脂肪、肝脏、肾脏和牛奶、羊奶中碘醚柳胺残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中残留的碘醚柳胺，用1%三乙胺乙腈溶液超声提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱测定，外标法定量。

5 试剂与材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

5.1.2 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

5.1.3 氨水（ $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ）。

5.1.4 甲酸（ HCOOH ）。

5.1.5 三乙胺 ($C_6H_{15}N$)。

5.2 溶液配制

5.2.1 0.1%氨水溶液：取氨水 1 mL，用水稀释至 1000 mL。

5.2.2 1%三乙胺乙腈溶液：取三乙胺 1 mL，用乙腈稀释至 100 mL。

5.2.3 25%氨化乙腈溶液：取氨水 25 mL，用乙腈稀释至 100 mL。

5.2.4 5%甲酸乙腈溶液：取甲酸 5 mL，用乙腈稀释至 100 mL。

5.3 标准品

碘醚柳胺 (Rafoxanide, $C_{19}H_{11}Cl_2NO_3$, CAS 号: 22662-39-1): 含量 $\geq 99.0\%$ 。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液：取碘醚柳胺标准品适量（相当于有效成分约 10 mg），精密称定，用乙腈溶解并定容于 10 mL 棕色容量瓶中，配制成浓度为 1.0 mg/mL 的碘醚柳胺标准储备液。-18 °C 保存，有效期 6 个月。

5.4.2 标准中间液：精密量取 1.0 mg/mL 的碘醚柳胺标准储备液 1 mL，用乙腈稀释并定容于 100 mL 棕色容量瓶中，配制成浓度为 10 μ g/mL 的碘醚柳胺标准工作液。-18 °C 保存，有效期 3 个月。

5.4.3 标准工作液：精密量取 10 μ g/mL 的碘醚柳胺标准工作液 1 mL，用乙腈稀释并定容于 100 mL 棕色容量瓶中，配制成浓度为 100 μ g/L 的标准工作液，2~8°C 保存，有效期为 1 个月。

5.5 材料

5.5.1 混合型强阴离子交换固相萃取柱：60 mg/3 mL，或相当者。

5.5.2 微孔尼龙滤膜：0.22 μ m。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源。

6.2 分析天平：感量 0.000 01 g 和感量 0.01 g。

6.3 超声波清洗器。

6.4 离心机：转速 5000 r/min。

6.5 涡旋混合器。

6.6 固相萃取装置。

6.7 氮吹仪。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的供试组织，绞碎，并使均质；取适量新鲜或解冻的供试奶，混合均匀。

- a) 取均质的供试样品，作为供试试样。
- b) 取均质的空白样品，作为空白试样。
- c) 取均质的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

7.2 试样的保存

-18 °C以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试料(2±0.05) g，置于50 mL聚丙烯离心管中，加10.0 mL 1%三乙胺乙腈溶液，涡旋混匀1 min，超声提取10 min，5000 r/min离心5 min，收集上清液至另一50 mL离心管中。残渣中加10.0 mL 1%三乙胺乙腈溶液，重复提取一次，合并两次上清液，混匀，取提取液5.0 mL备用。

8.2 净化

混合型强阴离子交换固相萃取柱用25%氯化乙腈溶液5 mL活化，取备用液过柱，用乙腈5 mL淋洗，抽干，用5%甲酸乙腈溶液5 mL洗脱，收集洗脱液，45 °C水浴氮气吹干。加入甲醇2.0 mL，涡旋1 min溶解残余物，微孔滤膜过滤，供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.3 标准曲线的制备

精密量取10 µg/mL和100 µg/L碘醚柳胺标准工作液适量，用甲醇稀释配制成碘醚柳胺浓度分别为0.2 µg/L、1.0 µg/L、5.0 µg/L、20 µg/L、50 µg/L、100 µg/L、150 µg/L系列标准工作溶液，临用现配，供液相色谱-串联质谱测定。以测试药物对应的特征离子质量色谱峰面积为纵坐标，标准溶液浓度为横坐标绘制标准曲线。求回归方程和相关系数。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C₁₈柱（150mm×2.1mm，粒径1.8µm），或相当者；
- b) 柱温：30 °C；

- c) 进样量: 10 μL ;
- d) 流速: 0.3 mL/min;
- e) 流动相: A: 0.1%氨水溶液, B: 甲醇;
- f) 梯度洗脱: 流动相梯度洗脱条件见表1。

表1 梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	70	30
5	0	100
8	0	100
8.1	70	30
10.0	70	30

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源: 电喷雾 (ESI) 离子源;
- b) 扫描方式: 负离子扫描;
- c) 检测方式: 多反应监测;
- d) 喷雾电压: -4500 V;
- e) 离子源温度: 550 $^{\circ}\text{C}$;
- f) 雾化气压力 (Gas1): 379 kpa;
- g) 辅助加热气压力 (Gas2): 234 kpa;
- h) 气帘气压力 (Curtain gas): 241 kpa;
- i) 测试药物定性离子对、定量离子对及对应的去簇电压和碰撞能量见表2。

表2 碘醚柳胺的定性离子对、定量离子对及对应去簇电压和碰撞能量

被测物名称	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	去簇电压 V	碰撞能量 eV
碘醚柳胺	623.7>126.9	623.7>126.9	-100	-110
	623.7>344.8			-50

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在相同测试条件下，试料溶液中碘醚柳胺与校正标准溶液中碘醚柳胺的保留时间偏差在±0.1min 以内；且检测到的相对离子丰度，应与浓度相当的校正标准溶液相对离子丰度一致。其允许偏差为±40%。

8.4.3.2 定量测定

取试料溶液和标准溶液，作单点或多点校准，按外标法定量。标准溶液及试料溶液中目标物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述液相色谱—串联质谱条件下，标准溶液特征离子质量色谱图参见附录A。

8.5 空白试验

取空白试料，除不加药物外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中碘醚柳胺的残留量按标准曲线或公式（1）计算：

$$X = \frac{A \times C_s \times V_1 \times V_3}{A_s \times V_2 \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X—试样中碘醚柳胺残留量的数值，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

A—试料溶液中碘醚柳胺的峰面积；

A_s —标准溶液中碘醚柳胺的峰面积；

C_s —标准溶液中碘醚柳胺浓度的数值，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；

V_1 —提取用1%三乙胺乙腈总体积的数值，单位为毫升（mL）；

V_2 —过固相萃取小柱所用提取液体积的数值，单位为毫升（mL）；

V_3 —试料最终定容体积的数值，单位为毫升（mL）；

m —供试试料质量的数值，单位为克（g）。

注：计算结果以平行测定结果的算术平均值表示，保留 3 位有效数字。

10 检测方法的灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法对碘醚柳胺的检出限为1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法碘醚柳胺在牛肝、牛奶奶2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；牛肉、牛脂肪2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；牛肾2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；羊肉2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；羊肝、羊肾2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；羊脂肪2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为70%~120%。

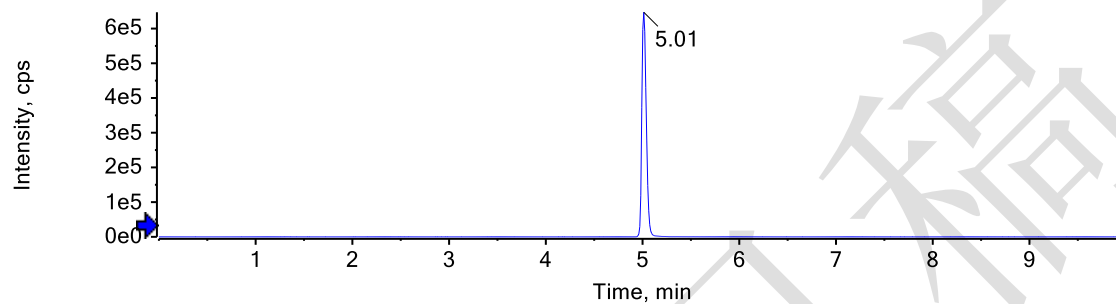
10.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附录 A
(资料性)
标准溶液特征离子质量色谱图

碘醚柳胺标准溶液特征离子质量色谱图见图A.1

XIC from dmla20210715.wiff (sample 52) - std1ng/ml, -MRM (3 transitions): DMLA 1 (623.7 / 126.9)



XIC from dmla20210715.wiff (sample 52) - std1ng/ml, -MRM (3 transitions): DMLA 2 (623.7 / 344.8)

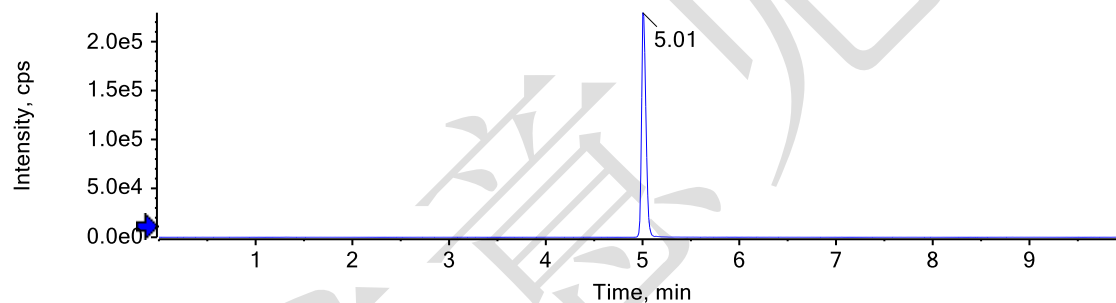


图 A.1 碘醚柳胺标准溶液特征离子质量色谱图 (1.0 $\mu\text{g/L}$)

征求意见稿