

动物源食品中硝基呋喃类药物代谢物的测定 GB/T

21311-2007

1、适用范围

适用于动物源食品中硝基呋喃类药物代谢物的测定（该实验选用基质为鸡肉）

参考标准：《GB/T 21311-2007 动物源食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量检测方法 高效液相色谱/串联质谱法》

2、溶液的配制

- 1) 标准储备液：准确称取适量标准品，用乙腈溶解，配制成浓度为 $100\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。
- 2) 内标储备液：准确称取适量内标物质，用乙腈溶解，配制成浓度为 $100\mu\text{g/mL}$ 的内标储备液。
- 3) 混合标准中间液：准确移取标准储备液各 $100\mu\text{L}$ ，用乙腈定容至 10mL ，浓度为 $1\mu\text{g/mL}$ 。
- 4) 混合内标中间液：准确移取内标储备液各 $100\mu\text{L}$ ，用乙腈定容至 10mL ，浓度为 $1\mu\text{g/mL}$ 。
- 5) 混合标准工作液：准确移取 1mL 混合标准中间液，用乙腈定容至 10mL ，浓度为 $100\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作液。
- 6) 混合内标工作液：准确移取 $100\mu\text{L}$ 混合内标中间液，用乙腈定容至 10mL ，浓度为 $10\mu\text{g/L}$ 的混合内标工作液。
- 7) 乙腈饱和正己烷：量取 80mL 正己烷，加入适量乙腈后，剧烈振摇，静置后弃去乙腈层即得。



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail: lingyuyu @welchmat.com

- 8) 甲醇水 (1:1): 量取 100mL 甲醇, 100mL 水, 混匀。
- 9) 0.1%甲酸水 (含 0.0005mol/L 乙酸铵): 量取 1mL 甲酸和称取 0.0386g 乙酸铵, 用水定容至 1000mL。
- 10) 0.2mol/L 盐酸溶液: 量取 17mL 浓盐酸, 用水定容至 1000mL。
- 11) 2mol/L 氢氧化钠溶液: 称取 4.0g 氢氧化钠, 用水定容至 50mL。
- 12) 0.1mol/L 邻硝基苯甲醛溶液: 称取 1.5g 邻硝基苯甲醛, 用甲醇溶解并定容至 100mL。
- 13) 0.3mol/L 磷酸钾溶液: 称取 7.9893g 三水磷酸钾, 用水溶解并定容至 100mL。

3、提取步骤

试样称取 2g, 加入 10mL 甲醇水 (1:1), 振荡 10min 后, 4000r/min 离心 5 min, 弃去液体。残留物中加入 10ml 0.2mol/L 盐酸, 用均质器以 10000r/min 均质 1min 后, 再依次加入混合内标标准溶液 100uL, 邻硝基苯甲醛溶液 100uL, 涡旋混合 30s 后, 再振荡 30min, 置 37°C 恒温箱中过夜 (16h) 反应。取出样品, 冷却至室温, 加入 1mL 0.3mol/L 碘酸钾, 用 2.0mol/L 氢氧化钠调 pH7.4(±0.2) 后, 再加入 10mL 乙酸乙酯, 振荡提取 10min 后, 以 8000r/min 离心 10min, 收集乙酸乙酯层。残留物用 10mL 乙酸乙酯再提取一次, 合并乙酸乙酯层。收集液在 40°C 下氮吹至干, 残渣用 1mL 0.1% 甲酸水 (含 0.0005mol/L 乙酸铵) 溶解, 再用 3mL 乙腈饱和的正己烷液液提取, 去除脂肪。下层水相过膜后供高效液相色谱-串联质谱测定。

4、注意事项

- 1) 加标水平: 2g 样品中分别加入 0.01mL、0.02mL、0.2mL 的 100μg/L 的混合标准工作液, 定容至 1mL, 因此加标水平为 0.5μg/kg, 1μg/kg, 10μg/kg, 最终机度数为 1ng/mL, 2ng/mL, 20ng/mL。



声明: 除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾 (中山) 科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编: 201600

邮编: 321000

E-mail: lingyuyu @welchmat.com

- 2) 本实验的标准工作溶液曲线用空白基质溶液进行配置：标准溶液在进行 37°C 恒温箱过夜反应之前添加，余下操作同样品的提取步骤。

5、色谱条件

5.1 UPLC 条件

色谱柱： Ultimate XB-C18 2.1×150mm, 3μm

流动相： A: 0.1%甲酸水溶液（含 0.0005mol/L 乙酸铵）； B: 乙腈

柱温： 40°C； 流速： 0.2mL/min； 进样体积： 20μL

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	90	10
7.00	10	90
10.00	10	90
10.01	90	10
15.00	90	10

5.2 质谱条件

检测方式： 多反应监测（MRM）模式；

离子源： 电喷雾离子源（ESI）；

扫描方式： 正离子扫描；

离子喷雾电压： 4500 V； 离子源温度： 500°C；

声明： 除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编： 201600

邮编： 321000

E-mail:lingyuyu @welchmat.com



气帘气（CUR）35 psi；雾化气（GS1）55 psi；辅助气（GS2）55 psi。

其他质谱参数见表 2

液质仪器型号：AB Sciex QTRAP 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)	驻留时间 (msec)	去簇电压 DP/V	碰撞能 CE/V
AMAZ	335.2	291.2*	50	66	18
		262.2	50	66	24
D5-AMAZ	340.4	296.2	50	70	18
AHD	249.2	134.1*	50	60	18
		104.1	50	60	33
¹³ C-AHD	252.3	134.0	50	61	18
AOZ	236.1	133.9*	50	61	18
		103.9	50	61	33
D4-AOZ	240.1	134.0	50	68	20

6、色谱图或者加标回收率结果

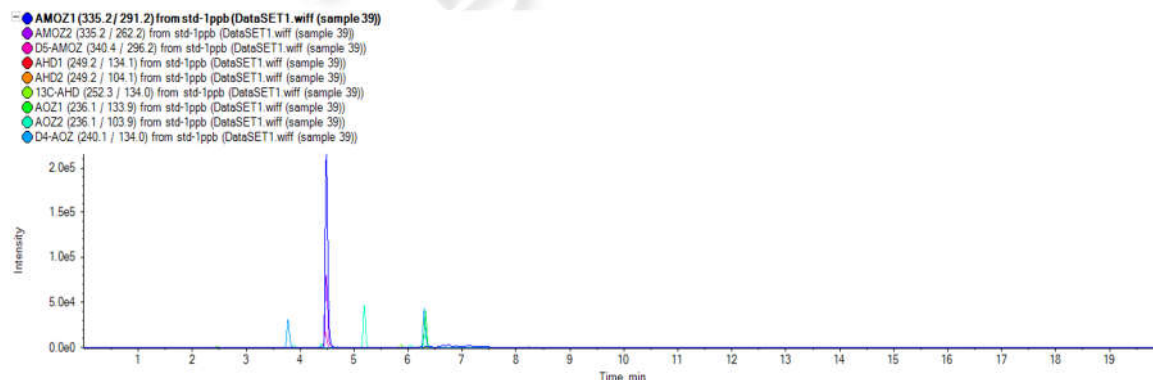


图 1. 硝基呋喃类药物标准品 1μg/L 图谱



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail:lingyuyu @welchmat.com

● Calibration for AMOZ1: $y = 1.62474x + 10.60473$ ($r = 0.99806$) (weighting: $1/x^2$)
 ● Calibration for AMOZ2: $y = 0.57088x + 3.90370$ ($r = 0.99988$) (weighting: $1/x^2$)
 ● Calibration for AHD1: $y = 0.09712x + 0.00699$ ($r = 0.99584$) (weighting: $1/x^2$)
 ● Calibration for AHD2: $y = 0.04201x + 0.01569$ ($r = 0.99820$) (weighting: $1/x^2$)
 ● Calibration for AOZ1: $y = 0.82028x + 0.13168$ ($r = 0.99993$) (weighting: $1/x^2$)
 ● Calibration for AOZ2: $y = 0.45108x + 0.06237$ ($r = 0.99979$) (weighting: $1/x^2$)

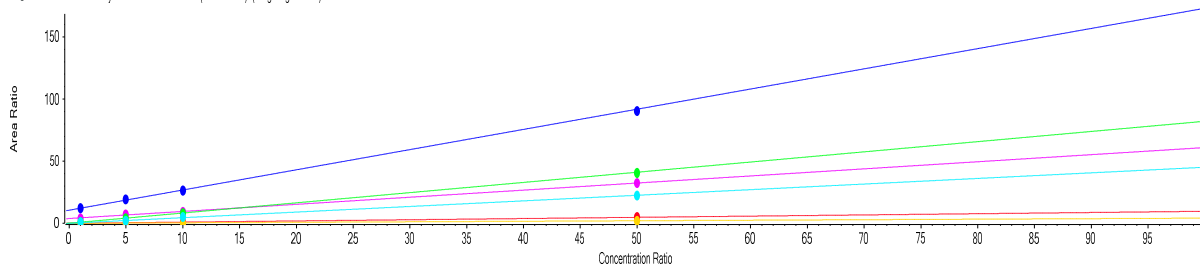


图 2. 硝基咪唑类药物标准工作液曲线

● AMOZ1 (335.2 / 291.2) from Sample (DataSET1.wiff (sample 20))
 ● AMOZ2 (335.2 / 262.2) from Sample (DataSET1.wiff (sample 20))
 ● D5-AMOZ (340.4 / 296.2) from Sample (DataSET1.wiff (sample 20))
 ● AHD1 (249.2 / 134.1) from Sample (DataSET1.wiff (sample 20))
 ● AHD2 (249.2 / 104.1) from Sample (DataSET1.wiff (sample 20))
 ● 13C-AHD (252.3 / 134.0) from Sample (DataSET1.wiff (sample 20))
 ● AOZ1 (236.1 / 133.9) from Sample (DataSET1.wiff (sample 20))
 ● AOZ2 (236.1 / 103.9) from Sample (DataSET1.wiff (sample 20))
 ● D4-AOZ (240.1 / 134.0) from Sample (DataSET1.wiff (sample 20))

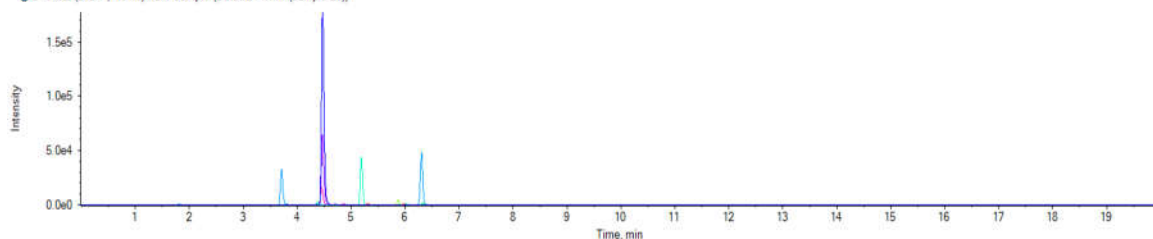


图 3. 鸡肉样品空白图谱

● AMOZ1 (335.2 / 291.2) from Sample+1ppb (DataSET1.wiff (sample 21))
 ● AMOZ2 (335.2 / 262.2) from Sample+1ppb (DataSET1.wiff (sample 21))
 ● D5-AMOZ (340.4 / 296.2) from Sample+1ppb (DataSET1.wiff (sample 21))
 ● AHD1 (249.2 / 134.1) from Sample+1ppb (DataSET1.wiff (sample 21))
 ● AHD2 (249.2 / 104.1) from Sample+1ppb (DataSET1.wiff (sample 21))
 ● 13C-AHD (252.3 / 134.0) from Sample+1ppb (DataSET1.wiff (sample 21))
 ● AOZ1 (236.1 / 133.9) from Sample+1ppb (DataSET1.wiff (sample 21))
 ● AOZ2 (236.1 / 103.9) from Sample+1ppb (DataSET1.wiff (sample 21))
 ● D4-AOZ (240.1 / 134.0) from Sample+1ppb (DataSET1.wiff (sample 21))

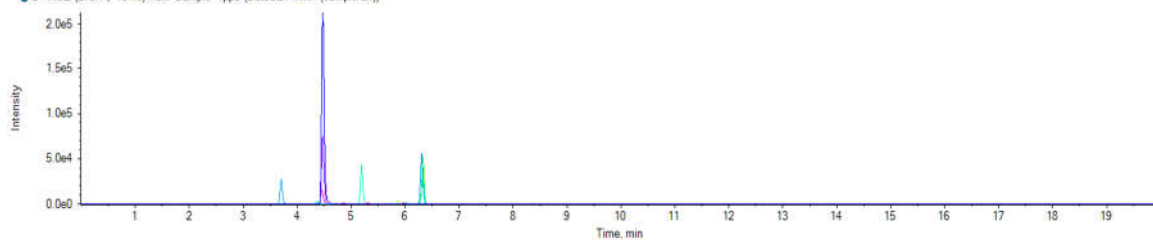


图 4. 鸡肉样品加标 0.5µg/kg 图谱



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编: 201600

邮编: 321000

E-mail: lingyuyu @welchmat.com

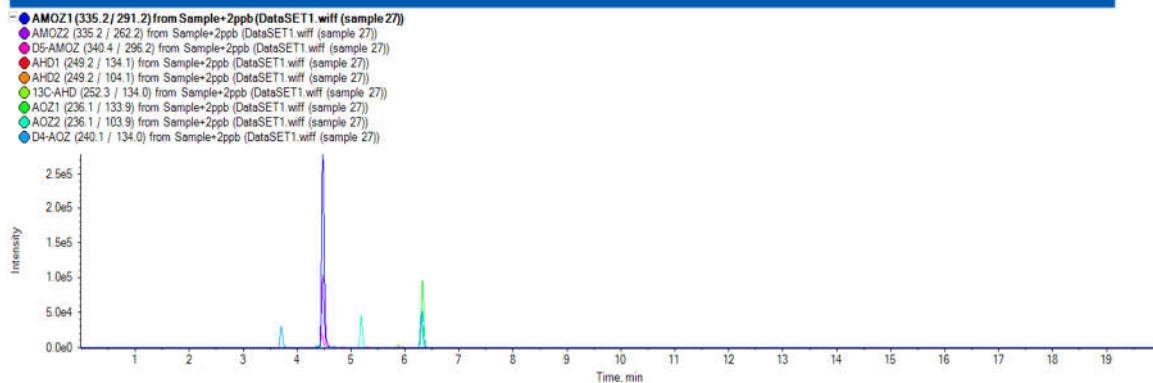


图 5.鸡肉样品加标 1µg/kg 图谱

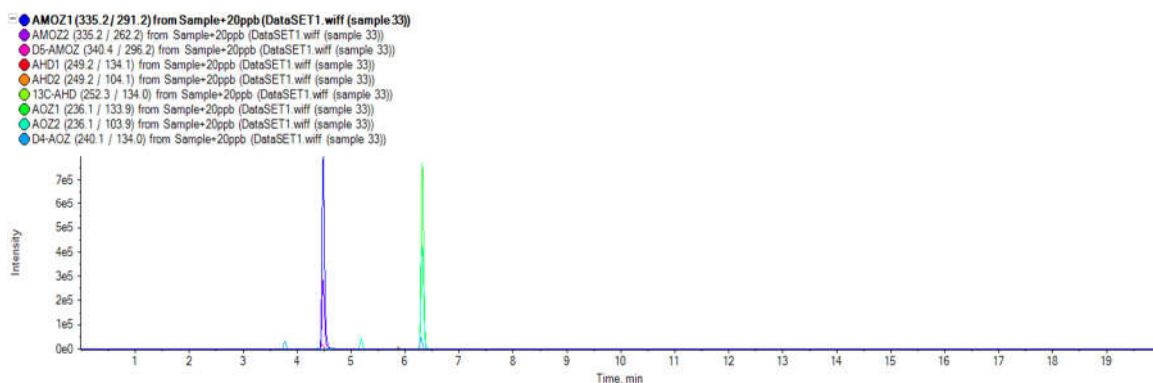


图 6.鸡肉样品加标 10µg/kg 图谱

表 3.加标回收率表

分类	加标水平 µg/kg	平均回收率%	RSD % (n=6)
AMOZ	0.5	103.33%	8.03%
	1	109.67%	6.35%
	10	97.68%	3.20%
AHD	0.5	96.33%	8.90%
	1	100.58%	4.91%
	10	98.52%	4.39%
AOZ	0.5	97.17%	2.18%
	1	101.08%	0.88%
	10	100.88%	1.83%



声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园.紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail:lingyuyu @welchmat.com

7、相关产品信息

货号	名称	规格
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	Welchrom® 离心管 一次性离心管, 平盖, 锥形底, RCF12000xg, 袋装, 未灭菌, 50mL, 50/包
00821-32291	盖子+垫片	Welchrom® 预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	Welchrom® 2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-21014	液相色谱柱	Ultimate XB-C18, 3μm, 2.1×150mm
00826-A164P010	AOZ, 呋喃唑酮代谢物标准品	A2S, CAS No.:80-65-9, 10mg
00826-A035P001	AOZ-D4 标准品	A2S, CAS No.:1188331-23-8, 1mg
00826-A105P025	AHD(呋喃妥因代谢物) 盐酸盐标准品	A2S, CAS No.:2827-56-7, 25mg
00826-A371P010	呋喃妥因代谢物 13C3/AHD-13C3 标准品	A2S, CAS No.:957509-31-8, 10mg
00826-A660P005	AMOZ(硝基呋喃代谢产物)标准品	A2S, CAS No.:43056-63-9, 5mg
00826-A373P010	呋喃它酮代谢物氘代物 AMOZ-D5 标准品	A2S, CAS No.:1017793-94-0, 10mg



声明: 除非另有说明, 此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可, 不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾 (中山) 科技园, 紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编: 201600

邮编: 321000

E-mail: lingyuyu @welchmat.com