

水产品中利福平残留量的测定

液相色谱-串联质谱法 GB 31656.23—2025

1、适用范围

本文件规定了水产品中利福平残留量检测的制样和液相色谱 串联质谱测定方法。(本实验样品采用虾)

本文件适用于鱼、虾、蟹、海参等可食部分中利福平残留量的测定，其他水产品的检测可参照执行。

参考标准：《GB 31656.23—2025 食品安全国家标准 水产品中利福平残留量的测定》

2、溶液的配制

1) 标准储备液 (1000 $\mu\text{g/mL}$)：取利福平标准品 1 mg，精密称定，用乙腈适量溶解并定容至 1 mL，配制成溶液浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。-18 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存，有效期为 1 个月。

2) 标准中间液 (10 $\mu\text{g/mL}$)：吸取 10 μL 标准储备液 (1000 $\mu\text{g/mL}$)，用乙腈稀释至 1 mL，配制成 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间液，现用现配。

3) 标准工作液 (1 $\mu\text{g/mL}$)：吸取 100 μL 标准中间液 (10 $\mu\text{g/mL}$)，用乙腈稀释至 1 mL，配制成 1 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液，现用现配。

4) 乙腈饱和正己烷：量取正己烷 200 mL 于 250 mL 分液漏斗中，加入适量乙腈后，剧烈振摇，待分配平衡后，弃去下层乙腈层。

5) 50%乙腈溶液：移取 50 mL 乙腈至 50 mL 水中，混匀。

6) 0.1%甲酸溶液：移取 0.01 mL 甲酸，用水定容至 1000 mL，混匀。

7) 0.01%甲酸乙腈溶液：移取 0.01 mL 甲酸，用乙腈定容至 1000 mL，混匀。

3、提取

称取(2 ± 0.05)g 试料, 置于 50 mL 塑料离心管中, 加入 1 粒陶瓷均质子、2.0 g 无水硫酸钠和 10 mL 乙腈, 涡旋混合器上以 2500 r/min, 涡旋 1 min, 超声 10 min, 以 8000 r/min 离心 5 min, 取上清液转移至另一离心管中, 样品残渣再加入 5 mL 乙腈重复提取 2 次, 合并上清液, 待净化。

4、净化

往上述乙腈提取液中加入 10 mL 乙腈饱和正己烷, 2500 r/min 涡旋混合 1 min, 8000 r/min 离心 5 min, 弃去正己烷层, 将下层提取液转移到刻度离心管中, 30°C 氮吹至近干, 用 50%乙腈溶液定容至 1 mL, 涡旋混合器上 2500 r/min 涡旋 1 min, 0.22 μ m 滤膜过滤, 供液相色谱-串联质谱仪测定。

5、注意事项

加标水平: 2 g 样中加入 10 μ L 1 μ g/mL 对照溶液, 因此加标水平为 5 μ g/kg, 最终机度数为 10 ng/mL。

6、色谱条件

6.1 UPLC 条件

色谱柱: Ultimate UHPLC XB-C18, 1.8 μ m, 2.1 $\times$ 50 mm

流动相: A: 0.1%甲酸溶液, B: 0.1%甲酸乙腈溶液;

柱温: 40°C;

流速: 0.3 mL/min;

进样体积: 2 μ L;

梯度洗脱程序: 见表 1

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.00	70	30
3.00	35	65
3.50	10	90
4.50	10	90
4.60	70	30
10.00	70	30

6.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI）；

扫描方式：正离子扫描；

检测方式：多反应监测（MRM）模式；

离子喷雾电压：5500 V；

离子源温度：500℃；

气帘气（CUR）10 psi；雾化气（GS1）20 psi；辅助气（GS2）10 psi。

其他质谱参数见表 2

液质仪器型号：AB Sciex TRIPLE QUAD 4500

表 2 多反应监测模式（MRM）参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 DP/V	碰撞能 CE/V
利福平	823.3	791.3*	9	25
	823.3	399.1	9	35
* 为定量离子。				

7、色谱图或者加标回收率结果

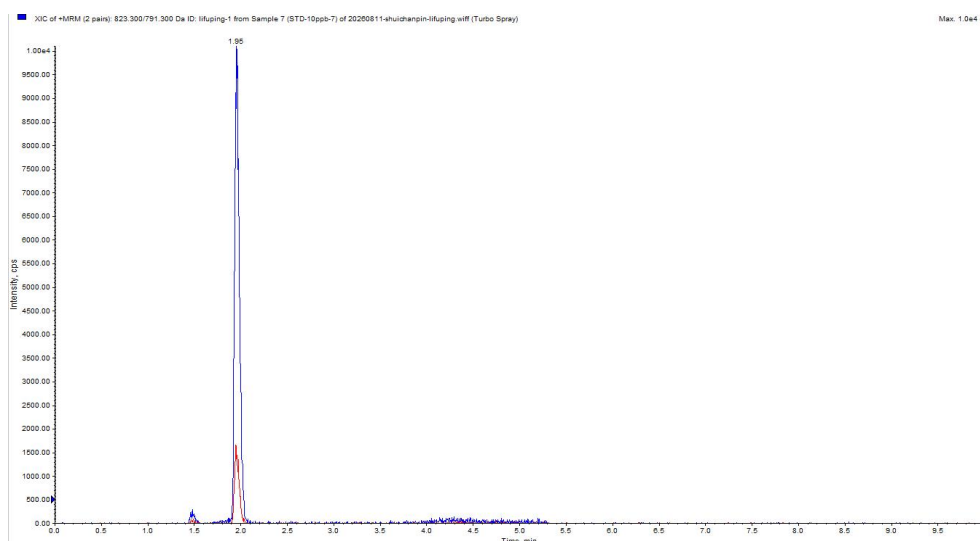


图 1. 对照溶液 10 ng/mL 图谱

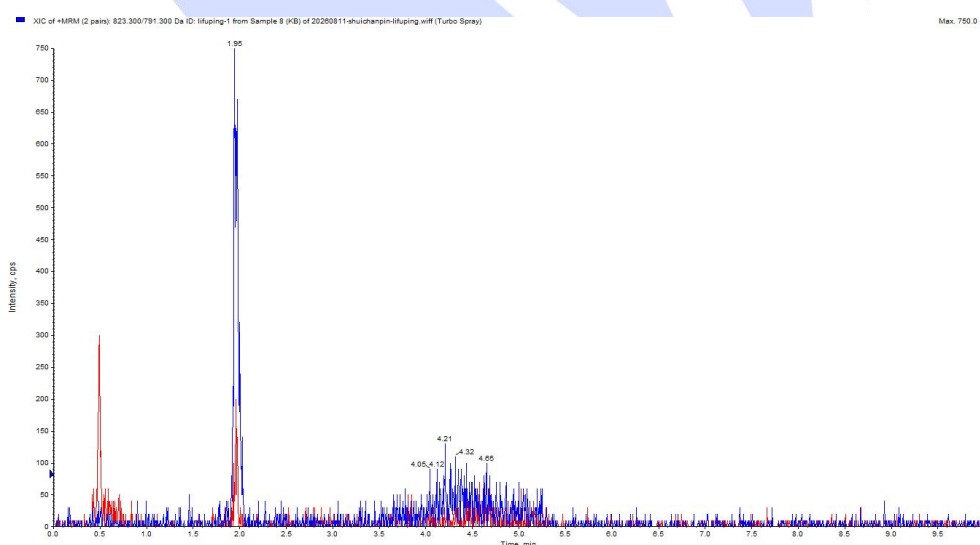


图 2 虾样品空白图谱

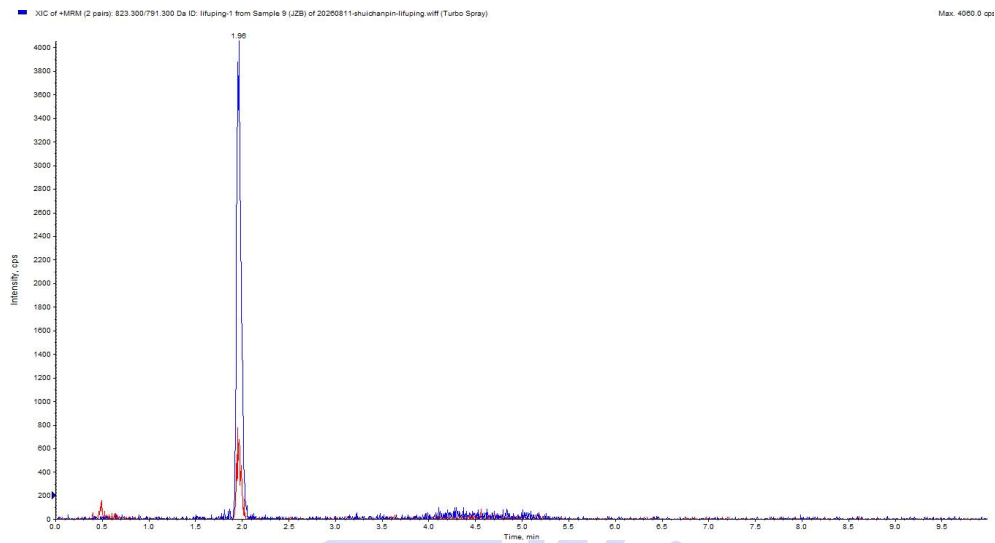


图 3 虾样品基质标 5 $\mu\text{g/kg}$ 图谱

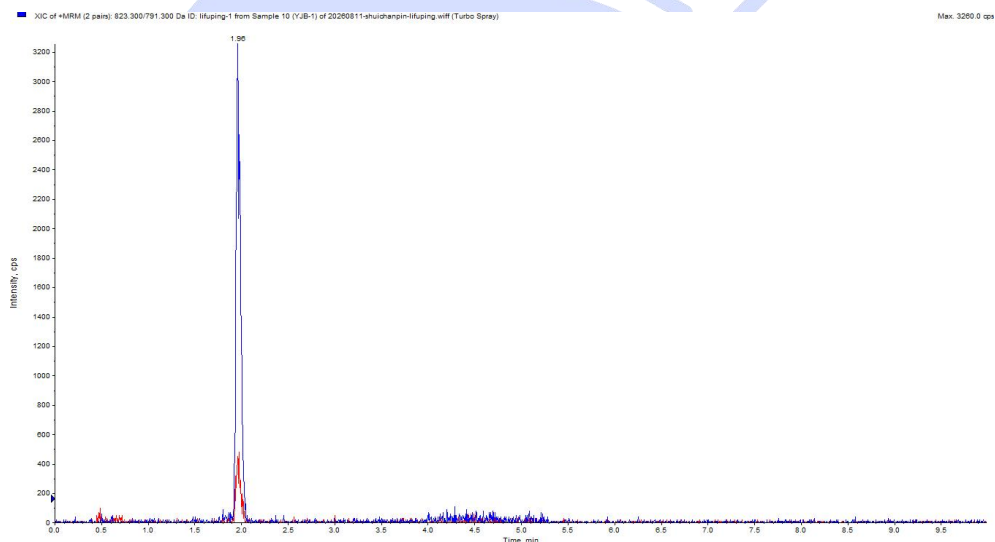


图 4 虾样品样加标 5 $\mu\text{g/kg}$ 图谱

表 3. 加标回收率表 (加标水平为 5 $\mu\text{g/kg}$)

物质	平均回收率	RSD
利福平	72.59%	4.87%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
DP1618-1	离心管	50mL 尖底离心管，配橙色实心盖，未灭菌，25 个/包
DP1639-1	离心管	15mL 尖底离心管，配橙色实心盖，未灭菌，25 个/包
00821-39191	盖子+垫片	白色特氟龙/红色硅胶隔垫，9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm，100/pk
00821-40927	样品瓶	2ml 透明短螺纹广口进样瓶 带书写处 9-425 11.6*32mm 新包装 一级水解玻璃，100/pk
00201-11010	UHPLC 色谱柱	Ultimate UHPLC XB-C18，1.8 μ m，2.1 $\times$ 50mm