



中华人民共和国国家标准

GB 31656.7—2021

食品安全国家标准 水产品中氯硝柳胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of niclosamide residues in aquatic products by
liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2021-09-16 发布

2022-02-01 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。

本文件系首次发布。

食品安全国家标准

水产品中氯硝柳胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中氯硝柳胺残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鱼、虾、蟹等水产品可食组织中氯硝柳胺残留量的检测。

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

GB/T 30891—2014 水产品抽样规范

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试料中残留的氯硝柳胺，用氨化乙腈提取， C_{18} 吸附剂净化，液相色谱-串联质谱仪检测，外标法定量。

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(C_2H_3N)：色谱纯。

5.1.2 氨水($NH_3 \cdot H_2O$)。

5.1.3 无水硫酸镁($MgSO_4$)。

5.2 溶液配制

5.2.1 氨水使用液：取氨水 5 mL，加水 5 mL，混匀。

5.2.2 氨化乙腈溶液：取氨水使用液 100 μL ，加乙腈至 100 mL，混匀。

5.2.3 70%乙腈水溶液：取乙腈 70 mL，加水 30 mL，混匀。

5.3 标准品

氯硝柳胺(Niclosamide, $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$, CAS 号：50-65-7)，含量 $\geq 96.0\%$ 。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液(0.1 mg/mL)：取氯硝柳胺标准品 10 mg，精密称定，加乙腈 10 mL，超声使溶解，用乙腈稀释定容至 100 mL 棕色容量瓶，摇匀，即得。-18 ℃以下保存，有效期 2 个月。

5.4.2 标准工作液(1 $\mu g/mL$)：准确量取标准储备液 1 mL，于 100 mL 棕色容量瓶中，用乙腈稀释至刻度，摇匀，即得。-18 ℃以下保存，有效期 1 个月。

5.5 材料

C_{18} 吸附剂：粒径 40 μm ~60 μm ，或相当者。

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 0.01 g 和感量 0.000 01 g。
- 6.3 离心机:8 000 r/min 或以上。
- 6.4 涡旋混合器。
- 6.5 超声波清洗仪。
- 6.6 氮吹仪。
- 6.7 具塞聚丙烯离心管:50 mL。
- 6.8 具塞离心管:10 mL、25 mL。

7 试料的制备与保存

7.1 试料的制备

按 GB/T 30891—2014 中附录 B 的要求制样。

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

7.2 试料的保存

−18 ℃以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

取试料 5 g(准确至±0.02 g),于 50 mL 具塞离心管中,加氨化乙腈溶液 10 mL,涡旋混合 1 min,超声 10 min,加无水硫酸镁 3 g,涡旋混合 1 min,5 000 r/min 离心 5 min,取上清液移至 25 mL 容量瓶中,残渣用氨化乙腈 10 mL 重复提取一次,合并上清液,用乙腈稀释定容至刻度,混匀,备用。

8.2 净化

准确量取上述备用液 5 mL 于 10 mL 离心管中,45 ℃下氮气吹干,用 70% 乙腈水溶液 1.0 mL 溶解残渣,再加入 C₁₈吸附剂 50 mg 涡旋振荡 30 s,8 000 r/min 离心 6 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜,供 LC-MS/MS 测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

取空白样品 6 份,按照 7.1 步骤提取,准确量取氯硝柳胺标准工作液 5 μL、10 μL、25 μL、50 μL、100 μL、200 μL 分别加入到 6 份空白样品提取液中,按照 8.2 步骤净化,取上清液,配制成氯硝柳胺浓度为 0.5 ng/mL、1 ng/mL、2.5 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL 的系列基质匹配标准溶液,过滤,供 LC-MS/MS 测定。以测得的氯硝柳胺定量离子峰面积为纵坐标、对应的浓度为横坐标,绘制基质标准曲线。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(150 mm × 2.1 mm,5 μm),或相当者;
- b) 柱温:35 ℃;
- c) 流速:0.2 mL/min;
- d) 进样量:10 μL;
- e) 流动相: A 为乙腈,B 为水,梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	50	50
2.0	50	50
2.5	90	10
7.0	90	10
7.1	50	50
8.0	50	50

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子化模式:电喷雾离子源(ESI),负离子模式;
 - b) 喷雾电压:2 500 V;
 - c) 鞘气压力:40 L/min;
 - d) 辅助气压力:5 L/min;
 - e) 离子传输管温度:330 °C;
 - f) 扫描模式:选择反应监测(SRM),选择反应监测母离子、子离子和碰撞能量见表2;

表 2 母离子、子离子和碰撞能量

目标化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 eV
氯硝柳胺	325	289 ^a	20
		171	31

g) 碰撞气: 氖气。

8.4.3 测定法

取试料溶液和基质匹配标准溶液,作单点或多点校准,以色谱峰面积定量,外标法计算。试料溶液和基质匹配标准溶液中氯硝柳胺的特征离子质量色谱峰面积均应在仪器检测的线性范围之内。试料液中氯硝柳胺的保留时间与基质匹配标准工作液中氯硝柳胺的保留时间之比,偏差在 $\pm 2.5\%$ 以内。试料溶液中的相对离子丰度与基质匹配标准溶液中的相对离子丰度相比,符合表3的要求。标准溶液特征离子质量色谱图见附录A。

表 3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为百分号

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

8.4.4 空白试验

取空白试剂，除不加标准溶液外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试料中氯硝柳胺的残留量按标准曲线或公式(1)计算。

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

式中：

X ——试料中氯硝柳胺残留量的数值,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

C_s ——试样溶液中氯硝柳胺浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL);

- A ——试样溶液色谱图中氯硝柳胺峰峰面积；
A_S ——标准溶液色谱图中氯硝柳胺峰峰面积；
V₁ ——试料提取液体积的数值，单位为毫升(mL)；
V₂ ——准确移取的备用液体积的数值，单位为毫升(mL)；
V₃ ——最终溶解残渣液体积的数值，单位为毫升(mL)；
m ——供试料质量的数值，单位为克(g)。

10 检测方法灵敏度、准确度、精密度

10.1 灵敏度

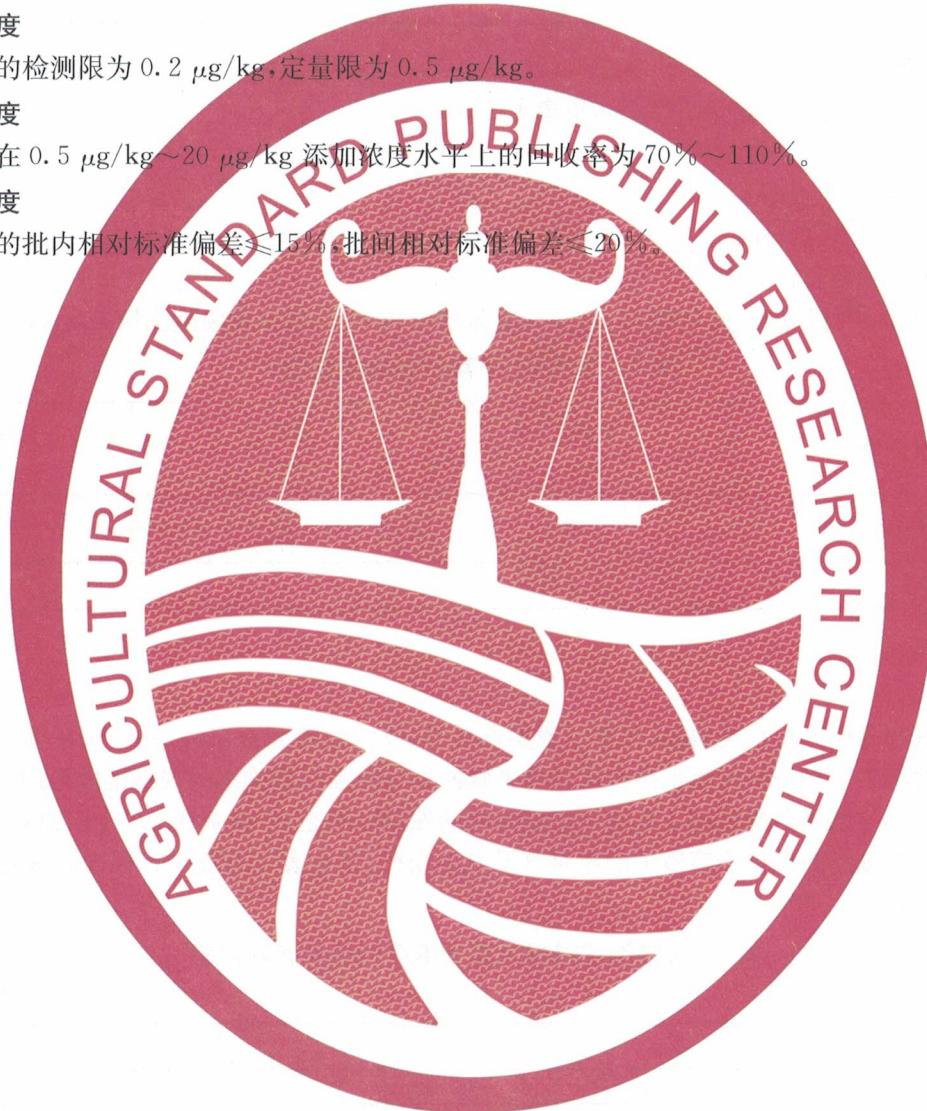
本方法的检测限为 $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法在 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 20 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $70\% \sim 110\%$ 。

10.3 精密度

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

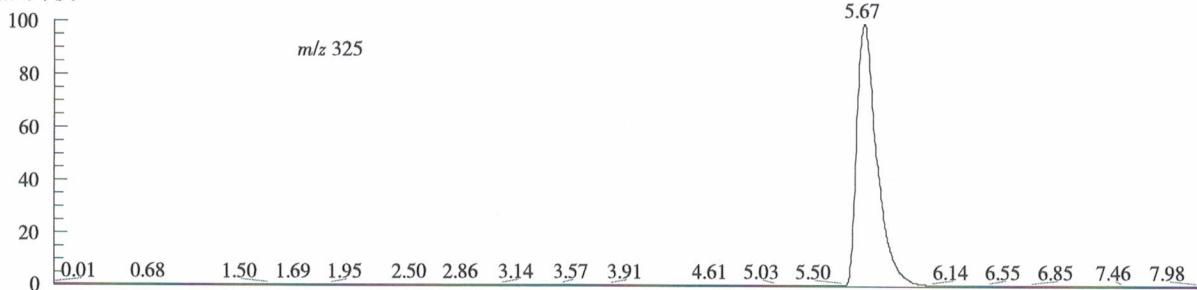


附录 A
(资料性)
氯硝柳胺标准溶液特征离子质量色谱图

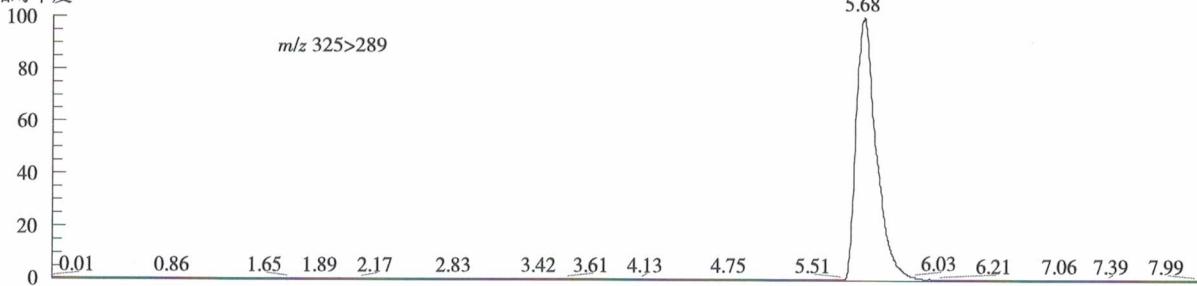
氯硝柳胺标准溶液特征离子质量色谱图见图 A. 1。

RT: 0.00 – 8.00

相对丰度



相对丰度



相对丰度

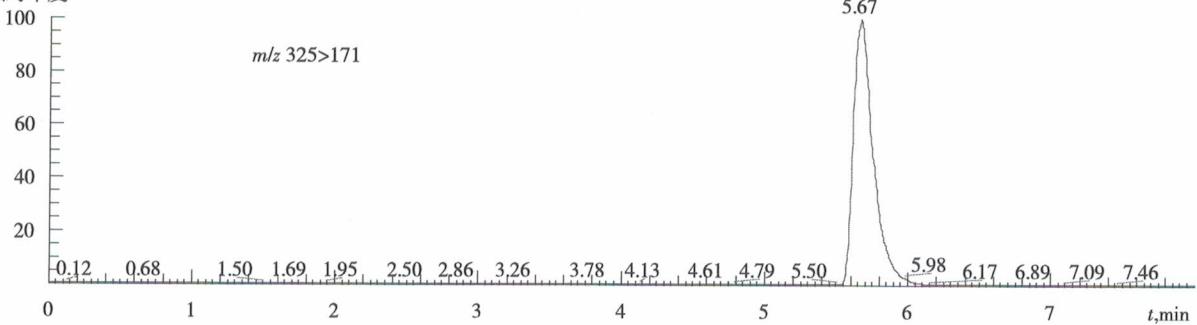


图 A. 1 氯硝柳胺标准溶液特征离子质量色谱图(5 ng/mL)

中华人民共和国

国家标准

食品安全国家标准

水产品中氯硝柳胺残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

GB 31656.7—2021

* * *

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)

(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)

北京印刷一厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.75 字数 15 千字

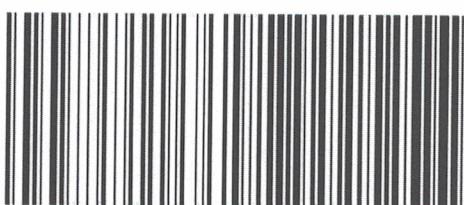
2022 年 1 月第 1 版 2022 年 1 月北京第 1 次印刷

书号: 16109 · 8743

定价: 24.00 元

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261



GB 31656.7—2021