



中华人民共和国国家标准

GBXXXXX—XXXX

食品安全国家标准 水产品中氨苯砒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 dapsone and its metabolites residues
in fishery products by liquid chromatography-tandem mass spectrometric method

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 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
国家市场监督管理总局

发布

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。

征求意见稿

食品安全国家标准

水产品中氨苯砒及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中氨苯砒及其代谢物N-乙酰氨苯砒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、蟹、贝、海参可食组织中氨苯砒及其代谢物N-乙酰氨苯砒残留量的测定。其他水产品参照执行。

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 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

试样经1%氨化乙腈提取，提取液经正己烷去脂，混合型阳离子交换固相萃取柱净化，洗脱液浓缩后用10%甲醇溶液复溶，用液相色谱-串联质谱仪测定，内标法定量。

5 试剂与材料

除非另有说明，所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

5.1.2 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

5.1.3 正己烷（C₆H₁₄）：色谱纯。

5.1.4 氨水（NH₃·OH）：25%~28%。

5.1.5 浓盐酸（HCl）：35%~37%。

5.2 溶液配制

5.2.1 1%氨化乙腈溶液：取10 mL氨水用乙腈稀释至1000 mL，混匀。

5.2.2 6%氨化乙腈溶液：取60 mL氨水用乙腈稀释至1000 mL，混匀。

5.2.3 0.1 mol/L 盐酸溶液：取8.4 mL盐酸用水稀释至1000 mL，混匀。

5.2.4 10%甲醇溶液：取10 mL甲醇用水稀释至100 mL，混匀。

5.3 标准品

氨苯砒、N-乙酰氨苯砒、氨苯砒-D8 标准品，含量均≥97.0%，见附录A。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液：取氨苯砒和N-乙酰氨苯砒标准品各适量（相当于各待测组分10 mg），精密称定，

用甲醇溶解并稀释定容至 100 mL 棕色容量瓶，混匀，配制成浓度为 100 mg/L 的标准储备液。-18℃ 以下避光保存，有效期 6 个月。

5.4.2 混合标准中间液 1：准确量取上述标准储备液适量，用甲醇稀释配制成浓度为 1.0 mg/L 的混合标准中间液，-18℃ 以下避光保存，有效期 3 个月。

5.4.3 混合标准中间液 2：准确量取混合标准中间液 1 适量，用甲醇稀释配制成浓度为 20 μg/L 混合标准中间液。-18℃ 以下避光保存，有效期 1 个月。

5.4.4 内标储备液：取适量氨苯砒-D8 标准品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释定容至 100 mL 棕色容量瓶，混匀，配制成浓度为 20 mg/L 的内标储备液。-18℃ 下避光保存，有效期 3 个月。

5.4.5 内标中间液：准确量取内标标准储备液适量，用甲醇稀释配制成浓度为 100 μg/L 的内标中间液。-18℃ 下避光保存，有效期 1 个月。

5.4.6 混合标准工作液：准确量取适量标准中间液 2 和内标中间液，用 10% 的甲醇配制成氨苯砒和 N-乙酰氨苯砒浓度分别为 0.1 ng/mL、0.2 ng/mL、0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL，氨苯砒-D₈ 浓度均为 2.0 ng/mL 的系列混合标准工作液。临用现配。

5.5 材料

5.5.1 混合型阳离子交换固相萃取柱：150mg/6mL，或相当者。

5.5.2 微孔滤膜：0.22 μm 聚醚砜微孔滤膜。

6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源。

6.2 冷冻离心机：8000 r/min 或以上。

6.3 电子天平：感量为 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.4 涡旋混合器。

6.5 振荡器。

6.6 超声波清洗器。

6.7 固相萃取装置。

6.8 氮吹仪。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

按 GB/T 30891 附录 B 的要求制样。

——取均质后的供试样品，作为供试试样。

——取均质后的空白样品，作为空白试样。

——取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准中间液，作为空白添加试样。

7.2 试样的保存

乳试样密封冷藏保存；乳粉试样室温避光保存。

8 测定步骤

8.1 提取

准确称取试料 (2 ± 0.02) g, 于50 mL离心管, 加内标中间液20 μ L, 涡旋混合30s, 放置10 min, 加入1%氯化乙腈溶液10 mL 振荡提取30 s, 涡旋混合2 min, 超声5 min, 8000 r/min冷冻离心10 min, 将全部上清液转移至50 mL离心管中, 残渣用1%氯化乙腈溶液5 mL 重复提取一次, 合并两次提取液待净化。

8.2 净化

往上述待净化液中加入5mL正己烷, 涡旋混合, 4000 r/min离心5 min, 弃去正己烷层, 再用5mL正己烷重复去脂一次。下层乙腈溶液转移至20 mL刻度玻璃管, 于45℃氮吹至0.5 mL以下, 加乙腈至1 mL, 再加入9 mL 0.1 mol/L的盐酸溶液, 混匀。混合型阳离子交换固相萃取柱依次用L甲醇6 mL和 0.1 mol/L盐酸溶液6 mL活化, 样液过柱, 流速控制在约1滴/s, 弃去流出液。再依次用 0.1 mol/L的盐酸溶液6 mL和甲醇6 mL淋洗, 抽干。用6%氯化乙腈溶液6 mL洗脱洗脱于10mL刻度试管收集, 45℃氮吹至近干, 用1 mL 10%的甲醇溶液溶解残余物, 涡旋混匀1 min, 过0.22 μ m滤膜至进样瓶中, 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1.0 mL系列混合标准工作液, 分别加至6份经8.1、8.2步骤提取和净化吹干后的空白试样残渣中, 涡旋溶解残余物, 过0.22 μ m滤膜至进样瓶中, 配制成浓度: 0.1 μ g/L、0.2 μ g/L、0.5 μ g/L、1.0 μ g/L、2.0 μ g/L、5.0 μ g/L的系列基质匹配标准溶液, 系列基质匹配标准溶液内标浓度为2.0 μ g/L, 现用现配。将配制的系列基质匹配标准溶液上机, 以氨苯砞或N-乙酰氨苯砞与氘代氨苯砞特征离子质量峰面积比值为纵坐标, 氨苯砞或N-乙酰氨苯砞浓度为横坐标, 绘制标准曲线。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱: C₁₈柱 (100 mm×2.0 mm, 3 μ m) 或相当者;
- 流动相: A: 水, B: 甲醇, 梯度洗脱条件见表 1;
- 流速: 0.3 mL/min;
- 柱温: 40 °C;
- 进样量: 5 μ L。

表1 流动相梯度洗脱条件

| 时间 min | A % | B % |
|-----------|--------|--------|
| 0.0 | 85 | 15 |
| 1.5 | 55 | 45 |
| 3.0 | 55 | 45 |
| 4.0 | 10 | 90 |
| 4.5 | 10 | 90 |
| 6.0 | 85 | 15 |

8.4.2 质谱参考条件

- 电离方式: 电喷雾电离, 正离子模式;
- 数据采集: 多反应监测 (MRM), 质谱参数参见表 2;
- 电喷雾电压: 5500 V;
- 离子传输毛细管温度: 550°C;
- 雾化气: 50 psi;
- 辅助气: 50 psi;
- 碰撞气体: 氮气;

表2 化合物的母离子及定量定性离子、碰撞能量

| 药物 | 定性离子对 m/z | 定量离子 m/z | 碰撞能量 eV |
|---------|--------------|-------------|------------|
| 氨苯砜 | 249.0>156.0 | 249.0>156.0 | 19 |
| | 249.0>108.0 | | 29 |
| N-乙酰氨苯砜 | 291.0>197.9 | 291.0>197.9 | 21 |
| | 291.0>155.9 | | 20 |
| 氨苯砜- D8 | 257.2>160.2 | 257.2>160.2 | 19 |

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在同样测试条件下,试样溶液中的氨苯砜及其代谢物的保留时间与基质匹配标准溶液中相应组分的保留时间相比,偏差在±0.1min以内,且检测到的相对离子比率,应当与浓度相当的基质匹配标准溶液相对离子比率一致,其允许相对偏差不超过±40%。

8.4.3.2 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,以氨苯砜或N-乙酰氨苯砜与氘代氨苯砜特征离子质量峰面积比值为纵坐标,绘制标准工作曲线,作单点或多点校准,按内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的目标物响应值均在仪器检测的线性范围内。对于试样中氨苯砜及其代谢物药物残留量超过仪器测定线性范围的,在提取时根据药物浓度增加内标中间液的添加量,使溶液稀释后的待测物响应值在仪器线性范围内,对应内标物浓度与标准曲线中内标物浓度一致。基质匹配标准溶液特征离子色谱图参见附录B。

8.5 空白试验

取空白试样,除不加药物外,采用相同的测定步骤进行平行操作。 ρ_s

9 结果计算

试样中氨苯砜或N-乙酰氨苯砜的残留量按标准曲线或按式(1)计算:

$$\omega = \frac{\rho_s \times \rho_{is} \times A \times A'_{is} \times V \times 1000}{A_{is} \times A_s \times \rho'_{is} \times m \times 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中:

ω —试样中氨苯砜或N-乙酰氨苯砜残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

ρ_s —标准溶液中氨苯砜或N-乙酰氨苯砜的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

ρ_{is} —试样溶液中内标物的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

ρ'_{is} —标准溶液中内标物的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

A —试样溶液中氨苯砜或N-乙酰氨苯砜的峰面积;

A_s —标准溶液中氨苯砜或N-乙酰氨苯砜的峰面积;

A_{is} —试样溶液中内标物的峰面积;

A'_{is} —标准溶液中内标物的峰面积;

V —最终定容体积,单位为毫升(mL);

m —试样质量,单位为克(g);

注：计算结果不小于 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 的保留3位有效数字， $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下保留至小数点后2位。

10 方法灵敏度、正确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法检测限为 $0.1\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $0.2\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 正确度

本方法在 $0.2\mu\text{g}/\text{kg}\sim 2.0\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度范围内，回收率为70%~120%。

10.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

征求意见稿

附录 A

(规范性)

氨苯砒及其代谢物化合物信息

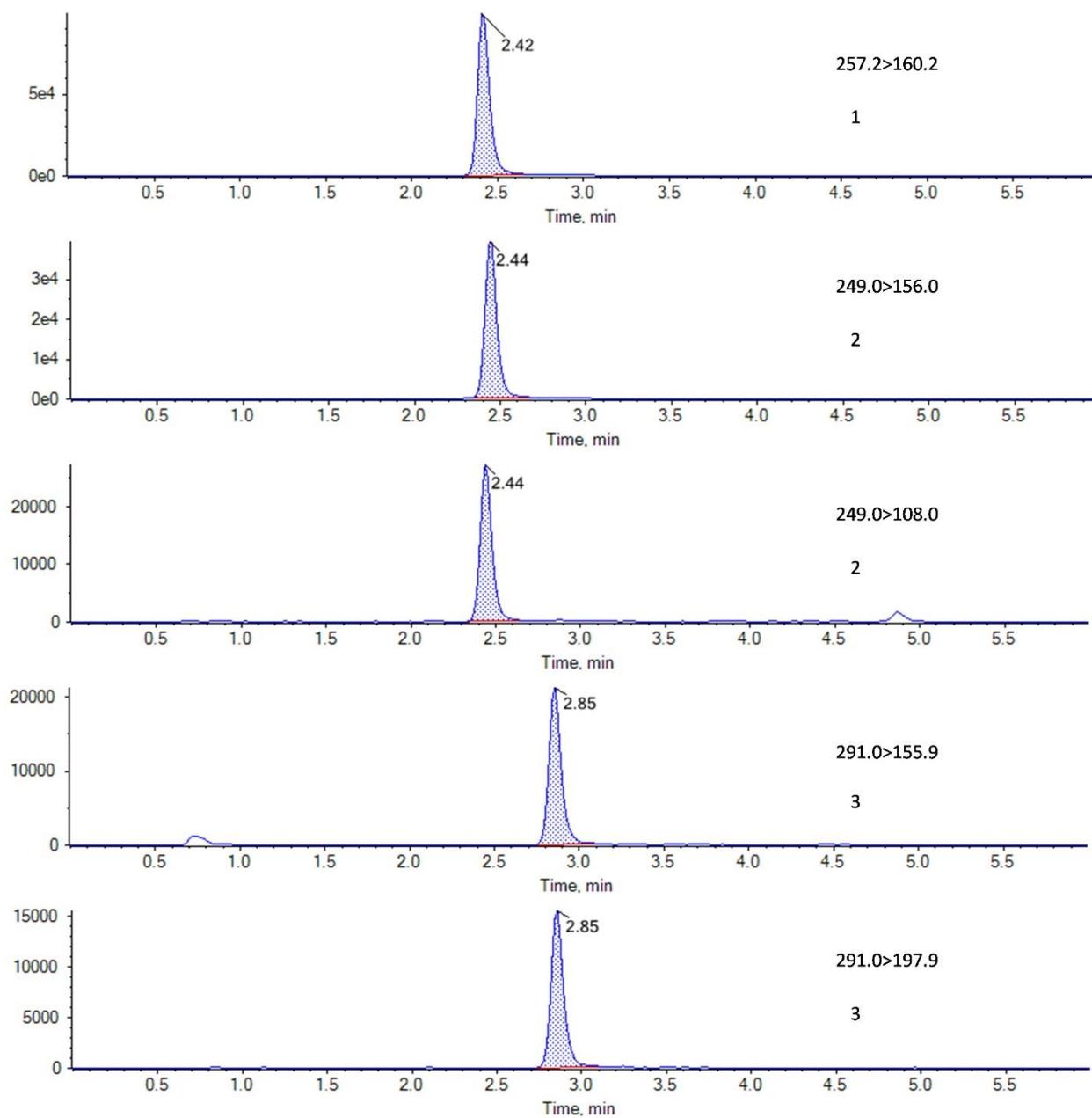
氨苯砒、N-乙酰氨苯砒及内标物的中英文名称、CAS号、化学分子式及相对分子质量参见表A.1。

表A.1 吩噻嗪类化合物标准物质的信息

| 序号 | 中文名称 | 英文名称 | CAS 号 | 分子式 | 相对分子质量 |
|----|-----------------------------|------------------|-------------|-----------------------|--------|
| 1 | 氨苯砒 Dapsone | Dapsone | 80-08-0 | $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ | 248.3 |
| 2 | N-乙酰氨苯砒 N-Acetyl Dapsone | N-Acetyl Dapsone | 565-20-8 | $C_{14}H_{14}N_2O_3S$ | 290.3 |
| 3 | 氨苯砒-D8 Dapsone -D8 | Dapsone -D8 | 557794-38-4 | $C_{12}H_4D_8N_2O_2S$ | 256.3 |

附录 B
(资料性)
标准物质选择离子质量色谱图

氨苯砷、N-乙酰氨苯砷标准物质特征离子质量色谱图参见图B.1。



图B.1 基质匹配混合标准溶液特征离子质量色谱图 (0.5 $\mu\text{g/L}$)