



中华人民共和国国家标准

GB 31656.20—2025

食品安全国家标准 水产品中呋喃苯烯酸残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of nifurstylenate residues in aquatic products
by liquid chromatography– tandem mass spectrometry method

2025-06-03 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。



食品安全国家标准

水产品中呋喃苯烯酸残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中呋喃苯烯酸(Nifurstylenate)残留量的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鱼、虾、蟹及鳖等水产品可食组织中呋喃苯烯酸残留量的测定,其他水产品的检测可参照执行。

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—2014 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

试样中残留的呋喃苯烯酸,用甲酸水溶液分散,以叔丁基羟基茴香醚作为保护剂,用乙腈提取,经亚铁氰化钾和乙酸锌沉淀蛋白,正己烷和 C_{18} 柱净化,液相色谱-串联质谱仪测定,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 试剂和材料

5.1.1 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

5.1.2 正己烷(C_6H_{14}):色谱纯。

5.1.3 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

5.1.4 乙酸铵(CH_3COONH_4):色谱纯。

5.1.5 甲酸($HCOOH$):色谱纯。

5.1.6 氯化钠($NaCl$):优级纯。

5.1.7 叔丁基羟基茴香醚($C_{11}H_{16}O_2$):纯度大于 99%。

5.1.8 亚铁氰化钾 $[K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O]$ 。

5.1.9 乙酸锌($C_4H_6ZnO_4 \cdot 2H_2O$)。

5.1.10 氨水(NH_4OH):25%~28%。

5.2 溶液配制

5.2.1 50%乙腈水溶液:取乙腈 500 mL,用水稀释至 1 000 mL。

5.2.2 1%甲酸水溶液:取甲酸 1 mL,用水稀释至 100 mL。

5.2.3 亚铁氰化钾溶液:称取亚铁氰化钾 10.6 g,用水溶解并稀释至 100 mL。

5.2.4 乙酸锌溶液:称取乙酸锌 22.0 g,加冰乙酸 3 mL,用水溶解并稀释至 100 mL。

5.2.5 50%甲醇水溶液:取甲醇 50 mL,用水稀释至 100 mL。

5.2.6 0.1%甲酸溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)溶液:称取乙酸铵 0.385 g 溶解于 800 mL 水中,再加入甲酸 1 mL,用水稀释至 1 000 mL。

5.2.7 20 mg/mL 叔丁基羟基茴香醚溶液:称取叔丁基羟基茴香醚 200 mg,用乙腈溶解并稀释至 10 mL。

5.3 标准品

呋喃苯烯酸钠(Sodium Nifurstylenate, $C_{13}H_8NNaO_5$, CAS 号:54992-23-3),含量 $\geq 99\%$,或相当者。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 标准储备液(1.0 mg/mL):取呋喃苯烯酸钠标准品 10 mg,精密称定,用甲醇溶解并定容至 10 mL 棕色容量瓶中,配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液,−18 °C 避光保存,有效期 6 个月。

5.4.2 标准中间液(10 μ g/mL):准确移取标准储备液 1.0 mL,用甲醇稀释并定容至 100 mL 棕色容量瓶中,配制成浓度为 10 μ g/mL 的标准中间液,−18 °C 避光保存,有效期 6 个月。

5.4.3 标准工作液(0.1 μ g/mL):准确移取适量 10 μ g/mL 标准中间液,用甲醇稀释配制成 0.1 μ g/mL 标准工作液,现用现配。

5.5 材料

5.5.1 C_{18} 固相萃取柱:1 000 mg/6 mL。

5.5.2 50 mL 聚丙烯离心管。

5.5.3 50 mL 梨形瓶。

5.5.4 聚四氟乙烯微孔滤膜:0.22 μ m。

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 0.01 g 和 0.000 01 g。

6.3 离心机:转速不低于 4 000 r/min。

6.4 超声波清洗器。

6.5 涡旋混合器。

6.6 旋转蒸发仪。

6.7 固相萃取装置。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

按 GB/T 30891—2014 附录 B 的要求制样。

a) 取均质的供试样品,作为供试试样;

b) 取均质的空白样品,作为空白试样;

c) 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。

7.2 试样的保存

−18 °C 以下避光保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试料(4 ± 0.05)g,于 50 mL 具塞离心管中,加入 1%甲酸水溶液 5 mL,涡旋混合 30 s,加入乙腈 20.0 mL、20 mg/mL 叔丁基羟基茴香醚 200 μ L,涡旋混合 1 min,超声提取 30 min。加入亚铁氰化钾溶液 2.5 mL、乙酸锌溶液 2.5 mL、氯化钠 10 g,振荡提取 3 min,4 000 r/min 离心 5 min,上清液待净化。

8.2 净化

准确移取 8.1 上清液 10.0 mL 于 50 mL 离心管中,再加入水 10 mL、正己烷 6 mL,振荡 1 min,4 000 r/min 离心 5 min,弃去上层正己烷相,下层清液备用。C₁₈固相萃取柱依次用 10 mL 乙腈和 10 mL 水活化,取备用液全部过 C₁₈固相萃取柱,收集流出液于 50 mL 离心管中。在 C₁₈固相萃取柱中再加入 50%乙腈水溶液 10 mL,收集并合并流出液。在上述离心管中加入乙腈 10 mL、氯化钠 10 g,振荡提取 3 min,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液于 50 mL 梨形瓶中,加入 200 μL 氨水,45 ℃下减压浓缩至干,用 50%甲醇水溶液定容至 2.0 mL,过 0.22 μm 聚四氟乙烯微孔滤膜,置于棕色进样瓶中,供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.3 标准曲线的制备

准确移取适量标准工作液,用 50%甲醇水溶液稀释,使呋喃苯烯酸的浓度分别为 0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL 和 20.0 ng/mL,供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱:C₁₈色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.8 μm),或相当者。
- b) 柱温:35 ℃;
- c) 进样量:3 μL;
- d) 流速:0.4 mL/min;
- e) 流动相:A 为 0.1%甲酸溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵),B 为乙腈,梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间,min	A,%	B,%
0	80	20
2.00	50	50
2.80	50	50
3.20	10	90
4.50	80	20
5.50	80	20

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源:电喷雾(ESI)离子源;
- b) 扫描方式:负离子扫描;
- c) 检测方式:选择反应监测(SRM);
- d) 电离电压:2 500 V;
- e) 离子源温度:300 ℃ ;
- f) 雾化温度:350 ℃ ;
- g) 锥孔气流速:8 L/min;
- h) 雾化气流速:11 L/min;
- i) 监测离子参数情况见表 2。

表 2 呋喃苯烯酸特征离子参考质谱条件

化合物	定性离子对 <i>m/z</i>	定量离子对 <i>m/z</i>	碰撞能 eV
呋喃苯烯酸	258.0>214.0	258.0>214.0	10
	258.0>184.0		15

8.5 测定法

8.5.1 定性测定

在相同测试条件下,试料溶液中呋喃苯烯酸与校正标准溶液中呋喃苯烯酸的保留时间偏差在 ±0.1 min 以内;且检测到的相对离子丰度,应与浓度相当的校正标准溶液相对离子丰度一致。其允许偏差为 ±40%。

8.5.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准溶液,作单点或多点校准,按外标法以峰面积定量,标准溶液及试样溶液中的呋喃苯烯酸响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述液相色谱-质谱条件下,呋喃苯烯酸标准溶液的特征离子质量色谱图见附录 A。

8.6 空白试验

取空白试样,除不加药物外,采用完全相同的操作步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中呋喃苯烯酸的残留量按标准曲线或公式(1)计算。

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

式中:

X —— 试样中呋喃苯烯酸残留量的数值,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

C_s —— 标准溶液中呋喃苯烯酸浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL);

A_i —— 试样溶液中呋喃苯烯酸的峰面积;

A_s —— 标准溶液中呋喃苯烯酸的峰面积;

V_1 —— 待净化液总体积的数值,单位为毫升(mL);

V_2 —— 吸取出用于净化的净化液体积的数值,单位为毫升(mL);

V_3 —— 最终试样定容体积的数值,单位为毫升(mL);

m —— 试样质量的数值,单位为克(g)。

10 检测方法的灵敏度、正确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法的检出限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 正确度

本方法在 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $70\% \sim 110\%$ 。

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)

呋喃苯烯酸标准溶液特征离子质量色谱图

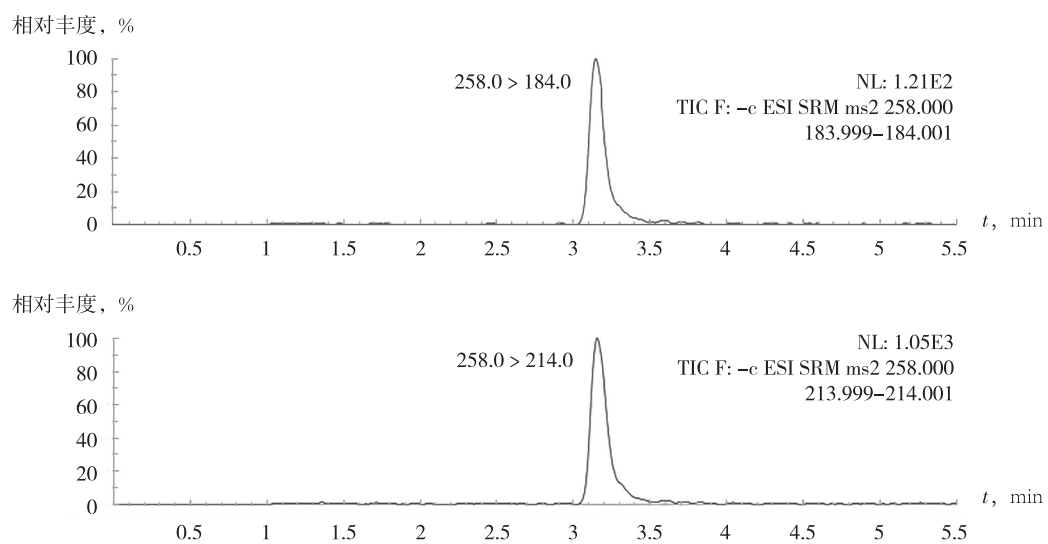


图 A.1 呋喃苯烯酸标准溶液特征离子质量色谱图 (2 ng/mL)