



中华人民共和国国家标准

GB 29703—2013

食品安全国家标准

动物性食品中呋喃苯烯酸钠残留量的
测定 液相色谱-串联质谱法

2013-09-16 发布

2014-01-01 实施

中华人民共和国农业部
中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

食品安全国家标准

动物性食品中呋喃苯烯酸钠残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了动物性食品中呋喃苯烯酸钠残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定法。本标准适用于猪和鸡的肌肉和肝脏组织中呋喃苯烯酸钠残留量的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 原理

试料中残留的呋喃苯烯酸钠,用0.5%甲酸-乙酸乙酯提取,固相萃取柱净化,液相色谱-串联质谱ESI正离子模式测定,外标法定量。

4 试剂和材料

以下所用的试剂,除特别注明外均为分析纯试剂,水为符合GB/T 6682规定的一级水。

- 4.1 呋喃苯烯酸钠标准品:含量 $\geq 98.0\%$ 。
- 4.2 甲醇。
- 4.3 正己烷。
- 4.4 乙腈:色谱纯。
- 4.5 乙酸乙酯。
- 4.6 甲酸。
- 4.7 HLB固相萃取柱:60 mg/3 mL,或相当者。
- 4.8 0.5%甲酸溶液:取甲酸0.5 mL,用水溶解并稀释至100 mL。
- 4.9 0.5%甲酸-乙酸乙酯溶液:取乙酸乙酯200 mL,加0.5%甲酸溶液10 mL,混匀,现配现用。
- 4.10 1 mg/mL呋喃苯烯酸钠标准贮备液:精密称取呋喃苯烯酸钠标准品10 mg,于10 mL量瓶中,用二甲亚砜溶解并稀释至刻度,配制成浓度为1 mg/mL的呋喃苯烯酸钠标准贮备液。 -20°C 以下保存,有效期6个月。
- 4.11 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 呋喃苯烯酸钠标准工作液:精密量取1 mg/mL呋喃苯烯酸钠标准贮备液1.0 mL,于100 mL容量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,配制成浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的呋喃苯烯酸钠标准工作液。 -20°C 以下保存,有效期6个月。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)。
- 5.2 分析天平:感量 0.000 01 g。
- 5.3 天平:感量 0.01 g。
- 5.4 冷冻高速离心机。
- 5.5 振荡器。
- 5.6 旋涡混合器。
- 5.7 均质机。
- 5.8 氮吹仪。
- 5.9 旋转蒸发仪。
- 5.10 离心管:50 mL。
- 5.11 茄形瓶。
- 5.12 滤膜:0.22 μm 。

6 样品的制备与保存

6.1 试料的制备

取新鲜或冷冻空白或供试组织,绞碎,并使均质。
——取均质后的供试样品,作为供试材料。
——取均质后的空白样品,作为空白材料。
——取均质后的空白样品,添加适宜浓度的标准工作液,作为空白添加试料。

6.2 试料的保存

-20 ℃以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

取试料 2 g \pm 0.05 g,于 50 mL 离心管中,加 0.5% 甲酸-乙酸乙酯溶液 15 mL,旋涡混合,振荡 5 min,8 000 r/min 离心 10 min,取乙酸乙酯层于茄形瓶中,残渣加 0.5% 甲酸-乙酸乙酯溶液 10 mL,重复提取一次,合并两次乙酸乙酯层,于 45 ℃旋转蒸发至干,用 50% 乙腈水溶液 3 mL 溶解残余物,转至离心管中,用 50% 乙腈水溶液 3 mL 洗涤茄形瓶,合并两次洗液,加正己烷 3 mL,振荡混匀后,5 000 r/min 离心 5 min,取下层液,备用。

7.2 净化

HLB 柱依次用甲醇 3 mL 和水 3 mL 活化,取备用液过柱。用水 6 mL 淋洗,抽干,加乙腈 3 mL 洗脱,收集洗脱液,于 50 ℃氮气吹干,用流动相 1.0 mL 溶解残余物,转入 1.5 mL 离心管中,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,滤膜过滤,液相色谱-串联质谱测定。

7.3 标准曲线的制备

分别精密量取 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 呋喃苯烯酸钠标准工作液适量,用流动相稀释,配制成浓度为 0.2、0.5、2、5 和 8 $\mu\text{g}/\text{L}$ 系列标准溶液,供液相色谱-串联质谱测定。以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。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱条件

7.4.1.1 色谱柱: C_{18} (150 mm×2.1 mm,粒径 5 μm),或相当者。

7.4.1.2 流动相:乙腈+水(40+60,体积比)。

7.4.1.3 柱温:40 °C。

7.4.1.4 进样量:10 μL 。

7.4.2 质谱条件

7.4.2.1 离子源:电喷雾离子源。

7.4.2.2 扫描方式:正离子扫描。

7.4.2.3 检测方式:选择反应监测。

7.4.2.4 喷雾电压:4 000 V。

7.4.2.5 离子传输管温度:330 °C。

7.4.2.6 鞘气压力:40 arb。

7.4.2.7 辅助气压力:6 arb。

7.4.2.8 选择反应监测的优化参数:见表 1。

表 1 呋喃苯烯酸钠选择反应监测的优化参数

药物名称	相对保留时间 min	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	碰撞能量 eV
呋喃苯烯酸钠	6.5	290.18>202.43	290.18>228.26	15
		290.18>228.26		20

7.4.3 测定法

取试样溶液和标准溶液,多点校准,外标法计算。试样溶液及标准溶液中呋喃苯烯酸钠的峰面积均应在仪器检测的线性范围之内。试样溶液中的离子相对丰度与标准溶液中的离子相对丰度相比,符合表 2 的要求。标准溶液和空白添加试样溶液中特征离子的质量色谱图见附录 A。

表 2 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

%

相对离子丰度	>50	20~50	10~20	≤ 10
允许的相对偏差	±20	±25	±30	±50

7.5 空白试验

除不加试料外,采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果计算与表述

由标准曲线校准:由 $A_s = ac_s + b$ 求得 a 和 b , 则

试料中呋喃苯烯酸钠的残留量($\mu\text{g}/\text{kg}$)按式(2)计算:

式中：

A_s ——标准溶液中呋喃苯烯酸钠的峰面积；

c_s ——标准溶液中呋喃苯烯酸钠的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

A ——试样溶液中呋喃苯烯酸钠的峰面积；

X ——试料中呋喃苯烯酸钠的残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

V —— 溶解残余物所用流动相体积, 单位为毫升(mL);

m ——供试物料质量,单位为克(g)。

注：计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

9 检测方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法的检测限为 $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法在 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 60%~120%。

9.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 20\%$,批间相对标准偏差 $\leq 25\%$ 。

附录 A
色谱图

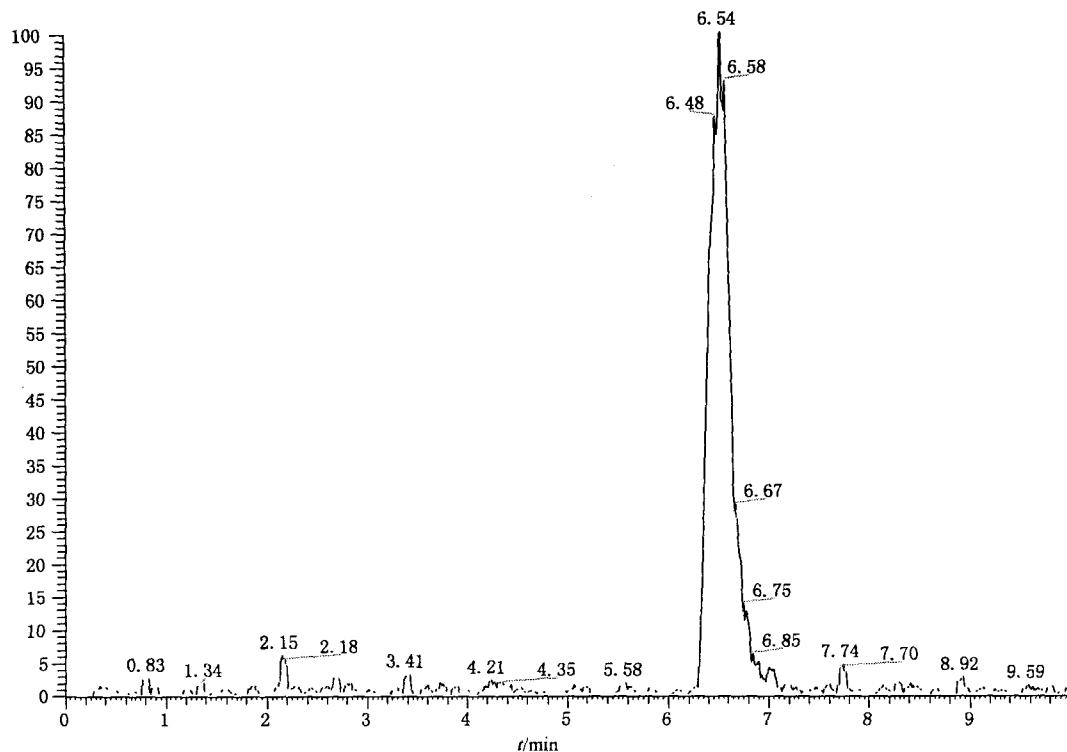


图 A.1 吡喃苯烯酸钠标准溶液离子色谱图 (0.5 μg/L)

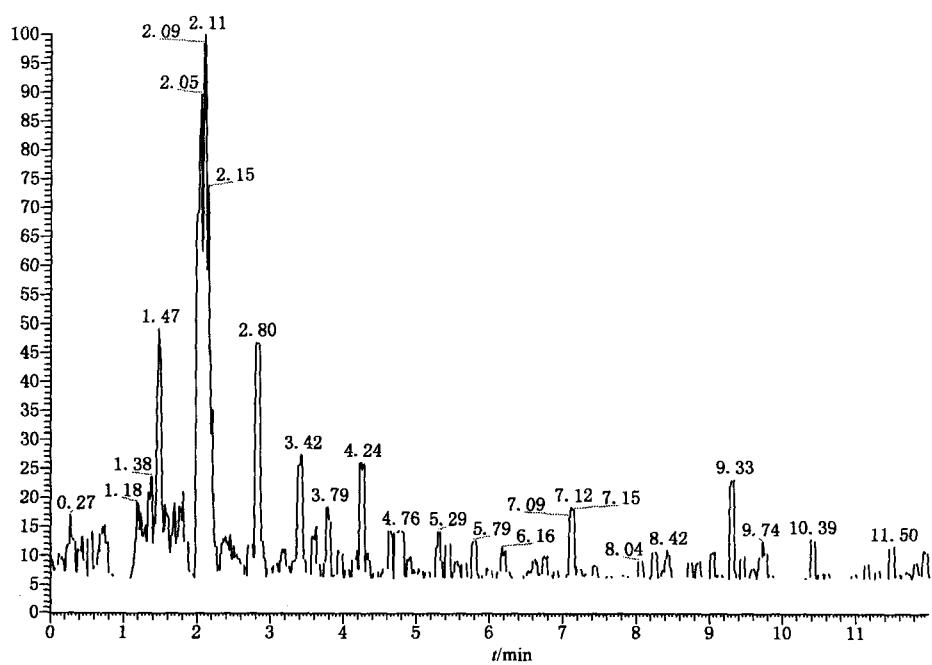


图 A.2 猪肝脏组织空白试样离子色谱图

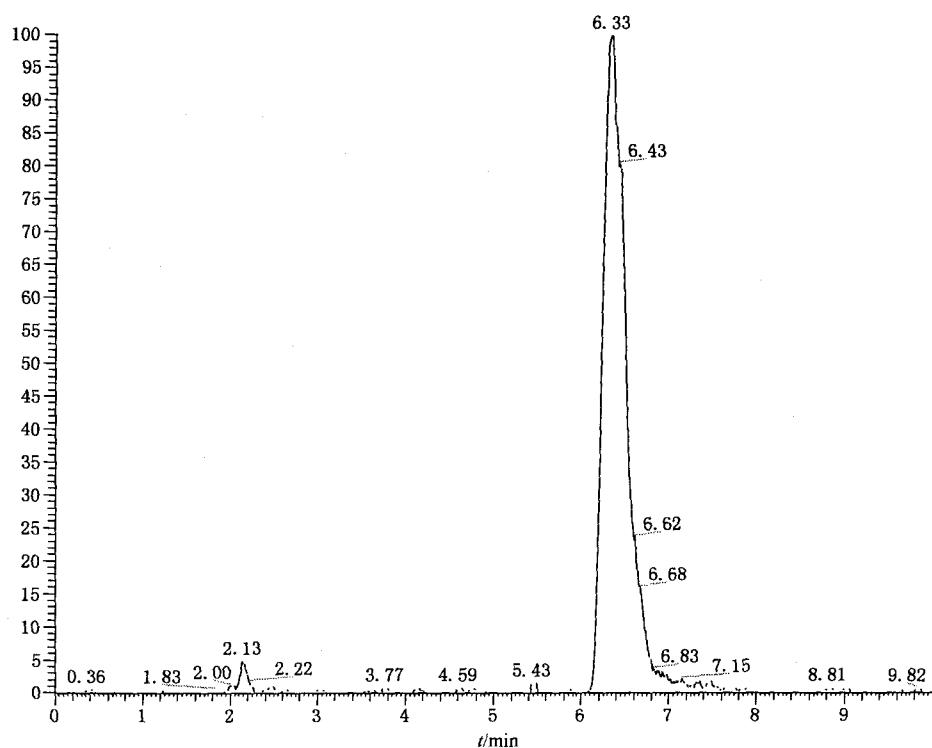


图 A.3 猪肝脏组织空白添加呋喃苯烯酸钠试样离子色谱图(0.5 μg/kg)