

中华人民共和国国家标准

GBxxxx—20xx

食品安全国家标准 动物性食品中碘醚柳胺残留量的测定 高效液相色谱法

National food safety standards—
Determination of rafoxanidum residues in animal derived food
by high performance liquid chromatography
(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

本标准系首次发布。

征求意见稿

食品安全国家标准
动物性食品中碘醚柳胺残留量的测定
高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了动物性食品中碘醚柳胺的制样和高效液相色谱测定方法。
本标准适用于牛、羊的肌肉、肝脏、肾脏和脂肪组织中碘醚柳胺残留量的测定。

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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样中残留的碘醚柳胺，经乙腈-丙酮溶液提取，混合型阴离子交换固相萃取柱净化，高效液相色谱-荧光法测定，外标法定量。

4 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。

4.1 试剂

4.1.1 乙腈(CH₃CN)：色谱纯。

4.1.2 甲酸(HCOOH)：色谱纯。

4.1.3 乙酸乙酯(C₄H₈O₂)。

4.2 溶液配制

4.2.1 0.1%甲酸溶液：取 0.1 mL 甲酸，加水至 100 mL，混匀即得。

4.2.2 1%甲酸乙腈溶液：取 1.0 mL 甲酸，加乙腈至 100 mL，混匀即得。

4.2.3 乙腈-0.1%甲酸溶液：取 85 mL 乙腈，加 0.1%甲酸水溶液 15 mL，混匀即得。

4.2.4 乙腈-丙酮溶液：取80 mL乙腈，加丙酮20 mL，混匀即得。

4.3 标准品

碘醚柳胺对照品 (Rafloxanide, C₁₉H₁₁Cl₂I₂NO₃, CAS 号: 22662-39-1)：含量≥98%，或相当者。

4.4 标准溶液制备

4.4.1 标准储备液：取碘醚柳胺标准品约 10 mg，精密称定，加乙腈适量使溶解并稀释定容至 100 mL 容量瓶，配制成浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液。-18℃以下避光保存，有效期 3 个月。

4.4.2 标准工作液：精密量取标准储备液 5 mL，于 50 mL 容量瓶中，用乙腈稀释至刻度，配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准工作液。4℃保存，有效期 1 周。

4.5 材料

4.5.1 固相萃取柱：混合型阴离子交换柱，150 mg/6cc，或相当者。

4.5.2 微孔尼龙滤膜：0.45 μm 。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪：配荧光检测器。

5.2 分析天平：感量 0.00001 g 和 0.01 g。

5.3 离心机。

5.4 组织匀浆机。

5.5 涡旋混合器。

5.6 固相萃取装置。

5.7 氮吹仪。

6 试料的制备与保存

6.1 试料的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织，绞碎，并使均质。

——取均质的供试样品，作为供试试样。

——取均质的空白样品，作为空白试样。

——取均质的空白样品，添加适宜浓度的标准溶液，作为空白添加试样。

6.2 试料的保存

-18℃以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试料 5 g（准确至 $\pm 1\%$ ）于 50 mL 离心管中，加乙腈-丙酮溶液（4.2.4）15 mL，涡旋 1 min，10000 r/min 离心 5 min，移取上清液。残渣再用 10 mL 乙腈-丙酮溶液（4.2.4）重复提取一次，合并上清液。

7.2 净化

固相萃取柱用 5 mL 乙腈-丙酮溶液（4.2.4）活化，加上清液，过柱。依次用乙酸乙酯 5 mL、乙腈 5 mL 淋洗小柱，挤干。用 1% 甲酸乙腈溶液（4.2.2）5 mL 洗脱，收集。洗脱液于 40℃ 水浴中氮气吹干。准确加乙腈 1 mL 溶解残渣，过 0.45 μm 滤膜，供高效液相色谱仪测定。

7.3 标准曲线的制备

精密量取碘醚柳胺标准工作液适量，用乙腈稀释成浓度为0.01 μg/mL、0.05 μg/mL、0.1 μg/mL、0.5 μg/mL、1 μg/mL、5 μg/mL的系列标准工作液，供高效液相色谱仪分析。以测得峰面积为纵坐标，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。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 粒径 5 μm), 或相当者;
- b) 流动相: 乙腈+0.1%甲酸溶液 (85+15, V/V);
- c) 流速: 1.0 mL/min;
- d) 检测波长: 激发波长: 335 nm; 发射波长: 510 nm;
- e) 柱温: 30℃;
- f) 进样量: 20 μL。

7.5 测定法

取试样溶液和标准溶液，做单点或多点校准，按外标法以色谱峰面积定量。试样溶液及标准溶液中碘醚柳胺的峰面积应在仪器检测的线性范围之内。在上述色谱条件下，标准溶液的高效液相色谱图见附录A。

7.6 空白试验

选取空白试样，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

8 结果计算和表述

试样中碘醚柳胺残留量按标准曲线或式 (1) 计算:

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

式中:

- X——试样中碘醚柳胺的残留量，单位为微克每千克 (μg/kg)；
- C_s——标准溶液中碘醚柳胺的浓度，单位为微克每升 (μg/L)；
- A——试样溶液中碘醚柳胺的色谱峰面积；
- A_s——对照溶液中碘醚柳胺的色谱峰面积；
- V——试样最终定容体积，单位为毫升 (mL)；
- m——供试试样质量，单位为克 (g)；

计算结果需扣除空白值，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。

9 方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法的检测限为2.5 μg/kg，定量限为5.0 μg/kg。

9.2 准确度

本方法在5~500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为70%~110%。

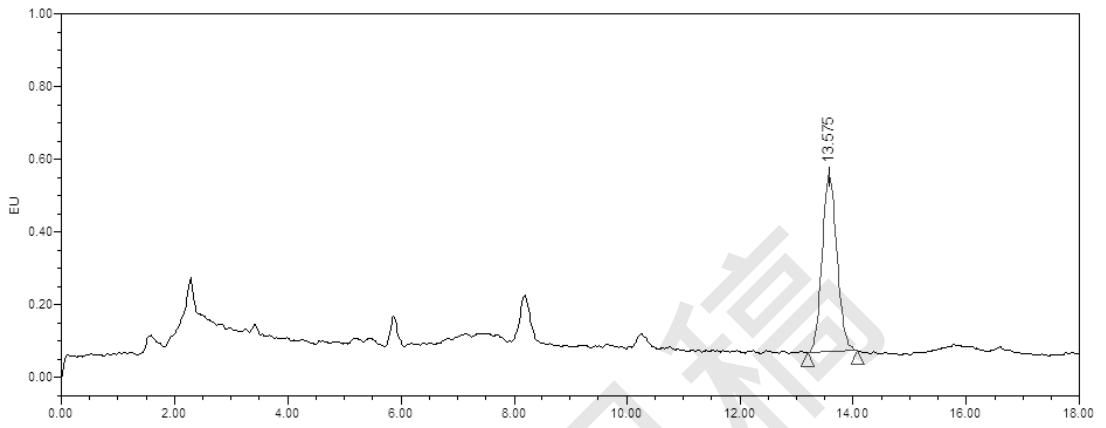
9.3 精密度

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

征求意见稿

附录A
(资料性附录)
色谱图

待测药物标准溶液色谱图见图A。



图A 碘醚柳胺标准溶液色谱图 (100 $\mu\text{g/L}$)