

ICS 点击此处添加 ICS 号
点击此处添加中国标准文献分类号

GB

中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准

GB 23200.89—2016

代替SN/T 2539—2010

食 品 安 全 国 家 标 准
动 物 源 性 食 品 中 乙 氧 喹 啉 残 留 量 的 测 定
液 相 色 谱 法

National food safety standards—

Determination of ethoxyquin residue in animal-derived foods

Liquid chromatography

2016-12-18 发布

2017-06-18 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会
中华人民共和国农业部
国家食品药品监督管理总局

发布

前 言

本标准代替SN/T 2539-2010 《动物源食品中乙氧喹啉残留量的测定方法高效液相色谱法》。

本标准与SN/T 2539-2010相比，主要变化如下：

—标准文本格式修改为食品安全国家标准文本格式；

—标准范围中增加“其它食品可参照执行”。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

—SN/T 2539-2010。

食品安全国家标准

动物源性食品中乙氧喹啉残留量的测定 液相色谱法

1 范围

本标准规定了猪肉、猪肝、猪肾、鸡肉、鱼肉、鸡蛋、蜂蜜、牛奶中乙氧喹啉残留量的液相色谱测定和高效液相色谱-质谱确证方法。

本标准适用于猪肉、猪肝、猪肾、鸡肉、鱼肉、鸡蛋、蜂蜜、牛奶中乙氧喹啉残留量的测定和确证，其它食品可参照执行。

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，仅所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 2763 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样加入碳酸钠溶液和丙酮振荡提取后，用正己烷进行液-液萃取分配，提取液经浓缩定容后，用配荧光检测器的高效液相色谱仪测定，高效液相色谱-串联质谱仪确证，外标法定量。

4 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中规定的一级水。

4.1 试剂

- 4.1.1 丙酮(C₃H₆O, 67-64-1): 色谱纯。
- 4.1.2 正己烷(C₆H₁₄, 110-54-3): 色谱纯。
- 4.1.3 乙腈(C₂H₃N, 75-05-8): 色谱纯。
- 4.1.4 碳酸钠(Na₂CO₃, 497-19-8)。
- 4.1.5 乙酸铵(C₂H₇NO₂, 631-61-8): 色谱纯。

4.2 溶液配制

- 4.2.1 碳酸钠溶液(10%): 准确称取 100 g 碳酸钠于烧杯中加入适量水溶解，转移至 1L 容量瓶，定容至刻度，摇匀。
- 4.2.2 乙酸铵溶液(20mmol/L): 准确称取 1.54 g 乙酸铵，溶解于 1L 水中。

4.3 标准品

- 4.3.1 乙氧喹啉标准物质(C₁₄H₁₉NO, 91-53-2): 纯度≥98.0%。

4.4 标准溶液配制

- 4.4.1 乙氧喹啉标准储备溶液: 准确称取适量标准品，用乙腈稀释配制成 100 μg/mL 的标准储备液，于 0℃~4℃暗处保存。
- 4.4.2 乙氧喹啉标准工作液: 根据检测需要移取一定体积的标准中间溶液用乙腈逐级稀释成适当浓度的标准工作溶液。标准工作溶液需现配现用。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪: 配有荧光检测器 (FLD)。
- 5.2 分析天平: 感量 0.01 g 和 0.0001 g。

- 5.3 高效液相色谱—串联质谱仪：配有电喷雾离子化源（ESI）。
- 5.4 组织捣碎机。
- 5.5 离心机：6 000 r/min。
- 5.6 涡旋混匀器。
- 5.7 旋转蒸发器。
- 5.8 分析天平：感量 0.0001 g 和 0.01 g。
- 5.9 氮吹浓缩仪。
- 5.10 有机滤膜：0.22 μ m。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 肉及内脏品

取有代表性样品500 g，将其切碎后，用组织捣碎机将样品加工成浆状，混匀，装入洁净的盛样容器内，密封并标明标记。

6.1.2 蜂蜜及牛奶

取有代表性样品500 g，倒入洁净的搪瓷混样桶中，充分搅拌均匀，装入洁净的盛样容器内，密封并标明标记。

注：以上样品取样部位按GB 2763附录A执行。

6.2 试样保存

牛奶、蜂蜜试样于 0 °C~4 °C 保存；肉及内脏制品等试样于-18 °C 下冷冻保存。

在制样的操作过程中，应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

7 分析步骤

7.1 提取

称取 2 g 均匀试样(精确至 0.01 g)于 50 mL 具塞离心试管中，加入 5 mL 碳酸钠溶液置于旋涡混匀器上混匀 2 分钟，加入 5 mL 丙酮置于旋涡混匀器上振荡 2 min，加入 15 mL 正己烷，在涡旋混匀器振荡提取 2 min，6000 r/min 离心 3min，取上层正己烷层于 200 mL 鸡心瓶中，用 15 mL 正己烷再重复提取两次，合并正己烷层于鸡心瓶中，将提取液于 30 °C 水浴下旋转浓缩至约 1 mL，用平缓氮气流吹至近干，用乙腈溶解并定容至 1.0 mL，过滤膜后，供高效液相色谱仪测定和高效液相色谱—串联质谱仪确证。

7.2 测定

7.2.1 高效液相色谱测定参考条件

- a) 色谱柱： C_{18} , 150mm \times 4.6 mm (内径), 5 μ m, 或相当者；
- b) 色谱柱温度：25 °C；
- c) 流动相：乙酸铵水溶液(20 mmol/L)+乙腈=(7+3, V/V)；
- d) 荧光检测器：激发波长 360nm, 发射波长 435nm；
- e) 流速：0.50 mL/min；
- f) 进样量：10 μ L。

7.2.2 高效液相色谱—串联质谱仪测定参考条件

7.2.2.1 高效液相色谱参考条件

- a) 色谱柱： C_{18} , 150 mm \times 4.6 mm (内径), 5 μ m 或相当者。
- b) 色谱柱温度：25 °C；
- c) 流速：0.50 mL/min；
- d) 梯度洗脱程序：见表 1；

e) 进样量：5 μL。

表1 高效液相色谱—串联质谱仪梯度洗脱程序

时间/ min	流速/ (mLmin)	5mmol/L乙酸铵水溶液/%	乙腈/ %
0	0.5	60	40
3	0.5	40	60
6	0.5	10	90
9	0.5	10	90
11	0.5	60	40
14	0.5	40	60

7.2.2.2 质谱参考条件

参考条件见附录 A。

7.2.3 高效液相色谱测定

根据样液中乙氧喹啉的含量情况，选定浓度相近的乙氧喹啉标准工作溶液。标准工作溶液和样液中乙氧喹啉的响应值均应在仪器检测的线性范围内。对标准工作液和样液等体积交替进样测定，以保留时间定性，测量样液与标准工作液的峰面积比较定量。在上述高效液相色谱条件下，乙氧喹啉标准品色谱图参见图B. 1。

7.2.3.1 高效液相色谱—串联质谱确证

样品在高效液相色谱仪测定时，如果检出色谱峰的保留时间与标准样品一致，则需对其进行质谱确证。用高效液相色谱—串联质谱进行样品确证时，在扣除背景后的样品谱图中，各定性离子的相对丰度与浓度接近的同样条件下得到的标准溶液谱图相对比。在相同的实验条件下，样液中被测物的质量色谱峰保留时间与标准溶液中一致，所选择的定性离子均出现，而且所选择定性离子的相对丰度与标准样品的相对丰度一致(允许偏差范围见表2)，则可判断样品中存在对应的被测物。如果不能确证，应重新进样，以扫描方式(有足够灵敏度)或采用增加其他确证离子的方式或用其他灵敏度更高的分析仪器来确证。在上述高效液相色谱—串联质谱条件下，乙氧喹啉标准品的选择离子监测色谱图参见图C. 1。

表2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对丰度 (基峰)	>50 %	>20 %至 50 %	>10 %至 20 %	≤10 %
允许的相对偏差	±20 %	±25 %	±30 %	±50 %

7.3 空白试验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

8 结果计算和表述

用色谱数据处理机或按公式 (1) 计算试样中乙氧喹啉的残留含量，计算结果需扣除空白值。

$$X = \frac{A \times C_s \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X— 试样中乙氧喹啉的残留含量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

A— 样液中乙氧喹啉的峰面积；

C_s — 标准工作液中乙氧喹啉的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V — 最终样液定容体积，单位为毫升（ mL ）；

A_s — 标准工作液中乙氧喹啉的峰面积；

m — 最终样液所代表的试样质量，单位为克（ g ）。

注：计算结果应扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。当结果大于 1 mg/kg 时保留三位有效数字。

9 精密度

9.1 在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值与其算术平均值的比值（百分率），应符合附录E的要求。

9.2 在再现性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值与其算术平均值的比值（百分率），应符合附录F的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法乙氧喹啉定量限为 0.01 mg/kg 。

10.2 回收率

当添加水平为 0.01 mg/kg ， 0.05 mg/kg ， 0.1 mg/kg 时，乙氧喹啉在不同基质中的添加回收率参见附录D。

附录 A
(资料性附录)
质谱条件

A.1 质谱条件见表 A.1

表 A.1 质谱条件

离子源	电喷雾离子化电离源 (ESI), 正离子监测
扫描方式	选择离子监测 (SRM)
气帘气 (CUR)	68.95 kPa (10 psi)
雾化气 (GS ₁)	275.8 kPa (40 psi)
辅助加热气 (GS ₂)	344.75 kPa (50 psi)
碰撞气 (CAD)	48.27 kPa (7 psi)
电喷雾电压 (IS)	5 000 V
离子源温度 (TEM)	450 °C

A.2 选择离子监测条件见表 A.2

表 A.2 选择离子监测条件

待测物	Q1 m/z	Q3 m/z	去簇电压 DP/V	碰撞电压 CE/V	碰撞室入室电压 EP/V	碰撞室出室电压 CXP/V
乙氧喹啉	218.1	148.1 ^a	74	31	10	12
		190.4	74	30	10	6
		202.1	74	28	10	9
注：“a”为定量离子对						

1) 非商业性声明: 附录A所列参数是在 API4000质谱仪上完成的, 此处列出试验用仪器型号仅是为了提供参考, 并不涉及商业目的, 鼓励标准使用者尝试采用不同厂家或型号的仪器。

附录 B
(资料性附录)

乙氧喹啉标准品液相色谱图

B.1 乙氧喹啉标准品液相色谱图见图B.1

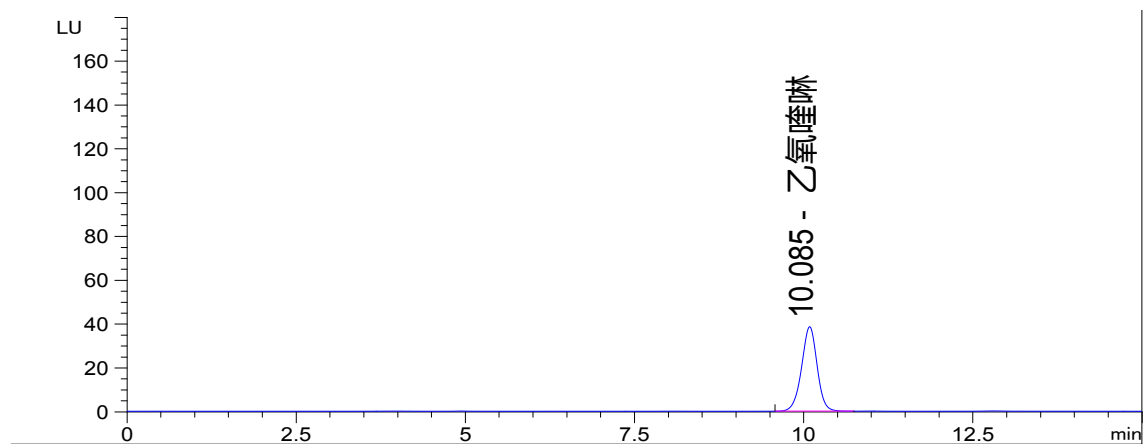


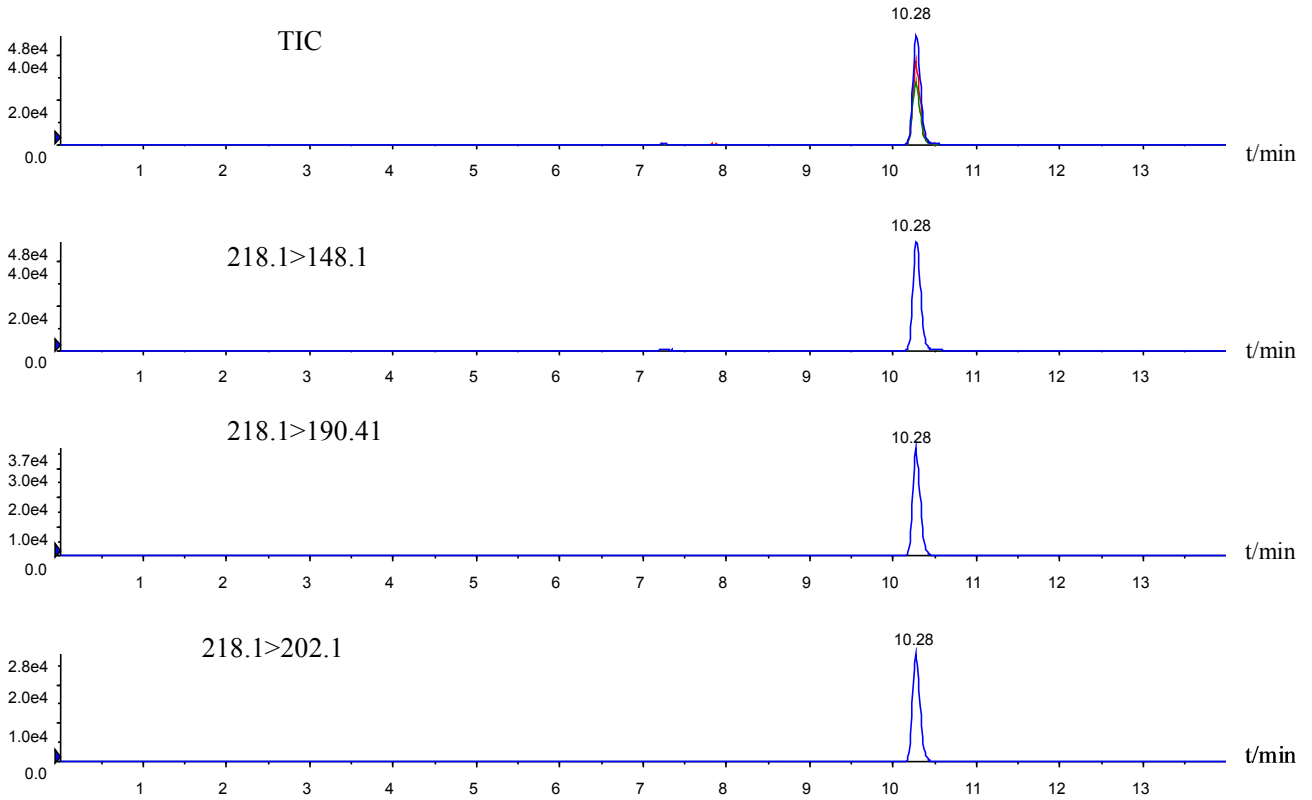
图 B.1 乙氧喹啉标准品(0.2 mg/kg)液相色谱图

附录 C

(资料性附录)

乙氧喹啉标准品选择离子监测 (SRM) 色谱图

C.1 乙氧喹啉标准品选择离子监测 (SRM) 色谱图见图C.1



图C.1 乙氧喹啉标准品 (0.02 mg/kg) 选择离子监测 (SRM) 色谱图

附录 D

(资料性附录)

不同样品基质中乙氧喹啉添加回收率

D.1 不同样品基质中乙氧喹啉添加回收率见表D.1

表D.1 不同样品基质中乙氧喹啉添加回收率

样品基质	添加浓度/(mg/kg)	回收率/%	样品基质	添加浓度/(mg/kg)	回收率/%
猪肉	0.01	89.5~108.0	蜂蜜	0.01	89.2~100.3
	0.05	84.2~102.4		0.05	88.8~101.2
	0.10	86.8~98.2		0.10	84.1~90.5
猪肝	0.01	92.7~109.0	鸡蛋	0.01	90.3~101.4
	0.05	93.2~109.2		0.05	93.7~107.5
	0.1	90.6~98.4		0.10	96.6~101.6
猪肾	0.01	85.8~102.0	鱼肉	0.01	94.7~102.1
	0.05	91.3~105.6		0.05	87.7~108.0
	0.10	92.0~105.6		0.10	92.0~97.7
鸡肉	0.01	84.8~101.1	牛奶	0.01	91.4~103.1
	0.05	85.8~102.6		0.05	83.9~95.2
	0.10	86.1~99.5		0.10	87.4~89.8

附 录 E
(规范性附录)
实验室内重复性要求

表E.1 实验室内重复性要求

被测组分含量 mg/kg	精密度 %
≤ 0.001	36
$> 0.001 \leq 0.01$	32
$> 0.01 \leq 0.1$	22
$> 0.1 \leq 1$	18
> 1	14

附 录 F
(规范性附录)
实验室间再现性要求

表F.1 实验室间再现性要求

被测组分含量 mg/kg	精密度 %
≤ 0.001	54
$> 0.001 \leq 0.01$	46
$> 0.01 \leq 0.1$	34
$> 0.1 \leq 1$	25
> 1	19
