



中华人民共和国国家标准

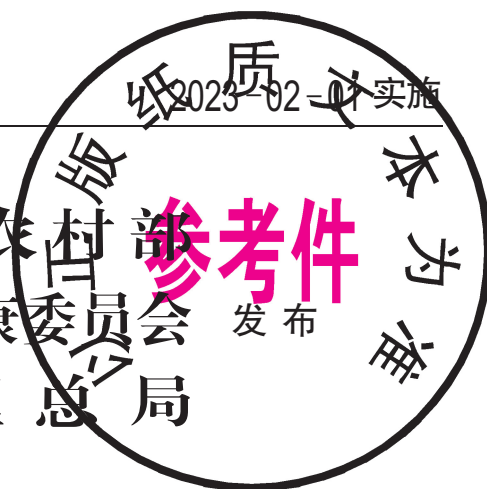
GB 31659.5—2022

食品安全国家标准 牛奶中利福昔明残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of rifaximin residue in milk
by liquid chromatography-tandem mass spectrometric method

2022-09-20 发布

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



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。



食品安全国家标准

牛奶中利福昔明残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了牛奶中利福昔明残留检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。
本文件适用于牛奶中利福昔明残留量的测定。

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

试样中残留的利福昔明经乙腈提取后,用固相萃取柱净化,液相色谱-串联质谱法测定,基质匹配标准溶液外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

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。

5.1.1 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

5.1.2 甲酸(CH_2O_2):色谱纯。

5.1.3 无水硫酸钠(Na_2SO_4)。

5.2 溶液配制

5.2.1 20%乙腈溶液:取 20 mL 乙腈,用水稀释至 100 mL。

5.2.2 0.1%甲酸乙腈溶液:取 1 mL 甲酸,用乙腈稀释至 1 000 mL。

5.2.3 0.1%甲酸溶液:取 1 mL 甲酸,用水稀释至 1 000 mL。

5.3 标准品

利福昔明(Rifaximin, $\text{C}_{43}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_{11}$,CAS号:80621-81-4),含量 $\geq 94.0\%$ 。

5.4 标准溶液的制备

5.4.1 标准储备液:取利福昔明标准品约 10 mg,精密称定,于 10 mL 容量瓶中,用乙腈溶解并稀释至刻度,配制成浓度为 1.0 mg/mL 的利福昔明标准储备液。 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 以下保存,有效期 6 个月。

5.4.2 标准中间液:精密量取利福昔明标准储备液 0.1 mL,于 10 mL 容量瓶中,用乙腈稀释至刻度,配制浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间液液。 $2\text{ }^\circ\text{C}\sim 8\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,有效期 3 个月。

5.4.3 标准工作液:精密量取利福昔明标准中间液 0.1 mL,于 10 mL 容量瓶中,用 20%乙腈溶液稀释至刻度,配制浓度为 100 ng/mL 的标准工作液。 $2\text{ }^\circ\text{C}\sim 8\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,有效期 3 个月。

5.5 材料

5.5.1 亲水亲脂固相萃取柱:500 mg/6 mL,或相当者。

5.5.2 亲水型微孔滤膜:0.22 μm 。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

6.2 分析天平:感量 0.000 01 g。

6.3 天平:感量 0.01 g。

6.4 涡旋混合器。

6.5 高速离心机。

6.6 氮吹仪。

6.7 水平振荡器。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试样品,混匀。

a) 取混匀后的供试样品,作为供试试样;

b) 取混匀后的空白样品,作为空白试样;

c) 取混匀后的空白样品,添加适宜浓度的标准工作液,作为空白添加试样。

7.2 试样的保存

-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试料 2 g(准确至 ± 0.05 g),置于 50 mL 离心管内,加入 8 mL 乙腈,再加无水硫酸钠 2 g,涡旋后,200 转/min 水平振荡 10 min。6 000 r/min 离心 8 min,取上清液,备用。

8.2 净化与浓缩

亲水亲脂固相萃取柱用 5 mL 乙腈活化后,取备用液过柱,并接于 15 mL 玻璃管内,再用 3 mL 乙腈一并洗脱于同一玻璃管内,挤干,于 50 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干。残余物用 20% 乙腈溶液 1.0 mL 溶解后,过 0.22 μm 微孔滤膜后上机测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

在空白试料经提取、净化、氮气吹干后的残余物中,依次加入用 20% 乙腈溶液配制的浓度为 10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL 系列标准溶液各 1.0 mL,充分溶解,得到基质匹配标准溶液,过滤膜后上机测定。以特征离子质量色谱峰面积为纵坐标、基质匹配标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱: C_{18} (50 mm \times 2.1 mm,1.7 μm),或性能相当者。

b) 流动相:A 为 0.1% 甲酸乙腈溶液,B 为 0.1% 甲酸溶液。梯度洗脱程序:0 min \sim 3 min,30% A 线性变化至 80% A;3 min \sim 4.5 min 保持 30% A。

c) 流速:0.3 mL/min。

d) 进样量:10 μL 。

e) 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$ 。

8.4.2 串联质谱参考条件

a) 离子源:电喷雾离子源;

- b) 扫描方式:正离子扫描;
- c) 检测方式:多反应离子监测(MRM);
- d) 电离电压:3.0 kV;
- e) 源温:110 °C;
- f) 雾化温度:350 °C;
- g) 锥孔气流速:50 L/h;
- h) 雾化气流速:650 L/h。

利福昔明定性、定量离子对和对应的锥孔电压、碰撞能量参考值见表 1。

表 1 利福昔明定性、定量离子对和对应的锥孔电压、碰撞能量

药物	定性离子对 <i>m/z</i>	定量离子对 <i>m/z</i>	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
利福昔明	786.6>754.7	786.6>754.7	30	30
	786.6>150.8			50

8.4.3 测定法

试样溶液的保留时间在基质匹配标准溶液保留时间的±2.5%之内。试样溶液中的离子相对丰度与基质匹配标准溶液中的离子相对丰度相比,符合表 2 的要求。

表 2 试样溶液中离子相对丰度的允许偏差范围

单位为百分号

相对丰度	允许偏差
>50	±20
20~50	±25
10~20	±30
≤10	±50

取基质匹配标准溶液和试样溶液,作单点或多点校准,按外标法,以峰面积计算。基质匹配标准溶液及试样溶液中利福昔明的峰面积应在仪器检测的线性范围之内,超出线性范围时应进行适当倍数稀释后再进行分析。基质匹配标准溶液中特征离子质量色谱图见附录 A 中图 A。

8.5 空白试验

取空白试料,除不加药物外,采用完全相同的测定步骤进行测定。

9 结果计算和表述

试样中利福昔明的残留量按标准曲线或公式(1)计算。

$$X = \frac{C \times A \times V}{A_s \times m} \times \frac{1000}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中利福昔明残留量的数值,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);
- C —— 基质匹配标准溶液中利福昔明浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- A —— 试样溶液中利福昔明的峰面积;
- V —— 溶解残余物所用溶液体积的数值,单位为毫升(mL);
- A_s —— 基质匹配标准溶液中利福昔明的峰面积;
- m —— 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

利福昔明在牛奶中的检测限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法对于牛奶样品在 $10\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ $120\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度上的回收率为 70%~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)
利福昔明特征离子质量色谱图

空白牛奶基质匹配标准溶液中利福昔明特征离子质量色谱图见图 A.1。

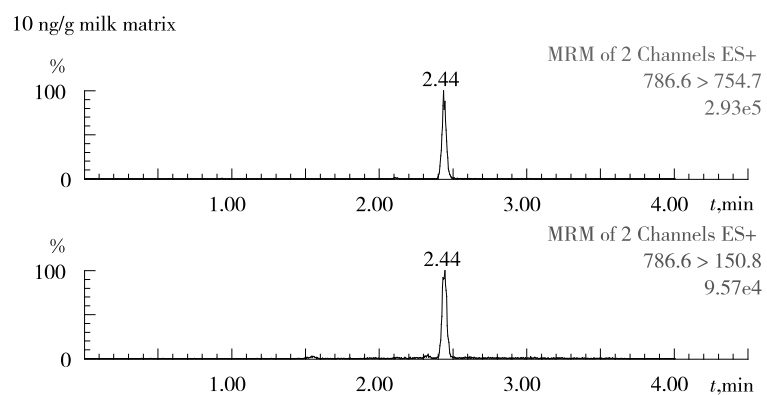


图 A.1 空白牛奶基质匹配标准溶液中利福昔明特征离子质量色谱图(20 ng/mL)