



# 中华人民共和国国家标准

GB xxxx—xxxx



## 食品安全国家标准 动物性食品中地克珠利、托曲珠利残留量 的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-

Determination of diclazuril and toltrazuril 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 发布  
国家市场监督管理总局

## 前 言

本标准按照 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。

# 食品安全国家标准

## 动物性食品中地克珠利、托曲珠利残留量的测定

### 液相色谱-串联质谱法

#### 1 范围

本文件规定了动物可食组织中地克珠利、托曲珠利残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于猪、牛、羊、鸡、鸭、兔的肌肉、肝脏、肾脏和脂肪中地克珠利、托曲珠利残留量的测定。

#### 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

试样中残留的地克珠利和托曲珠利，用乙腈提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱测定，内标法定量。

#### 5 试剂和材料

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（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

5.1.2 甲醇（ $\text{CH}_3\text{OH}$ ）：色谱纯。

5.1.3 甲酸（ $\text{HCOOH}$ ）：色谱纯。

5.1.4 N,N-二甲基甲酰胺（ $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$ ）：色谱纯。

5.1.5 无水硫酸钠（ $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ）：经 650 °C 灼烧 4 h，置于干燥器中密封保存，1 个月内使用。

##### 5.2 溶液配制

5.2.1 0.1% 甲酸溶液：取甲酸 1.0 mL，用水稀释至 1000 mL，混匀。

##### 5.3 标准品

地克珠利、托曲珠利、地克珠利-D<sub>4</sub>、托曲珠利-D<sub>3</sub> 标准品含量均≥95%，中英文名称、分子式和 CAS 号等见附录 A。

#### 5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备溶液（1 mg/mL）：称取地克珠利和托曲珠利标准品各约10 mg于10 mL容量瓶，精密称定，先用2 mL N,N-二甲基甲酰胺溶解，再用甲醇稀释至刻度，分别配制成浓度为1 mg/mL的地克珠利和托曲珠利标准储备液，-18 °C以下保存，有效期12个月。

5.4.2 内标标准储备溶液（1 mg/mL）：精密称取地克珠利-D<sub>4</sub>和托曲珠利-D<sub>3</sub>标准品各10 mg于10 mL容量瓶，先用2 mL N,N-二甲基甲酰胺溶解，再用甲醇稀释至刻度，分别配制成浓度为1 mg/mL的地克珠利-D<sub>4</sub>和托曲珠利-D<sub>3</sub>标准储备液，-18 °C以下保存，有效期12个月。

5.4.3 混合标准中间液（10 µg/mL）：准确量取标准储备溶液1mL，于100 mL容量瓶，用甲醇稀释至刻度，配成浓度为10 µg/mL的混合标准中间液，-18 °C以下保存，有效期3个月。

5.4.4 混合内标标准中间液（10 µg/mL）：准确量取内标标准储备溶液1mL，于100 mL容量瓶，用甲醇稀释至刻度，配成浓度为10 µg/mL的混合内标标准中间液，-18 °C以下保存，有效期3个月。

5.4.5 混合标准工作液（1µg/mL）：准确量取混合标准中间液 1 mL，于 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为 1µg/mL 的混合标准工作液，4 °C以下保存，有效期 1 个月。

5.4.6 混合内标标准工作液（1µg/mL）：准确量取混合内标标准中间液 1 mL，于 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为 1µg/mL 的混合内标标准工作液，4 °C以下保存，有效期 1 个月。

#### 5.5 材料

5.5.1 固相萃取柱：通过式亲水亲酯固相萃取柱，3 mL（60 mg），或性能相当者。

5.5.2 微孔滤膜：0.22 µm有机相。

### 6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有大气压化学离子源（APCI）。

6.2 分析天平：感量为0.01 g和感量0.00001 g。

6.3 组织捣碎机。

6.4 固相萃取装置。

6.5 均质器。

6.6 涡旋混匀器。

6.7 离心机：转速不低于10000 r/min。

### 7 试样制备与保存

#### 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。

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

取试样 ( $5 \pm 0.05$ ) g 于 50 mL 离心管, 加入 10  $\mu\text{g/mL}$  混合内标标准中间溶液 20  $\mu\text{L}$ , 乙腈 20.0 mL 和无水硫酸钠 4 g, 涡旋 30 s 混匀, 涡旋振荡 2 min (脂肪样品加入 1 粒陶瓷均质子), 超声提取 15 min。以 10000 r/min 离心 5 min, 取适量上清液, 备用。

## 8.2 净化

将固相萃取柱置于固相萃取架上, 取备用液 1.5 mL 加至固相萃取柱上, 收集全部流出液过微孔滤膜后供液相色谱-串联质谱仪测定。

## 8.3 标准曲线的制备

精密量取混合标准工作液和混合内标标准工作液适量, 用乙腈稀释成浓度为 1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、10.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100 ng/mL、500 ng/mL 的混合标准溶液, 其中内标浓度为 10.0 ng/mL, 现用现配, 供液相色谱-串联质谱测定。以测得特征离子质量色谱峰外标和内标峰面积比为纵坐标、对应的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

- 色谱柱:  $\text{C}_{18}$  (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ), 或相当者;
- 柱温: 35  $^{\circ}\text{C}$ ;
- 流动相: A相, 含 0.1% 甲酸水溶液; B相, 乙腈。梯度程序见表 1;
- 流速: 0.4 mL/min;
- 进样量: 5  $\mu\text{L}$ 。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0.00	90	10
1.00	90	10
4.00	10	90
6.00	10	90
6.10	90	10
8.00	90	10

### 8.4.2 质谱参考条件

- 离子源: 大气压化学离子源;
- 扫描模式: 负离子扫描;
- 检测方法: 多反应监测 (MRM);
- 离子源温度: 250  $^{\circ}\text{C}$ ;
- 毛细管温度: 200  $^{\circ}\text{C}$ ;
- 加热模块温度: 200  $^{\circ}\text{C}$ ;

- g) 氮气流速: 3.0 L/min;
- h) 干燥气流速: 10.0 L/min;
- i) 其他质谱参数见表2。

表2 目标物的参考保留时间和部分质谱参数

名称	保留时间 (min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	Q1 电压 (V)	碰撞能量 (CE/eV)	Q3 电压 (V)
地克珠利	4.97	405.0	334.0*	19	20	11
			335.0	11	17	27
托曲珠利砒	4.78	388.1	288.0*	18	17	23
			248.1	28	27	28
地克珠利-D <sub>4</sub>	4.97	413.0	342.0*	14	20	20
托曲珠利砒-D <sub>3</sub>	4.78	391.0	288.0*	17	18	17

注: \*为定量离子

## 8.5 测定方法

### 8.5.1 定性测定

在相同测试条件下, 试样溶液中的目标物与其同位素内标的保留时间之比与标准溶液中目标物与其同位素内标的保留时间之比, 偏差在 1% 以内, 且样品中被测组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较, 偏差不超过± 40%, 则可判定为样品中存在对应的待测物。

### 8.5.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准溶液, 作单点或多点校准, 按内标法以峰面积比计算。试样溶液及标准溶液中目标物和同位素内标峰面积应在仪器检测的线性范围之内。对于残留量超出仪器线性范围的, 在提取时根据药物浓度相应增加内标工作液的添加量, 使试样溶液稀释后目标物的浓度在曲线范围之内, 对应内标浓度与标准工作液一致。地克珠利和托曲珠利砒的标准溶液的多反应监测(色谱图参见附录 B)。

## 8.6 空白试验

称取空白试样, 除不添加标准溶液外, 采用相同的测定步骤进行平行操作。

## 9 结果计算和表述

试样中地克珠利和托曲珠利砒的残留量按标准曲线或式 (1) 计算:

$$X = \frac{C_s \times C_{is} \times A_i \times A'_{is} \times V \times 1000}{C'_{is} \times A_s \times A_{is} \times m \times 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中:

X—试样中被测物残留量, 单位为微克每千克 (μg/kg);

C<sub>is</sub>—试样溶液中内标物浓度, 单位为纳克每毫升 (ng/mL);

C<sub>s</sub>—标准溶液中被测物浓度, 单位为纳克每毫升 (ng/mL);

C'<sub>is</sub>—标准溶液中内标物浓度, 单位为纳克每毫升 (ng/mL);

A<sub>i</sub>—试样溶液中被测物峰面积;

A<sub>is</sub>—试样溶液中内标物面积;

A<sub>s</sub>—标准溶液中被测物峰面积;

A'<sub>is</sub>—标准溶液中内标物峰面积;

$V$ —提取液的体积，单位为毫升（mL）；

$m$ —试样的质量，单位为克（g）；

1000—单位换算系数。

注：计算结果需扣除空白值，测定结果保留3位有效数字。

## 10 方法的灵敏度、正确度和精密度

### 10.1 灵敏度

本方法地克珠利和托曲珠利砒的检出限均为5  $\mu\text{g/kg}$ ，定量限均为10  $\mu\text{g/kg}$ 。

### 10.2 正确度

本方法在畜禽肌肉组织10 $\mu\text{g/kg}$ ~500  $\mu\text{g/kg}$ 、肝脏组织10 $\mu\text{g/kg}$ ~3000  $\mu\text{g/kg}$ 、肾脏组织10 $\mu\text{g/kg}$ ~2000  $\mu\text{g/kg}$ 、脂肪组织10 $\mu\text{g/kg}$ ~1000  $\mu\text{g/kg}$ 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 $\leq 15\%$ 。

## 附 录 A

(资料性)

地克珠利和托曲珠利砒及其内标中英文名称、CAS号和化学分子式

序号	中文名称	英文名称	CAS号	分子式
1	地克珠利	Diclazuril	101831-37-2	$C_{17}H_6Cl_3N_4O_2$
2	托曲珠利砒	Toltrazuril sulfone	69004-04-2	$C_{18}H_{14}F_3N_3O_6S$
3	地克珠利-D <sub>4</sub>	Diclazuril-D <sub>4</sub>	1632495-80-7	$C_{17}H_5D_4Cl_3N_4O_2$
4	托曲珠利砒-D <sub>3</sub>	Toltrazuril sulfone-D <sub>3</sub>	1346602-48-9	$C_{18}H_{11}D_3F_3N_3O_6S$



(资料性)

地克珠利和托曲珠利砒及其内标标准溶液特征离子质量色谱图见图B.1。



图B.1 标准溶液中地克珠利和托曲珠利砒 (2.5 ng/mL) 及内标 (10 ng/mL) 特征离子质量色谱图