ICS 67.100
CCS X 16

JAASS

团　　体　　标　　准

T/JAASS X-2021

应用 EMR-Lipid 检测乳和乳制品中兽药残留量

Determination of veterinary drugs residue in milk and dairy products by EMR-Lipid

2021－XX－XX 发布　　2021－XX－XX 实施

江苏省农学会　发 布

目　　次

前　　言.....II
1 范围.....1
2 规范性引用文件.....1
3 术语和定义.....1
4 原理.....1
5 试剂和材料.....1
6 标准品和标准工作液配制.....2
6.1 标准储备液配置.....2
6.2 标准中间溶液.....2
7 仪器和设备.....2
8 分析步骤.....2
8.1 试液提取净化.....2
8.2 液相色谱-质谱/质谱测定.....2
8.3 空白试验.....4
9 结果计算.....4
10 精密度.....4
附录 A（资料性附录）药物中英文名称、CAS 号、分子式和定量离子对.....5
附录 B（资料性附录）8 种兽药的离子流色谱图 6

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》给出的规则编写。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由南京市产品质量监督检验院提出。

本文件由江苏省农学会归口。

本文件起草单位：南京市产品质量监督检验院。

本文件主要起草人：张露、徐美玲、顾慧丹、楼超群、王晓丽、申蓉、张立元、闻伯芹、叶沐阳、陆秀凤、刘晓萌、张晓娴。

应用 EMR-Lipid 检测乳和乳制品中兽药残留量

1 范围

本文件规定了乳和乳制品中氯霉素、氟苯尼考、甲砜霉素、林可霉素、替米考星、诺氟沙星、恩诺沙星、环丙沙星残留快速检测方法的试剂、仪器和耗材、操作步骤、结果判定等技术要求。

本文件适用于乳和乳制品。

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 20762-2006 畜禽肉中林可霉素、竹桃霉素、红霉素、替米考星、泰乐菌素、克林霉素、螺旋霉素、吉它霉素、交沙霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

GB/T 21312-2007 动物源性食品中14种喹诺酮药物残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法

GB/T 22338-2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样提取液经均质、超声提取、离心，取上清液经 Captiva EMR-Lipid 净化，净化液经氮气吹干，定容，微孔滤膜过滤，液相色谱-质谱/质谱仪测定。

5 试剂和材料

5.1 甲酸（HCOOH）

5.2 乙腈（CH_3CN）：液相色谱级

5.3 0.1%甲酸-水溶液：向 100 mL 容量瓶中加入 0.1 mL 甲酸，用水定容至刻度

5.4 5%甲酸-乙腈提取液：取 50 mL 甲酸，加乙腈稀释至 1000 mL

5.5 氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考：纯度≥95%

5.6 林可霉素、替米考星：纯度≥95%

5.7　恩诺沙星、环丙沙星和诺氟沙星标准物质：纯度≥99%

6　标准品、标准储备液和标准工作液配制

6.1　标准储备液配置

分别准确称取适量的氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考、林可霉素、替米考星、恩诺沙星、环丙沙星和诺氟沙星标准物质（5.5、5.6、5.7）（精确到0.1 mg），用甲醇配成500 μg/mL的标准储备液（4°C避光保存可使用6个月）。

6.2　标准工作溶液

分别准确移取适量的氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考、林可霉素、替米考星、恩诺沙星、环丙沙星和诺氟沙星标准储备液，用甲醇稀释成合适浓度的混合标准工作溶液（现用现配）。

7　仪器和设备

液相色谱-串联质谱仪（配有电喷雾离子源），分析天平（精确至0.0001 g），涡旋振荡器，冷冻离心机，移液枪（200 μL、1 mL），氮吹仪。

8　分析步骤

8.1　试液提取净化

8.1.1　乳、发酵乳和风味发酵乳等液态乳制品

称取 2 g（精确至 0.01 g）混匀的试样，置于 50 mL 离心管中，准确加入 5%甲酸-乙腈提取液（5.4）10 mL，涡旋振荡 1 min，超声提取 10 min，5000 r/min、5°C 离心 5 min。取全部上清液过 Captiva EMR-Lipid 柱净化（无需活化），收集滤液于玻璃管中氮气吹干，残渣用 2 mL 0.1%甲酸-水溶液（5.3）复溶，过 0.45 μm 滤膜至进样瓶，待上机测定。

8.1.2　乳粉和粉状乳制品

称取 0.5 g（精确至 0.01 g）混匀的试样，置于 50 mL 离心管中，准确加入 5%甲酸-乙腈提取液 10 mL，涡旋振荡 1 min，超声提取 10 min，5000 r/min、5°C 离心 5 min。取全部上清液过 Captiva EMR-Lipid 柱净化（无需活化），收集滤液于玻璃管中氮气吹干，残渣用 2 mL0.1%甲酸-水溶液复溶，过 0.45 μm 滤膜至进样瓶，待上机测定。

8.2　液相色谱-质谱/质谱测定

8.2.1　液相色谱条件

8.2.1.1　色谱柱：Zorbax SB-C18、3.5 μm、2.1 mm*100 mm、或其他等效柱

8.2.1.2　流动相：A（0.1%　甲酸水溶液）、B（0.1%　甲酸-乙腈）梯度洗脱（梯度洗脱程序参见表 1）

8.2.1.3　流速：0.4 mL/min

8.2.1.4　进样量：5 μL

8.2.1.5　柱温：35°C

表 1 梯度洗脱程序

化合物	时间/min	0.1%甲酸-水	0.1%甲酸-乙腈
氯霉素、氟苯尼考、甲砜霉素	0.00	90.00	10.00
	1.00	90.00	10.00
	4.00	55.00	45.00
	4.10	90.00	10.00
	8.00	90.00	10.00
林可霉素、替米考星	0.00	95.00	5.00
	2.00	95.00	5.00
	8.00	10.00	90.00
	10.00	10.00	90.00
	10.10	95.00	5.00
诺氟沙星、恩诺沙星、环丙沙星	0.00	85.00	15.00
	1.00	85.00	15.00
	3.00	80.00	20.00
	6.00	5.00	95.00
	6.10	85.00	15.00
	8.00	85.00	15.00

8.2.2　**质谱/质谱条件**

离子源：电喷雾离子源；电离模式：正/负离子模式；质谱扫描方式：多反应监测(MRM)；其他参考质谱条件见附录A。

8.2.3　**定性测定**

按照上述条件测定样品和建立标准工作曲线，如果样品中化合物质量色谱峰的保留时间与标准溶液的保留时间相比中允许偏差±2.5%之内；待测化合物定性离子对的重构离子色谱峰的信噪比大于或等于3（S/N ≥3），定量离子对的重构离子色谱峰的信噪比大于或等于 10（S/N ≥10）；定性离子对的相对丰度与浓度相当的标准溶液相比，相对丰度偏差不超过表 2 的规定，则可判断样品中存在相应的目标化合物。

参考保留时间见附录 B。

表 2 定性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%
允许相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

8.3 空白试验

不称取试样，按8.1的步骤做空白实验。

9 结果计算

外标法定量，按式（1）计算药物残留量。

$$X = \frac{C \times V \times K}{m} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（1）$$

式中：

X——试样中待测组分残留量，单位为微克每千克（μg/kg）；

C——根据标准曲线计算得到的试样中待测组分的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V——定容体积，单位为毫升（mL）；

K——稀释倍数；

m——试样的称样量，单位为 g。

10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

附　录　A

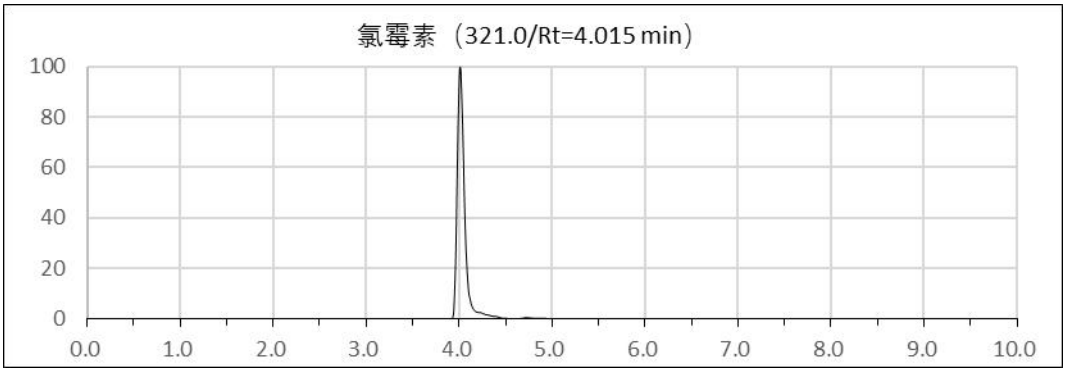
（资料性附录）

药物中英文名称、CAS 号、分子式和定量离子对

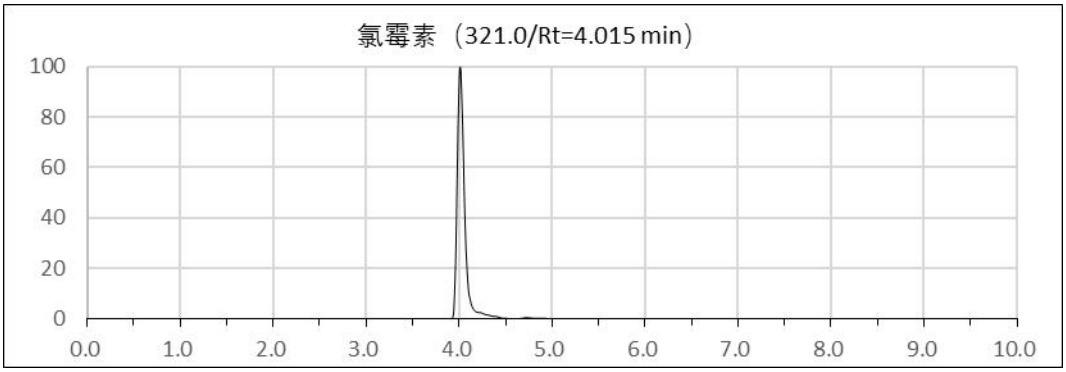
中文名称	CAS 号	分子式	定量离子对	碰撞气能量/V	去簇电压/V
氯霉素	56-75-7	$C_{11}H_{12}C_{l2}N_2O_5$	321.0/151.9* 321.0/256.9	116 116	21 9
氟苯尼考	73231-34-2	$C_{12}H_{14}Cl_2FNO_4S$	355.9/336.0* 355.9/184.9	126 126	5 21
甲砜霉素	15318-45-3	$C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$	353.9/289.9* 353.9/184.9	131 131	9 21
林可霉素	154-21-2	$C_{18}H_{35}ClN_2O_6S$	407.2/126.1* 407.2/359.2	125 125	33 21
替米考星	108050-54-0	$C_{46}H_{80}N_2O_{13}$	869.4/174.2* 869.4/132.1	175 175	49 49
诺氟沙星	70458-96-7	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	320.3/302.3* 320.3/276.3	135 135	15 14
恩诺沙星	93106-60-6	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	360.3/316.4* 360.3/244.9	135 135	15 18
环丙沙星	85721-33-1	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	332.2/314.3* 332.2/288.3	135 135	15 14

附　录　B
（资料性附录）
8 种兽药的离子流色谱图

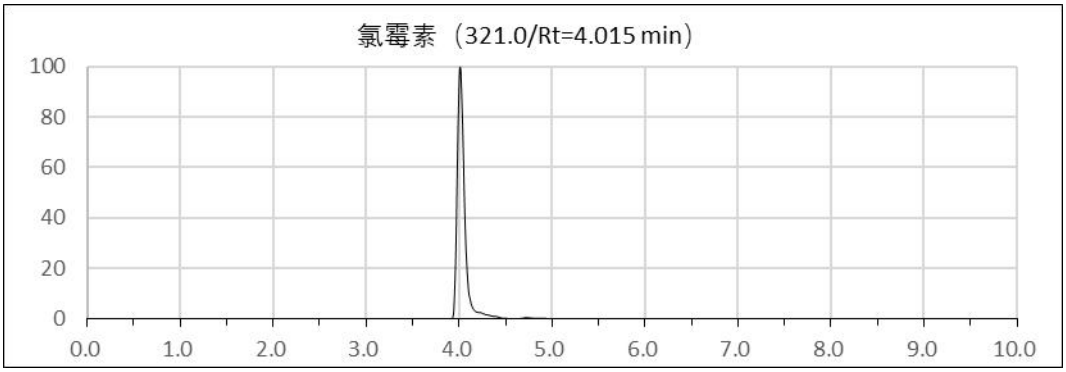
B.1 氯霉素



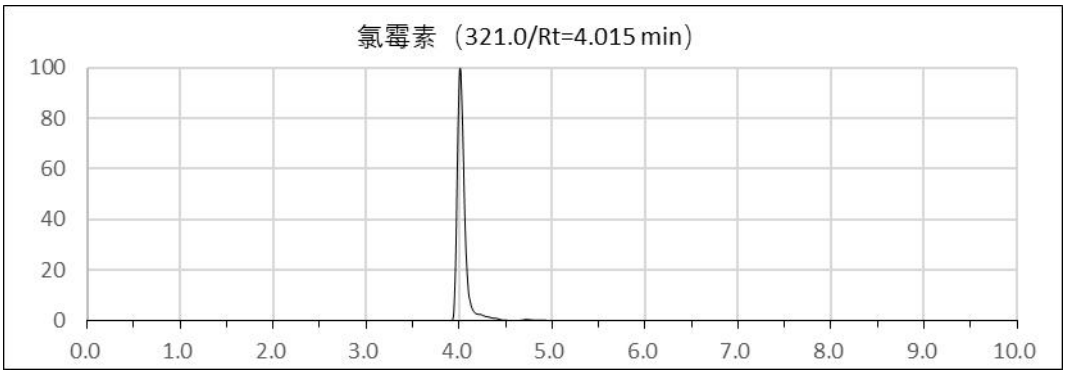
B.2 氟苯尼考



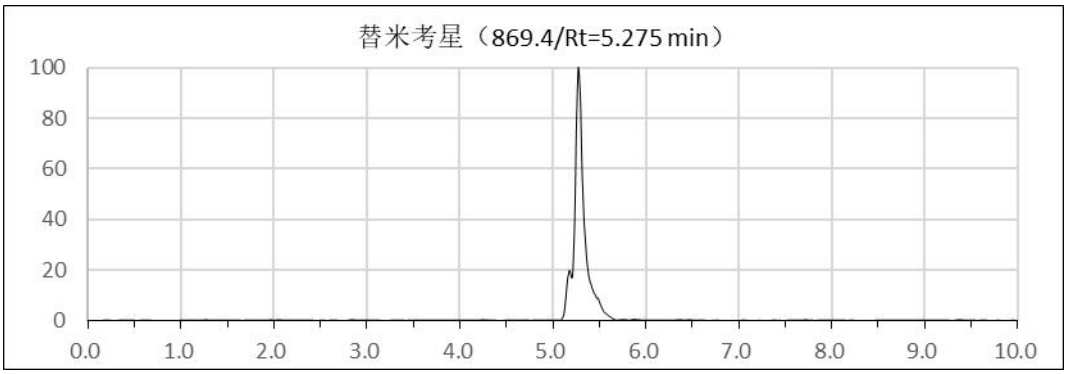
B.3 甲砜霉素



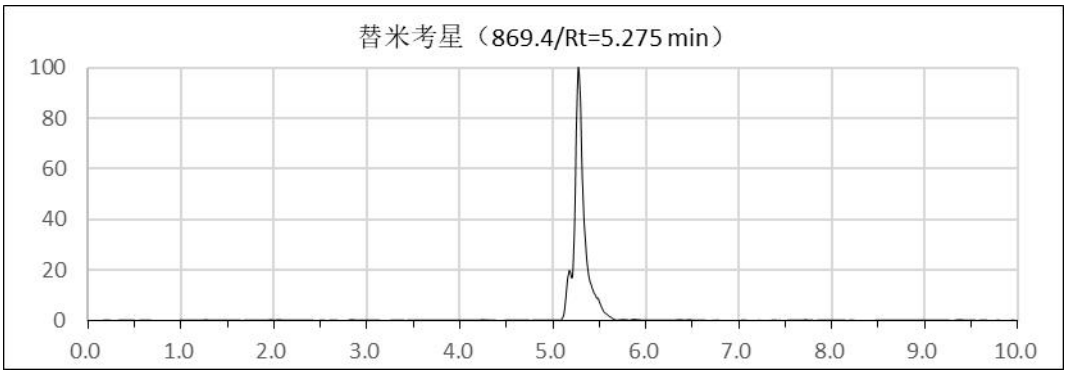
B.4 林可霉素



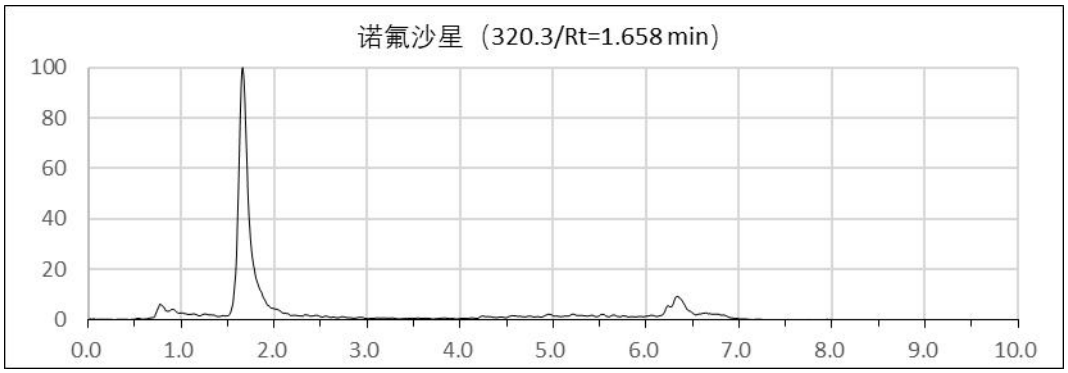
B.5 替米考星



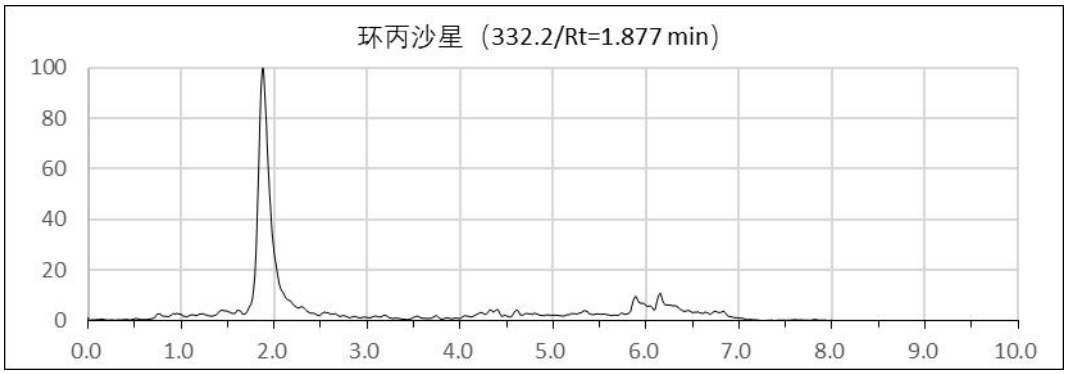
B.6 诺氟沙星



B.7 恩诺沙星



B.8 环丙沙星



T/JAASS X-2021

江苏省农学会团体标准

《应用EMR-Lipid检测乳和乳制品中兽药残留量》

2021年××月第一版　　2021年××月第一次印刷

版权专有　不得翻印