



中华人民共和国国家标准

GB *****—20**

食品安全国家标准
羊可食性组织中地昔尼尔残留量的测定
液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of dicyclanil in sheep edible tissues by liquid
chromatography-tandem mass spectrometric method
(公开征求意见稿)

20**-**-**发布

20**-**-**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

羊可食性组织中地昔尼尔残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了羊可食性组织中地昔尼尔残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于羊的肌肉、脂肪、肝脏和肾脏中地昔尼尔残留量的检测，其他畜禽产品的检测可以参照执行。

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本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

试样中残留的地昔尼尔用乙酸乙酯溶液提取，正己烷除脂，HLB柱净化，液相色谱-串联质谱测定，基质匹配标准曲线校正，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

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。

5.1.1 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

5.1.2 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

5.1.3 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。

5.1.4 乙酸乙酯（ $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ）。

5.1.5 正己烷（ C_6H_{14} ）。

5.1.6 无水硫酸钠 (Na_2SO_4)。

5.2 溶液配制

5.2.1 20%甲醇溶液：取 200 mL 甲醇，用水稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.2 0.1%甲酸溶液：取 1 mL 甲酸，用水稀释至 1000 mL，混匀。

5.3 标准品

地昔尼尔 (Dicyclanil, $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_6$, CAS: 112636-83-6)，含量 $\geq 99.9\%$ 。

5.4 标准溶液的制备

5.4.1 标准储备液：取地昔尼尔标准品 10 mg，精密称定，加乙腈适量使溶解并稀释定容至 100 mL 容量瓶，配制成浓度为 $100\ \mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。 -18°C 以下避光保存，有效期 6 个月。

5.4.2 标准工作液：精密量取标准储备液 0.1 mL 于 100 mL 容量瓶中，用乙腈稀释至刻度，配制成浓度为 $1\ \mu\text{g/mL}$ 的标准工作液。 -18°C 以下避光保存，有效期 3 个月。

5.4.3 标准系列工作液：精密量取标准工作液适量，用 20%甲醇水溶液稀释，配制浓度为 $5\ \text{ng/mL}$ 、 $10\ \text{ng/mL}$ 、 $25\ \text{ng/mL}$ 、 $50\ \text{ng/mL}$ 、 $100\ \text{ng/mL}$ 、 $250\ \text{ng/mL}$ 、 $500\ \text{ng/mL}$ 的标准系列工作液。

5.5 材料

5.5.1 亲水亲脂固相萃取柱：6 mL/500 mg，或性能相当者。

5.5.2 微孔尼龙滤膜： $0.22\ \mu\text{m}$ 。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源 (ESI)。

6.2 分析天平：感量 $0.00001\ \text{g}$ 和 $0.01\ \text{g}$ 。

6.3 高速离心机：转速可达 $10000\ \text{r/min}$ 。

6.4 涡旋振荡器。

6.5 固相萃取装置。

6.6 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空白或供试组织，绞碎，并使均质。

——取匀浆后的供试样品，作为供试试样。

——取匀浆后的空白样品，作为空白试样。

——取匀浆后的空白样品，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℃以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试料 (2 ± 0.02) g，于 50 mL 离心管中，加无水硫酸钠 2 g，加乙酸乙酯溶液 10 mL，漩涡振荡 10 min，10000 r/min 离心 5 min，上清液转入另一 50 mL 离心管中。10 mL 乙酸乙酯重复提取一次，合并两次上清液，于 50℃氮气吹干。用 20% 甲醇水 10 mL 溶解残余物，加正己烷 10 mL 除脂，漩涡振荡 5 min，10000 r/min 离心 5 min，弃去上层正己烷，下层溶液备用。

8.2 净化

固相萃取柱依次用甲醇 5 mL 和水 5 mL 活化。取全部备用液过柱，用 20% 甲醇水 5 mL 淋洗，抽干，甲醇 5 mL 洗脱，收集全部洗脱液，于 50℃氮气吹干，用 20% 甲醇水 2.0 mL 溶解残余物，过微孔尼龙滤膜后上机测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

精密量取标准系列工作液各取 1.0 mL，分别加于经提取、净化步骤处理的空白试样中，溶解残余物，过微孔尼龙滤膜后，供液相色谱-串联质谱测定。以地昔尼尔定量离子质量色谱峰面积为纵坐标，基质匹配标准溶液浓度为横坐标，绘制基质匹配标准曲线。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: C_{18} (100×2.1 mm, 1.7 μ m)，或相当者；
- b) 柱温: 35℃；
- c) 进样量: 5 μ L；
- d) 流速: 0.3 mL/min；

e) 流动相：A：0.1%甲酸水溶液，B：甲醇，流动相梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间, min	A, %	B, %
0	95	5
1.0	95	5
3.0	20	80
3.8	20	80
4.0	95	5
5.5	95	5

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 检测方式：多反应离子监测（MRM）；
- d) 喷雾电压：1.0 kV；
- e) 鞘气：2 L/Min；
- f) 辅助气：10 L/Min；
- g) 离子迁移管温度:300℃；
- h) 雾化温度：300℃；
- i) 定性、定量离子对、射频电压和碰撞能量参考值见表2。

表2 地昔尼尔特征离子参考质谱条件

化合物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	射频电压 V	碰撞能 eV
地昔尼尔	191.2>150.2	191.2>150.2	98	20
	191.2>163.1			10

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在相同测试条件下,试样溶液中地昔尼尔与校正标准溶液中地昔尼尔的保留时间偏差在 $\pm 0.1\text{min}$ 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 $\pm 40\%$ 。

8.4.3.2 定量测定

取试料溶液和基质匹配标准溶液,作单点或多点校准,按外标法以峰面积定量。基质匹配标准溶液及试样溶液中待测物响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱-质谱条件下,基质匹配标准溶液的特征离子质量色谱图见附录A。

8.5 空白试验

除不加试料外,采用完全相同的测定步骤进行测定。

9 结果计算

试样中地昔尼尔的残留量按标准曲线或公式(1)计算:

$$W = \frac{C_s \times A_i \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——试样中地昔尼尔的残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g/kg}$);

C_s ——标准溶液中地昔尼尔浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

A_i ——试样溶液中地昔尼尔峰面积;

A_s ——标准溶液中地昔尼尔峰面积;

V ——溶解残渣的20%甲醇体积,单位为毫升(mL);

m ——供试试样的质量,单位为克(g)。

注:计算结果不小于 $1\mu\text{g/kg}$ 的保留3位有效数字, $1\mu\text{g/kg}$ 以下保留至小数点后2位。

10 方法灵敏度、正确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法的检出限为 $2\mu\text{g/kg}$,定量限为 $5\mu\text{g/kg}$ 。

10.2 正确度

本方法在 $5\mu\text{g/kg} \sim 400\mu\text{g/kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $60\% \sim 120\%$ 。

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 $\leq 15\%$ 。

附录 A
(资料性)

地昔尼尔基质匹配标准溶液特征离子质量色谱图

地昔尼尔基质匹配标准溶液特征离子质量色谱图见图 A.1

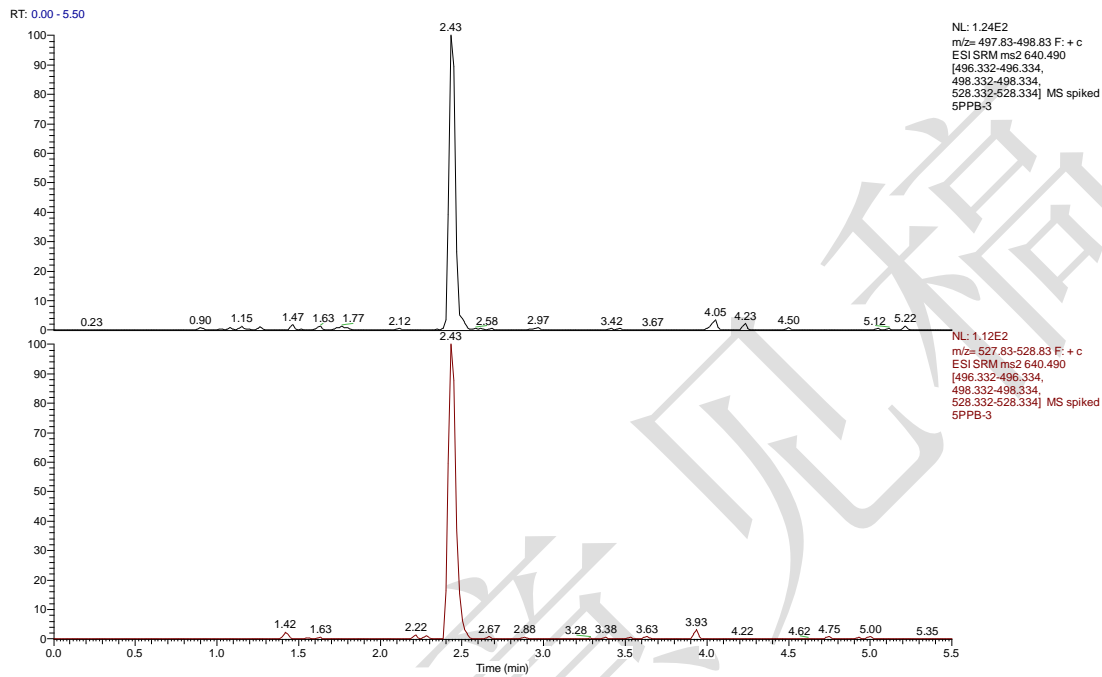


图 A.1 地昔尼尔基质匹配标准溶液特征离子质量色谱图（10 ng/mL）