ICS67.050
M74/745/7452

团　体　标　准

T/CASXXXX—2019

动物源性食品中氟雷拉纳、洛替拉纳、沙罗拉纳和阿福拉纳残留量的测定液相色谱-串联质谱法

Determination of flurelana, lotirana, sarolana and afolana residues in foods of animal origin liquid chromatography-tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

内部讨论资料，严禁外传及授权使用

XXXX-XX-XX 发布　　XXXX-XX-XX 实施

中国标准化协会发布

内部讨论资料，严禁非授权使用

中国标准化协会（CAS）是组织开展国内、国际标准化活动的全国性社会团体。制定中国标准化协会标准（以下简称：中国标协标准），满足企业需要，推动企业标准化工作，是中国标准化协会的工作内容之一。中国境内的团体和个人，均可提出制、修订中国标协标准的建议并参与有关工作。

中国标协标准按《中国标准化协会标准管理办法》进行制定和管理。

中国标协标准草案经向社会公开征求意见，并得到参加审定会议的 75%以上的专家、成员的投票赞同，方可作为中国标协标准予以发布。

在本标准实施过程中，如发现需要修改或补充之处，请将意见和有关资料寄给中国标准化协会，以便修订时参考。

本标准版权为中国标准化协会所有，除了用于国家法律或事先得到中国标准化协会的许可外，不得以任何形式或任何手段复制、再版或使用本标准及其章节，包括电子版、影印件，或发布在互联网及内部网络等。

内部讨论资料，严禁非授权使用

中国标准化协会地址：北京市海淀区增光路 33 号中国标协写字楼
邮政编码：100048 电话：010-68487160 传真：010-68486206
网址：www.china-cas.org　　电子信箱：cas@china-cas.org

目 次

前言 III
1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 原理 1
4 试剂和材料 1
5 仪器和设备 2
6 试样的制备与保存 2
7 分析步骤 2
8 结果计算和表述 4
9 精密度 4
10 检出限和定量限 4
11 检验过程质量控制要求 5
附 录 A （规范性附录） 异噁唑啉类兽药中英文名称、结构式、分子式和 CAS 号 6
附 录 B （规范性附录） 异噁唑啉类兽药的多反应监测（MRM）色谱图（100ng/mL） 7
附 录 C （规范性附录） 不同基质中异噁唑啉类兽药的添加回收率和相对标准 8

内部讨论资料，严禁非授权使用

前言

本文件依据 T/CAS 1.1—2017《团体标准的结构和编写指南》编写。
本文件起草单位：
本文件起草人：
考虑到本文件中的某些条款可能涉及专利，中国标准化协会不负责对任何该类专利的鉴别。
本文件系首次制定发布。

内部讨论资料，严禁非授权使用

内部讨论资料，严禁非授权使用

动物源性食品中氟雷拉纳、洛替拉纳、沙罗拉纳和阿福拉纳残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了动物源食品中氟雷拉纳、洛替拉纳、沙罗拉纳和阿福拉纳等异噁唑啉类药物残留的液相色谱-串联质谱检测方法。

本文件适用于猪、牛、鸡、鸭的肌肉，肝脏及禽蛋中氟雷拉纳、洛替拉纳、沙罗拉纳和阿福拉纳残留量的定量检测。

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 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

GB/T 32465 化学分析方法验证确认和内部质量控制要求

3 原理

试样用乙腈提取，提取液经固相萃取净化，液相色谱-串联质谱校测，基质匹配校准曲线校正，外标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外，所有试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 甲醇（CH_3OH）：色谱纯。

4.1.2 乙腈（CH_3CN）：色谱纯。

4.1.3 甲酸铵（$HCOONH_4$）。

4.2 溶液配制

甲酸铵水溶液（5mmol/L）：称取 0.315g 甲酸铵（4.1.3）加水溶解并定容至 1L，混匀，过滤。

4.3 标准品

氟雷拉纳、洛替拉纳、沙罗拉纳和阿福拉纳的含量均≥95%，中文名称、英文名称、结构式、分子式等具体信息见附录 A。

4.4 标准溶液配制

内部讨论资料，严禁非授权使用

4.4.1 标准储备液（1mg/mL）：取氟雷拉纳、洛替拉纳、沙罗拉纳和阿福拉纳标准物质各 10mg，精密称定，用乙腈（4.1.2）溶解并定容至 10mL，混匀，配制成浓度为 1mg/mL 的标准储备液。-18℃以下避光保存，有效期 6 个月。

4.4.2 混和标准工作液（10μg/mL）：准确量取上述标准储备液（4.4.1）各 1mL 于 100mL 容量瓶中，用乙腈（4.1.2）稀释至刻度，配制成浓度为 10μg/mL 的混合标准工作液，4℃避光保存，有效期 1 个月。

4.4.3 基质标准工作溶液：使用前根据需要用空白样品基质溶液配制，现用现配。

4.5 材料

4.5.1 微孔尼龙滤膜：0.22μm。

4.5.2 PRiMe HLB 固相萃取柱：60mg/3mL，或相当者。

5 仪器和设备

a) 液相色谱-串联质谱联用仪：配电喷雾离子源
b) 分析天平：感量分别为 0.01mg 和 0.01g
c) 组织捣碎机
d) 离心机：5000 r/min
e) 氮吹仪
f) 涡旋振荡仪
g) 固相萃取装置
h) 超声波清洗器
i) 具塞聚丙烯离心管：50mL

6 试样的制备与保存

6.1 动物肌肉、肝脏组织

从全部样品中取出有代表性的样品约 500g，用组织捣碎机充分捣碎，均分成两份，分别装入洁净容器中，密封，并标明标记，-18℃冷冻保存。

注：样品取样部位按 GB 2763 附录 A 执行。

6.2 禽蛋

取 500g 禽蛋，去壳，均质，均分成两份，分别装入洁净容器中，密封，并标明标记，4℃冷藏保存。

7 分析步骤

供试样品应为新鲜制备或者冷藏、冷冻样品自然解冻所得。

7.1 样品前处理

准确称取 2g（精确至 0.01g）试样，置于 50mL 具塞聚丙烯离心管中，加入 10mL 乙腈（4.1.2）

内部讨论资料，严禁非授权使用

涡旋 1min，再超声提取 15min，5000r/min 离心 5min，收集上清液于一具刻度离心管中，40℃氮吹至约 1mL，待净化。

固相萃取小柱（4.5.2）无需预先活化和平衡，取 7.1 所得全部加入固相萃取小柱（4.5.2），以 1 滴/秒的流速通过小柱，收集全部流出液，40℃氮吹至近干，用 1.0mL 初始流动相溶解残渣，混匀，过 0.22μm 尼龙微孔滤膜，供液相色谱-串联质谱测定。

7.2 仪器参考条件

7.2.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱：C18 柱（100 mm×2.1 mm，1.8μm），或相当者；
b) 进样体积：2μL；
c) 柱温：30 ℃；
d) 流速：0.3mL/min；
e) 流动相：A 为 5mmol/L 甲酸铵水（4.2.1），B 为甲醇（4.1.1）；
f) 梯度洗脱：洗脱条件见表 1。

表 1 梯度洗脱条件

时间（min）	A（%）	B（%）
0.00	30.0	70.0
2.00	30.0	70.0
5.00	10.0	90.0
7.00	10.0	90.0
7.10	30.0	70.0
10.00	30.0	70.0

7.2.2 质谱参考条件

离子源：电喷雾离子源（ESI）；扫描方式：正/负离子扫描；监测方式：多反应监测（MRM）；干燥气温度：350℃；干燥气流量：5L/min；雾化气压力：45psi；鞘气温度：300℃；鞘气流量：11L/min；毛细管电压：3.5kV；喷嘴电压：500V；增益电压：300V。定量离子对、定性离子对、碎裂电压、碰撞能、扫描模式见表 2。

表 2 定量/定性离子对及其他参数条件

化合物名称	离子对（*m/z*）	碎裂电压（*V*）	碰撞能（*eV*）	扫描模式
氟雷拉纳	554/534*	135	10	ESI-
	554/424	135	15	ESI-
沙罗拉纳	581/444*	150	15	ESI+
	581/416	150	15	ESI+
洛替拉纳	596/181*	135	20	ESI-
	596/161	135	25	ESI-
阿福拉纳	624/604*	135	10	ESI-
	624/564	135	20	ESI-

注：*定量离子对

内部资料，严禁非授权使用

7.3 测定

7.3.1 定性判定

在相同测试条件下，样品中待测物质的保留时间，与基质标准溶液中相应峰的保留时间偏差在±2.5%以内；且样品中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的基质混合标准工作溶液中对应的定性离子的相对丰度比较，偏差不超过表 3 规定的范围，则可判定样品中存在对应的待测物。

表 3 定性确证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%
允许的最大偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.3.2 定量测定

基质混合标准工作溶液进样，以峰面积为纵坐标，基质混合标准工作溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量，样品溶液中待测物的响应值均应在线性范围内。

氟雷拉纳、洛替拉纳、沙罗拉纳和阿福拉纳的多反应监测（MRM）色谱图见附录 B。

7.4 空白实验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

8 结果计算和表述

采用外标法定量，按公式（1）计算试样中的药物残留量。

$$X_i = \frac{C \times V \times R}{M} \quad \cdots\cdots\cdots\

11 检验过程质量控制要求

11.1 耐用性试验要求

实验室应通过耐用性试验识别检测过程中的试剂、溶剂、温度、人员、时间等微小改变对检测准确度的影响，对检测结果有较大影响的因素，应提出有效控制措施，并写入 SOP 中，要求检验人员在检测中严格执行。

11.2 检测批次要求

每批检测样品均应附带空白（或阴性样品）、加标回收（或已知值样品）、待分析样品，检测顺序为：空白（或阴性样品）、加标回收（或已知值样品）、待分析样品；每间隔 20 个样品附带一组质量控制样品，如果样品批量不足 20 批次，也视为一批，实施完整的检测过程质量控制，若分析系统处于稳定状态，则可在其后的检测中适当加大批量，若分析系统处于不稳定状态，则应减小批量。

11.3 浓度要求

样品中目标组分的浓度应处于校准曲线工作范围内，最好位于校准曲线工作范围的中部，如果超出最高浓度时可以稀释样品后再测定；若低于校准曲线最低浓度时，可加大称样量后重新测定，直到满足上述要求。

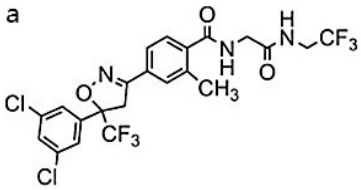
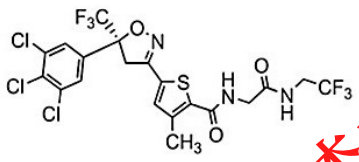
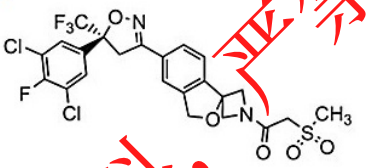
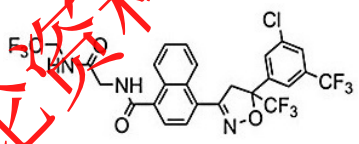
11.4 回收校准要求

一般情况下，应使用回收率校正检测结果。

内部讨论资料，严禁未授权使用

附　录　A
（规范性附录）
异噁唑啉类兽药中英文名称、结构式、分子式和 CAS 号

表 A.1　异噁唑啉类兽药中英文名称、结构式、分子式和 CAS 号

中文名称	英文名称	结构式	分子式	CAS 号
氟雷拉纳	Fluralaner	a 	$C_{22}H_{17}Cl_2F_6N_3O_3$	864731-61-3
洛替拉纳	Lotilaner	c 	$C_{20}H_{14}Cl_3F_6N_3O_3S$	1369852-71-0
沙罗拉纳	Sarolaner	b 	$C_{23}H_{18}Cl_2F_4N_2O_5S$	1398609-39-6
阿福拉纳	Afoxolaner	d 	$C_{26}H_{17}ClF_9N_3O_3$	1093861-60-9

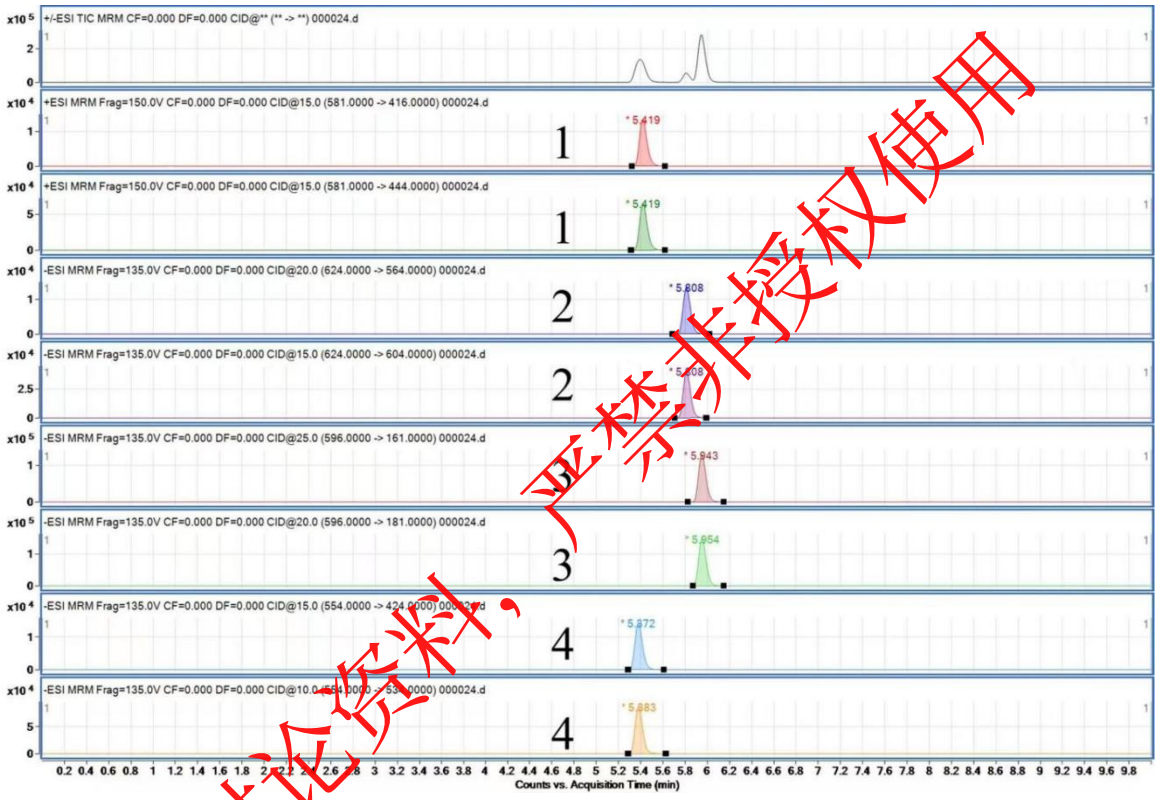
内部讨论资料，严禁非授权使用

附　录　B

（规范性附录）

异噁唑啉类兽药的多反应监测（MRM）色谱图（100ng/mL）

表 B.1　异噁唑啉类兽药的多反应监测（MRM）色谱图（100ng/mL）



标引序号说明：

1——沙罗拉纳；　　2——阿福拉纳；

3——洛替拉纳；　　4——氟雷拉纳。

内部讨论资料，严禁非授权使用

附　录　C
（规范性附录）
不同基质中异噁唑啉类兽药的添加回收率和相对标准

表 C.1 方法的回收率和精密度测试数据（n = 6）

样品类别	化合物	添加水平（μg/kg）	平均回收率 %	相对标准偏差 %
猪肉	氟雷拉纳	5	82.00	5.65
		10	84.20	3.66
		20	87.05	3.14
	沙罗拉纳	5	76.81	6.17
		10	81.60	3.69
		20	84.05	2.22
	洛替拉纳	5	82.74	7.12
		10	86.74	3.65
		20	89.75	1.49
	阿福拉纳	5	73.55	5.65
		10	82.73	2.01
		20	87.80	2.80
鸡肉	氟雷拉纳	5	83.78	3.11
		10	78.24	1.95
		20	90.75	2.92
	沙罗拉纳	5	74.94	4.53
		10	73.19	6.00
		20	84.39	6.36
	洛替拉纳	5	74.85	7.21
		10	73.80	5.13
		20	92.69	5.41
	阿福拉纳	05	74.79	7.05
		10	72.96	3.96
		20	92.08	5.23
鸡蛋	氟雷拉纳	5	71.86	6.42
		10	71.60	4.28
		20	90.87	4.72

内部讨论资料，严禁非授权使用

	沙罗拉纳	5	71.18	9.13
		10	73.47	8.68
		20	83.06	5.40
	洛替拉纳	5	70.36	9.13
		10	70.56	4.28
		20	83.19	5.78
	阿福拉纳	5	75.56	5.00
		10	74.38	5.71
		20	82.84	4.86
猪肝	氟雷拉纳	5	65.44	9.86
		10	68.31	5.77
		20	79.62	7.75
	沙罗拉纳	5	66.99	9.60
		10	73.37	9.26
		20	79.72	7.92
	洛替拉纳	5	69.40	9.13
		10	68.15	5.57
		20	83.66	6.62
	阿福拉纳	5	61.40	5.98
		10	65.30	6.91
		20	77.29	1.93
牛肉	氟雷拉纳	5	83.52	4.88
		10	88.64	2.37
		20	89.51	1.70
	沙罗拉纳	5	76.25	5.09
		10	86.57	3.93
		20	86.58	3.56
	洛替拉纳	5	73.69	4.40
		10	85.19	4.52
		20	87.22	3.85
	阿福拉纳	5	71.57	6.92
		10	81.68	4.47
		20	87.27	5.43
鸭肉	氟雷拉纳	5	80.69	3.41
		10	79.94	3.78
		20	88.67	4.91
	沙罗拉纳	5	80.88	5.00
		10	80.08	3.99
		20	82.88	4.42
	洛替拉纳	5	76.47	7.50

内部讨论资料，严禁非授权使用

		10	81.19	4.66
		20	86.34	4.84
	阿福拉纳	5	77.00	5.12
		10	77.56	4.74
		20	85.23	4.00

内部讨论资料，严禁非授权使用