



中华人民共和国国家标准

GB 29697—2013

食品安全国家标准

动物性食品中地西洋和安眠酮多残留 的测定 气相色谱-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

动物性食品中地西泮和安眠酮多残留 的测定 气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了动物性食品中地西泮和安眠酮残留量检测的制样和气相色谱-质谱测定方法。

本标准适用于猪的肌肉组织中地西泮和安眠酮残留量的检测。

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

试料中残留的地西泮和安眠酮,用乙腈提取,正己烷除脂,C₁₈柱净化,气相色谱-质谱测定,外标法定量。

4 试剂和材料

以下所用试剂,除特殊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 地西泮、安眠酮对照品:含量≥99.5%。

4.2 乙腈:色谱纯。

4.3 正己烷:色谱纯。

4.4 甲醇:色谱纯。

4.5 甲苯:色谱纯。

4.6 C₁₈固相萃取柱:500 mg/3 mL,或相当者。

4.7 50%甲醇水溶液:取甲醇 50 mL,用水溶解并稀释至 100 mL。

4.8 70%甲醇水溶液:取甲醇 70 mL,用水溶解并稀释至 100 mL。

4.9 200 μg/mL 地西泮和安眠酮标准贮备液:精密称取地西泮和安眠酮标准品各 10 mg,分别于 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,配制成浓度为 200 μg/mL 地西泮和安眠酮标准贮备液。
—20 ℃ 以下保存,有效期 6 个月。

4.10 50 μg/mL 混合标准贮备液:精密量取 200 μg/mL 地西泮标准贮备液和 200 μg/mL 安眠酮标准贮备液各 25 mL,于 100 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,配制成浓度为 50 μg/mL 混合标准贮备液。
—20 ℃ 以下保存,有效期 6 个月。

4.11 10 μg/mL 混合标准贮备液:精密量取 50 μg/mL 混合标准贮备液 10 mL,于 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,配制成浓度为 10 μg/mL 的混合标准贮备液。
—20 ℃ 以下保存,有效期 6 个月。

5 仪器和设备

- 5.1 气相色谱-质谱联用仪:配电子轰击离子源(EI)。
- 5.2 分析天平:感量为 0.000 01 g。
- 5.3 天平:感量为 0.01 g。
- 5.4 涡旋振荡器。
- 5.5 离心机。
- 5.6 均质机。
- 5.7 旋转蒸发仪。
- 5.8 氮吹仪。
- 5.9 固相萃取装置。
- 5.10 超声波清洗器。
- 5.11 鸡心瓶:50 mL。

6 试料的制备与保存

6.1 试料的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织,绞碎,并使均质。

——取均质后的供试样品,作为供试试料。

——取均质后的空白样品,作为空白试料。

——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 样品的保存

-20 ℃以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试料 2 g±0.02 g,于离心管中,加乙腈 20 mL,水浴超声 5 min。4 000 r/min 离心 10 min,取上清液于鸡心瓶中。于 50 ℃旋蒸至近 5 mL,加正己烷 7.5 mL,混匀静置,弃上层液。取下层液,于 50 ℃氮气吹至 1 mL,加水 4 mL,混匀备用。

7.2 净化

C₁₈柱依次用甲醇 3 mL 和水 3 mL 活化,取备用液过柱,用 50% 甲醇水溶液 3 mL 洗涤,用 70% 甲醇水溶液 3 mL 洗脱,收集洗脱液,于 50 ℃氮气吹干,用乙腈 200 μL 溶解残余物,供气相色谱-质谱测定。

7.3 标准曲线的制备

精密量取 10 μg/mL 混合标准工作液适量,用甲醇稀释,配制成浓度为 1、10、50、100、500 和 1 000 ng/mL 的系列标准溶液,供气相色谱法-质谱测定。以测得峰面积为纵坐标,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。

7.4 測定

7.4.1 气相色谱参考条件

- 7.4.1.1 气相色谱柱:DB-5MS 柱($30\text{ m}\times 0.25\text{ mm}$,粒径 $0.25\text{ }\mu\text{m}$),或相当者。
 - 7.4.1.2 载气:氮气。
 - 7.4.1.3 载气流速: 0.9 mL/min 。
 - 7.4.1.4 进样口温度: $290\text{ }^\circ\text{C}$ 。
 - 7.4.1.5 柱温:初始温度 $150\text{ }^\circ\text{C}$,保持 1 min , $10\text{ }^\circ\text{C/min}$ 程序升温至 $290\text{ }^\circ\text{C}$,保持 4 min 。
 - 7.4.1.6 进样量: $1\text{ }\mu\text{L}$,恒流模式,不分流。

7.4.2 质谱参考条件

- 7.4.2.1 电子轰击离子源(EI)。
 - 7.4.2.2 电子轰击能:70 eV。
 - 7.4.2.3 离子源温度:230 ℃。
 - 7.4.2.4 四极杆温度:150 ℃。
 - 7.4.2.5 溶剂延迟:9 min。
 - 7.4.2.6 检测模式:选择离子检测。
 - 7.4.2.7 定性离子:地西泮为 m/z 283, m/z 256, m/z 241, m/z 221;安眠酮为 m/z 250, m/z 235, m/z 217, m/z 91。
 - 7.4.2.8 定量离子:地西泮为 m/z 256;安眠酮为 m/z 235。

7.4.3 测定法

7.4.3.1 定性测定

根据试样溶液中药物的含量,选择峰面积相近的标准工作液和试样溶液等体积参插进样。通过气相色谱保留时间与质谱选择离子共同定性。试样溶液中待测药物与标准物质的保留时间相对偏差不大于1%,而且其选择离子的相对丰度的差异不大于20%。地西泮和安眠酮的标准溶液、空白试样和空白添加试样选择离子色谱图见附录A。

7.4.3.2 定量测定

分别取适量试样溶液和相应浓度的标准工作液,作单点校准或多点校准,以色谱峰面积定量。标准溶液及试样溶液中地西洋和安眠酮响应值均应在仪器检测的线性范围内,试样溶液进样过程中应参插标准工作液。

7.5 空自试验

除不加试料外,采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果计算和表述

供试物料中地西洋和安眠酮的残留量按式(1)计算:

$$X = \frac{A_i \times c_s \times 5 \times V}{A_s \times m} \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

式中：

X ——供试试料中相应的地西泮和安眠酮残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$)；

A_i ——试样溶液中相应的地西泮和安眠酮色谱峰面积；

A_s ——标准溶液中相应的地西泮和安眠酮色谱峰面积；

c_s ——标准溶液中相应的地西泮和安眠酮浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL)；

V ——试样溶液体积,单位为毫升(mL)；

m ——供试试料质量,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 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法在 $1 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $70\% \sim 120\%$ 。

9.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leqslant 15\%$,批间相对标准偏差 $\leqslant 20\%$ 。

附录 A
色谱图

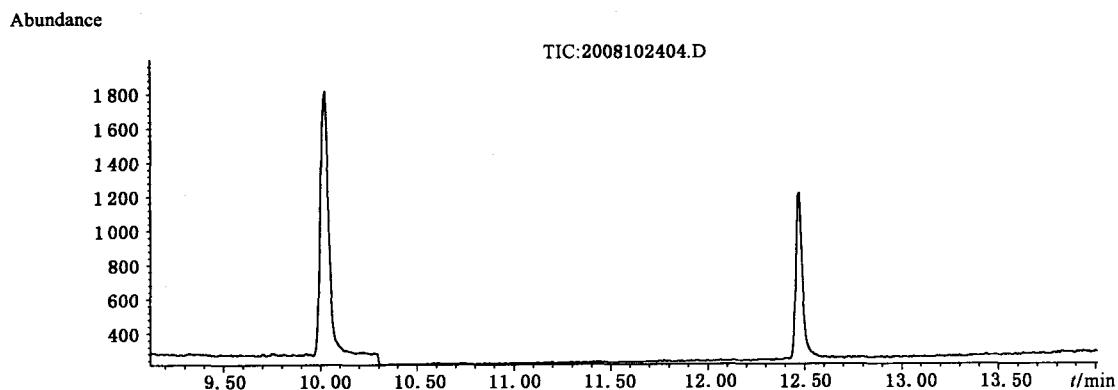


图 A.1 地西泮和安眠酮标准溶液选择离子色谱图(10 μg/L)

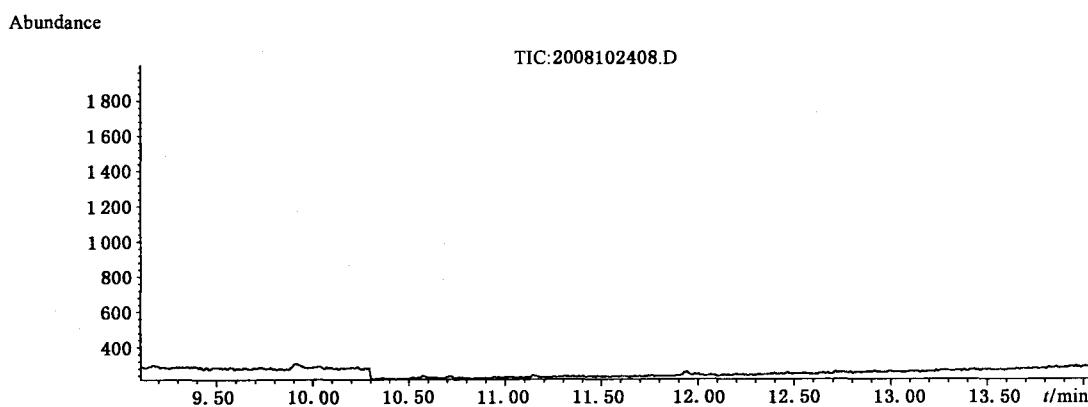


图 A.2 猪肌肉组织空白试样选择离子色谱图

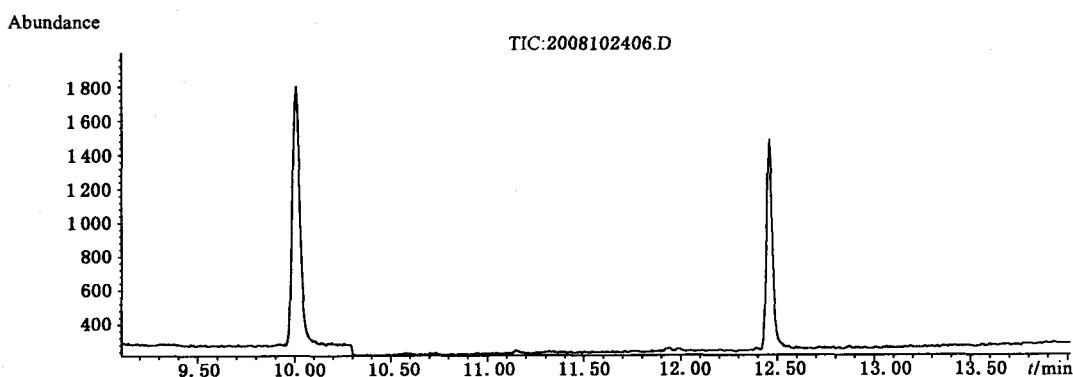


图 A.3 猪肌肉组织空白添加地西泮、安眠酮试样选择离子色谱图(1 μg/kg)