



中华人民共和国国家标准

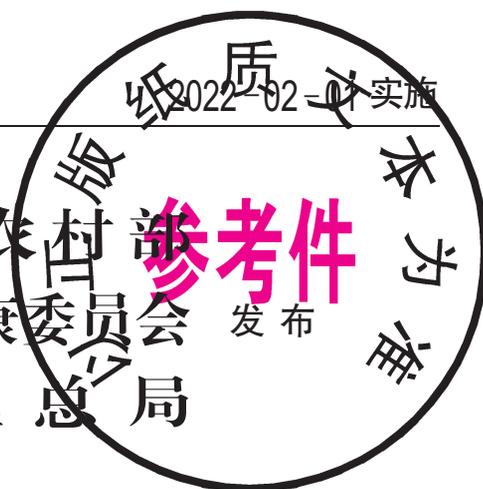
GB 31656.5—2021

食品安全国家标准 水产品中安眠酮残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of methaqualone residue in fishery products by liquid
chromatography-tandem mass spectrometric method

2021-09-16 发布

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



以正版纸质文本为准

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。

以正版纸质文本为准

以正版纸质文本为准

食品安全国家标准

水产品中安眠酮残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中安眠酮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、虾可食组织中安眠酮残留量的检测。

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

试样中残留的安眠酮,用正己烷提取,硅胶柱净化,液相色谱-串联质谱测定,内标法定量。

5 试剂和材料

以下所用试剂,除另有注明外均为分析纯,水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 丙酮(CH_3COCH_3):色谱纯。

5.1.2 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

5.1.3 甲酸(HCOOH):色谱纯。

5.1.4 正己烷(C_6H_{14}):色谱纯。

5.1.5 乙醚($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$):色谱纯。

5.2 溶液配制

5.2.1 20%乙醚-正己烷淋洗液:取乙醚 20 mL、正己烷 80 mL,混匀。

5.2.2 50%乙醚-正己烷混合溶液:取乙醚 50 mL、正己烷 50 mL,混匀。

5.2.3 50%甲醇溶液:取甲醇 50 mL,加水至 100 mL,混匀。

5.2.4 0.1%甲酸溶液:取甲酸 1 mL,加水至 1 000 mL,混匀。

5.3 标准物质

5.3.1 安眠酮(methaqualone, $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$, CAS 号:72-44-6)标准溶液,浓度 1 mg/mL。—18 °C 以下避光保存。

5.3.2 安眠酮- D_7 (methaqualone- D_7 , $\text{C}_{16}\text{H}_7\text{D}_7\text{N}_2\text{O}$, CAS 号:136765-41-8)标准溶液,浓度 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。—18 °C 以下避光保存。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 200 ng/mL 安眠酮标准中间液:精密量取安眠酮标准溶液适量,用甲醇稀释配制成浓度为

200 ng/mL标准中间液。置-18℃以下避光保存,有效期3个月。

5.4.2 内标工作液:精密量取安眠酮-D₇标准溶液适量,用甲醇稀释配制成浓度为200 ng/mL内标工作液。置-18℃以下避光保存,有效期3个月。

5.5 材料

5.5.1 固相萃取柱:硅胶柱,500 mg/3 mL,或性能相当。

5.5.2 水相聚砜醚针式滤器:0.22 μm。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪:带电喷雾离子源。

6.2 天平:感量0.01 g和感量0.000 01 g。

6.3 均质机。

6.4 离心机:6 000 r/min。

6.5 氮吹仪。

6.6 超声波清洗器。

6.7 涡旋混合器。

6.8 具塞玻璃离心管:10 mL。

7 测定步骤

7.1 试样的制备

按GB/T 30891—2014中附录B的要求制样。

a) 取均质后的供试样品,作为供试试料;

b) 取均质后的空白样品,作为空白试料;

c) 取均质后的空白样品,添加适宜浓度的安眠酮标准中间液,作为空白添加试料。

7.2 试料的保存

-18℃以下保存,保存期3个月。

8 测定步骤

8.1 提取

取试样5 g(准确至±0.05 g),于50 mL离心管中,加内标工作液50 μL、水3 mL,涡旋混合30 s,加正己烷15 mL,振荡提取3 min,超声5 min,4 500 r/min离心7 min,取正己烷层至25 mL容量瓶;残渣再加正己烷8 mL,重复提取一次,合并正己烷液,并用正己烷稀释定容至刻度,混匀,备用。

8.2 净化

取固相萃取柱,依次用丙酮5 mL、正己烷5 mL活化。精密量取备用液10 mL过柱,速度约为每秒1滴,用20%乙醚-正己烷淋洗液5 mL淋洗,弃去流出液,抽干。用50%乙醚-正己烷混合溶液8 mL洗脱,收集洗脱液,40℃氮气吹干。准确加入50%甲醇溶液1 mL溶解残余物,用水相针式滤器过滤至进样小瓶中,供液相色谱-串联质谱测定。

8.3 标准工作曲线的制备

分别精密量取安眠酮标准中间液和内标工作液适量,用50%甲醇溶液稀释制成含同位素内标物浓度为4 ng/mL,安眠酮浓度为0.4 ng/mL、1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、25.0 ng/mL和100.0 ng/mL的系列标准工作液,供液相色谱-串联质谱测定。以安眠酮特征离子质量色谱峰面积与同位素内标物特征离子质量色谱峰面积比值为纵坐标、相应的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 液相色谱条件

- a) 色谱柱: C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 5 μm)或相当者;
b) 流动相: A为甲醇, B为0.1%甲酸溶液, 梯度洗脱条件见表1;

表1 梯度洗脱条件

时间 min	甲醇 %	0.1%甲酸 %
0.0	50	50
1.0	50	50
1.1	95	5
8.0	95	5
8.1	50	50
12.0	50	50

- c) 流速: 0.3 mL/min;
d) 柱温: 25 °C;
e) 进样量: 25 μL。

8.4.2 质谱条件

- 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: 多反应监测;
d) 喷雾电压: 4 500 V;
e) 离子传输毛细管温度: 350 °C;
f) 源内碰撞诱导解离电压: 10 V;
g) 雾化气流速: 12.3 L/h;
h) 辅助气流速: 1.7 L/h;
i) 母离子、子离子和碰撞能量参考值见表2。

表2 母离子、子离子和碰撞能量参考质谱条件

目标化合物	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	碰撞能量 eV
安眠酮	251.1	132.1	18
		91.2 ^a	34
安眠酮-D ₇	258.1	139.1	21

^a 为定量离子。

8.4.3 测定法

取试样溶液和系列标准工作液等体积进样测定, 作单点或多点校准, 以色谱峰面积定量, 内标法计算。标准溶液及试样溶液中安眠酮的响应值均应在仪器检测的线性范围之内。通过试样中待测物的保留时间、特征离子相对丰度与浓度相近的标准溶液的保留时间、特征离子相对丰度相对照定性。试样液中待测物与标准品的保留时间偏差在±2.5%以内; 特征离子相对丰度偏差满足表3的要求, 则可判定试样中存在相应的被测物。在上述色谱-质谱条件下, 安眠酮标准溶液特征离子色谱图参见附录A。

表3 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
允许的最大偏差	±20	±25	±30	±50

8.5 空白试验

取空白试料,除不加标准溶液外,采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算及表述

试样中安眠酮的残留量按公式(1)计算。

$$X = \frac{C \times V \times f}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X —— 试样中安眠酮残留量的数值,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

C —— 从标准曲线计算得到的试样液中安眠酮浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V —— 溶解残余物所用体积的数值,单位为毫升(mL);

f —— 稀释倍数;

m —— 供试试样质量的数值,单位为克(g)。

10 方法灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

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

10.2 准确度

本方法在 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 20 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度范围内,回收率为 $70\% \sim 110\%$ 。

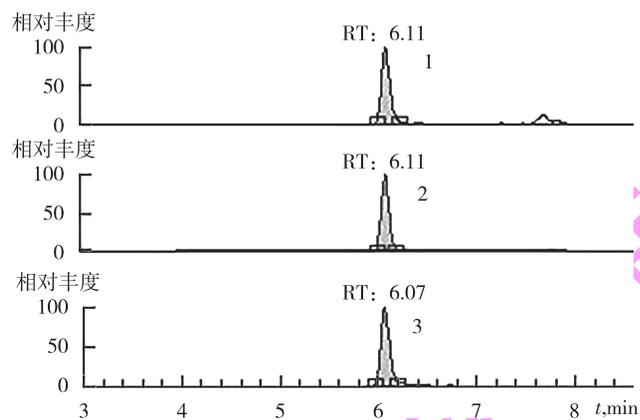
10.3 精密度

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

以正版纸质文本为准

附 录 A
(资料性)
特征离子质量色谱图

安眠酮及同位素内标标准溶液特征离子质量色谱图(2 ng/mL)见图 A.1。



标引序号说明:

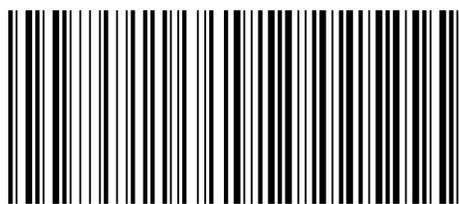
- 1——安眠酮特征离子质量色谱图(251.1>91.1);
- 2——安眠酮特征离子质量色谱图(251.1>132.1);
- 3——安眠酮-D₇特征离子质量色谱图(258.1>139.1)。

图 A.1 安眠酮及同位素内标标准溶液特征离子质量色谱图(2 ng/mL)

以正版纸质文本为准

以正版纸质文本为准

以正版纸质文本为准



GB 31656.5—2021

中国农业出版社出版
购买正版纸质文本请联系
中国农业出版社标准质量分社
编辑冀刚,电话 010—59194426