



中华人民共和国国家标准

GB ×××××—××××

食品安全国家标准 动物性食品中氟虫腈及其代谢物残留量的 测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-

Determination of fipronil and metabolites residues in animal derived food by
liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

20××-××-××发布

××××-××-××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。

征求意见稿

食品安全国家标准

动物性食品中氟虫腈及其代谢物残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了动物性食品中氟虫腈及其代谢物残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于猪、牛、羊、鸡的肌肉、肝脏、肾脏、脂肪及鸡蛋，牛奶中氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚残留量的测定。

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

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试料中残留的药物，用酸化乙腈提取，经固相萃取柱净化后，液相色谱-串联质谱法测定，基质匹配外标法定量。

5 试剂与材料

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 冰乙酸（ CH_3COOH ）：色谱纯。

5.1.2 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。

5.1.3 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

5.1.4 无水硫酸镁（ MgSO_4 ）。

5.2 溶液配制

5.2.1 0.2%乙酸乙腈溶液：取冰乙酸2 mL，用乙腈稀释至1000 mL。

5.2.2 0.1%甲酸乙腈溶液：取甲酸1 mL，用乙腈稀释至1000 mL。

5.2.3 0.1%甲酸溶液：取甲酸1 mL，用水稀释至1000 mL。

5.2.4 50%酸化乙腈溶液：取 0.1%甲酸乙腈溶液500 mL，与 0.1%甲酸溶液500 mL混合。

5.3 标准品

氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈砒、氟虫腈硫醚含量均 $\geq 97.0\%$ 。具体见附录A。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液（100 $\mu\text{g/mL}$ ）：取氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚标准品各约10 mg，精密称定，于100 mL容量瓶中，用乙腈溶解并稀释至刻度，配制成浓度均为100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液， -18°C 以下避光保存，有效期12个月。

5.4.2 混合标准工作液（100 ng/mL）：精密量取标准储备液各0.1 mL，于100 mL容量瓶中，用50%酸化乙腈溶液稀释至刻度，配制成浓度为100 ng/mL混合标准工作液， 4°C 避光保存，有效期3个月。

5.5 材料

5.5.1 通过式反相混合型亲水亲脂平衡固相萃取柱：60 mg/3 mL，或相当者。

5.5.2 微孔尼龙滤膜：0.22 μm 。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源。

6.2 分析天平：感量 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.3 氮吹仪。

6.4 固相萃取装置。

6.5 涡旋混合器。

6.6 水平振荡器。

6.7 组织匀浆机。

6.8 低温高速离心机：转速不低于 8000 r/min。

7 试料的制备与保存

7.1 试料的制备

7.1.1 组织

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织，绞碎，并使均质。

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，添加适宜浓度的标准工作溶液，作为空白添加试料。

7.1.2 鸡蛋

取适量新鲜或冷藏的空白或供试鸡蛋，去壳后混合均匀。

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，添加适宜浓度的标准工作溶液，作为空白添加试料。

7.1.3 牛奶

取适量新鲜或解冻的空白或供试牛奶，混合均匀。

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，添加适宜浓度的标准工作溶液，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

称取试料2 g（准确至±0.02 g），于50 mL离心管，加 0.2 %乙酸乙腈溶液10 mL，加无水硫酸镁1 g，涡旋混匀，振荡10 min，于4 ℃、8000 r/min离心 10 min，取上清液，备用。

8.2 净化

准确吸取备用液2.0 mL过固相萃取柱，挤干，收集全部流出液于离心管中，40℃水浴氮气吹干。加入50%酸化乙腈溶液1.0 mL溶解残余物，涡旋，微孔滤膜过滤，供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

精密量取混合标准工作液适量，分别加入 6 份经提取和净化的空白试样残渣中，40 ℃水浴氮气吹干，加入50%酸化乙腈溶液1.0 mL涡旋溶解残余物，配制成浓度为0.4 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL 和 25.0 ng/mL 的基质匹配系列标准溶液，微孔滤膜过滤，供液相色谱-串联质谱仪测定。以测得特征离子峰面积为纵坐标，对应的标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线，求回归方程和相关系数。

8.4 测定

8.4.1 色谱参考条件

- a) 色谱柱：C₁₈（50 mm×2.1 mm，1.7 μm），或相当者；
- b) 柱温：30 ℃；
- c) 进样量：2 μL；
- d) 流速：0.3 mL/min；
- e) 流动相：A 为 0.1%甲酸溶液，B 为 0.1%甲酸乙腈溶液，梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	50	50
2.0	15	85
3.0	15	85
3.2	50	50
5.0	50	50

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：负离子扫描；
- c) 检测方式：多反应监测；
- d) 脱溶剂气、锥孔气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适气体；
- e) 离子源温度：550 ℃；
- f) 喷雾电压：−4500 V；
- g) 雾化气压力：345 kPa；

- h) 加热气压力: 345 kPa;
i) 气帘气压力: 210 kPa;
j) 监测离子参数情况见表 2。

表2 特征离子参考质谱条件

药物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	去簇电压 V	碰撞电压 eV
氟虫腈	434.9>330.0	434.9>330.0	90	23
	434.9>250.0		90	34
氟甲腈	387.2>351.1	387.2>351.1	90	17
	387.2>282.1		90	39
氟虫腈砒	451.0>282.0	451.0>282.0	90	23
	451.0>415.0		90	38
氟虫腈硫醚	419.0>383.0	419.0>383.0	90	17
	419.0>314.0		90	26

8.4.3 定性测定

在同样测试条件下, 试样溶液中氟虫腈及其代谢物的保留时间与基质匹配标准溶液中氟虫腈及其代谢物的保留时间, 偏差在 $\pm 2.5\%$ 以内, 且检测到的离子的相对丰度, 应当与浓度相当的基质匹配标准溶液相对离子丰度一致。其允许偏差应符合表3要求。

表3 定性确证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
允许的最大偏差	± 20	± 25	± 30	± 50

8.4.4 定量测定

按8.4.1和8.4.2设定仪器条件, 以基质匹配标准溶液浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准工作曲线, 作单点或多点校准, 按外标法计算试样中药物的残留量。基质匹配标准溶液及试样溶液中目标物响应值均应在仪器检测的线性范围内。基质匹配标准溶液特征离子质量色谱图见附录B。

8.4.5 空白试验

取空白试料, 除不加药物外, 采用完全相同的步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中待测物的残留量按标准曲线或公式(1)计算。

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

式(1)中:

- X—试样中氟虫腈或各代谢物残留量的数值, 单位为微克每千克 ($\mu\text{g}/\text{kg}$);
 C_s —基质匹配标准溶液中氟虫腈或各代谢物浓度的数值, 单位为纳克每毫升 (ng/mL);
A—试样溶液中氟虫腈或各代谢物的色谱峰面积;
 A_s —基质匹配标准溶液中氟虫腈或各代谢物的色谱峰面积;
 V_1 —加入提取液体积的数值, 单位为毫升 (mL);
 V_2 —过柱备用液体积的数值, 单位为毫升 (mL);

V_3 —试样最终定容体积的数值，单位为毫升（mL）；

m —供试试样质量的数值，单位为克（g）；

10 检测方法的灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚在猪、牛、羊、鸡的肌肉、肝脏、肾脏、脂肪及鸡蛋，牛奶中的检测限均为 $1.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限均为 $2.5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈硫醚在猪、牛、羊、鸡的肌肉、肝脏、肾脏、脂肪及鸡蛋，牛奶 $2.5\ \mu\text{g}/\text{kg}\sim 50\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $60\%\sim 120\%$ 。

10.3 精密度

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

附录 A

(资料性)

氟虫腈及其代谢物中英文通用名称、化学分子式和CAS号

氟虫腈及其代谢物中英文通用名称、化学分子式和CAS号见表A.1

表 A.1 氟虫腈及其代谢物中英文通用名称、化学分子式和CAS号

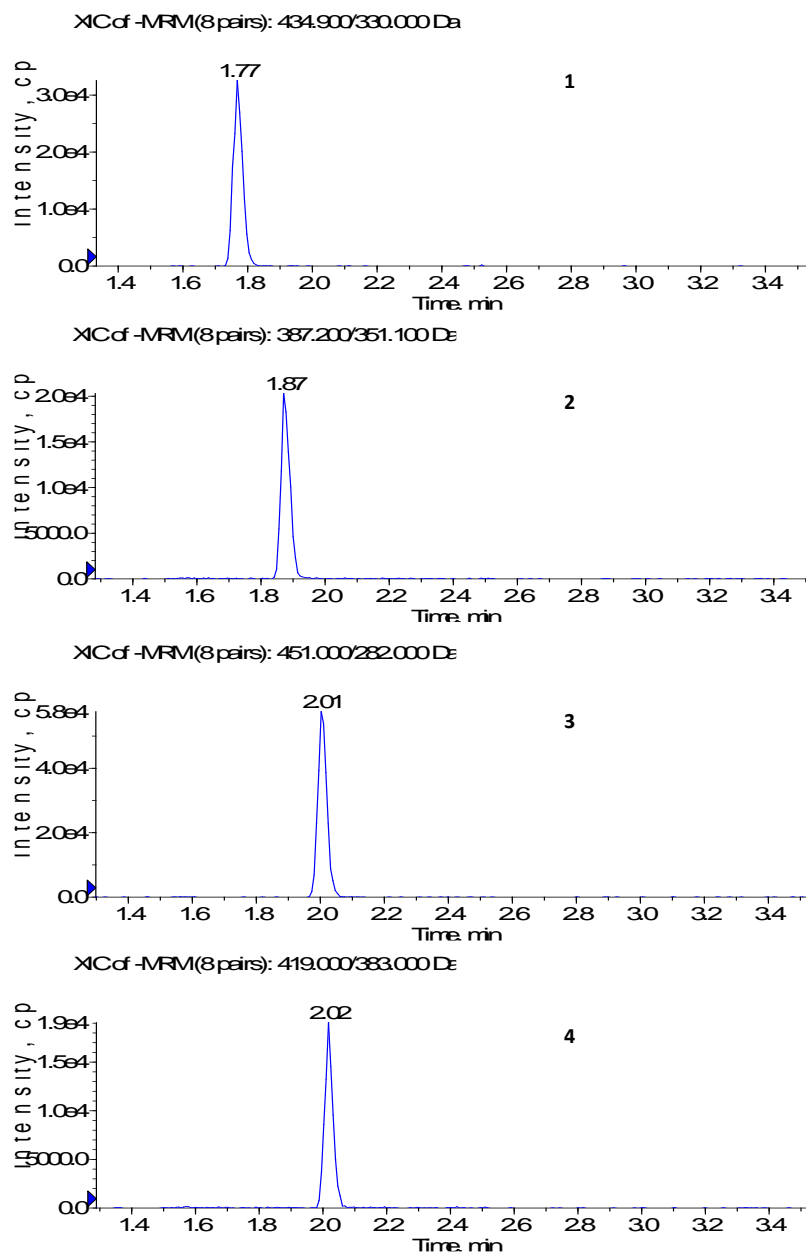
中文通用名称	英文通用名称	化学分子式	CAS号
氟虫腈	fipronil	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$	120068-37-3
氟甲腈	fipronil-desulfinyl	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4$	205650-65-3
氟虫腈砒	fipronil-sulfone	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4O_2S$	120068-36-2
氟虫腈硫醚	fipronil-sulfide	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4S$	120067-83-6

附录 B

(资料性)

氟虫腈及其代谢物基质(鸡蛋)匹配标准溶液特征离子质量色谱图

氟虫腈及其代谢物基质(鸡蛋)匹配标准溶液特征离子质量色谱图见图B.1



标引序号说明: 1-氟虫腈特征离子质量色谱图(434.9>330.0)

2-氟甲腈特征离子质量色谱图(387.0>351.0)

3-氟虫腈砒特征离子质量色谱图(451.0>282.0)

4-氟虫腈硫醚特征离子质量色谱图(419.0>383.0)

图 B.1 氟虫腈及其代谢物基质(鸡蛋)匹配标准溶液特征离子质量色谱图(1.0 ng/mL)