



中华人民共和国国家标准

GB 31658.29—2025

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 standard—
Determination of rafoxanidum residues in animal derived
food by high performance liquid chromatography

2025-06-03 发布

2025-09-01 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 发布
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

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

本文件规定了动物性食品中碘醚柳胺残留检测的制样和高效液相色谱测定方法。

本文件适用于牛、羊的肌肉、肝脏、肾脏和脂肪组织中碘醚柳胺残留量的检测。

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-荧光法检测，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

5.1.1 乙腈(CH₃CN)：色谱纯。

5.1.2 甲酸(HCOOH)：色谱纯。

5.1.3 乙酸乙酯(C₄H₈O₂)。

5.2 溶液配制

5.2.1 0.1%甲酸溶液：取 0.1 mL 甲酸，加水至 100 mL，混匀。

5.2.2 1%甲酸乙腈溶液：取 1.0 mL 甲酸，加乙腈至 100 mL，混匀。

5.2.3 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。

5.2.4 乙腈-丙酮溶液：取 80 mL 乙腈，加丙酮 20 mL，混匀。

5.3 标准品

碘醚柳胺(Rafoxanide, C₁₉H₁₁Cl₂I₂NO₃, CAS 号:22662-39-1)：含量≥98%。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 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 μg/mL 的标准储备液。-18℃以下避光保存，有效期 3 个月。

5.4.2 标准工作液：精密量取标准储备液 5 mL，于 50 mL 容量瓶中，用乙腈定容至刻度，配制成浓度为 10 μg/mL 混合标准工作液。4℃保存，有效期 1 周。

5.5 材料

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

5.5.2 微孔尼龙滤膜:0.45 μm 。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪:配荧光检测器。

6.2 分析天平:感量 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.3 离心机。

6.4 组织匀浆机。

6.5 涡旋混合器。

6.6 固相萃取装置。

6.7 氮吹仪。

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组织,绞碎,并使均质。

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 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试料(5 \pm 0.05) g 于 50 mL 离心管中,加乙腈-丙酮溶液 15 mL,涡旋 1 min,10 000 r/min 离心 5 min,移取上清液。残渣再用 10 mL 乙腈-丙酮溶液重复提取 1 次,合并上清液。

8.2 净化

固相萃取柱用 5 mL 乙腈-丙酮溶液活化,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 5 mL 洗脱,收集。洗脱液于 40 $^{\circ}\text{C}$ 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。

8.3 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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。

8.4 测定

8.4.1 高效液相色谱参考条件

a) 色谱柱: C_{18} (4.6 mm \times 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:激发波长为 335 nm,发射波长为 510 nm;

e) 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;

f) 进样量:20 μL 。

8.4.2 测定法

取试料溶液和标准工作液,做单点或多点校准,以相应药物的保留时间定性,被测试料中碘醚柳胺色

谱峰保留时间与相应标准工作液色谱峰的保留时间相比,相差应在±0.1min内。按外标法以色谱峰面积定量。试料溶液及标准工作液中碘醚柳胺的响应值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。

8.5 空白试验

取空白试样,除不加药物外,采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中碘醚柳胺残留量按标准曲线或公式(1)计算。

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

式中:

X —— 试样中碘醚柳胺残留量的数值,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

A —— 试料溶液中碘醚柳胺的色谱峰面积;

C_s —— 标准工作液中碘醚柳胺浓度的数值,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

V —— 试料最终定容体积的数值,单位为毫升(mL);

A_s —— 标准工作液中碘醚柳胺的色谱峰面积;

m —— 供试试料质量的数值,单位为克(g)。

10 方法灵敏度、正确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法的检出限为 $2.5 \mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 正确度

本方法在 $5 \mu\text{g} \sim 500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 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 $\leq 20\%$ 。

附录 A
(资料性)
标准溶液的高效液相色谱图

碘醚柳胺标准溶液的高效液相色谱图见图 A.1。

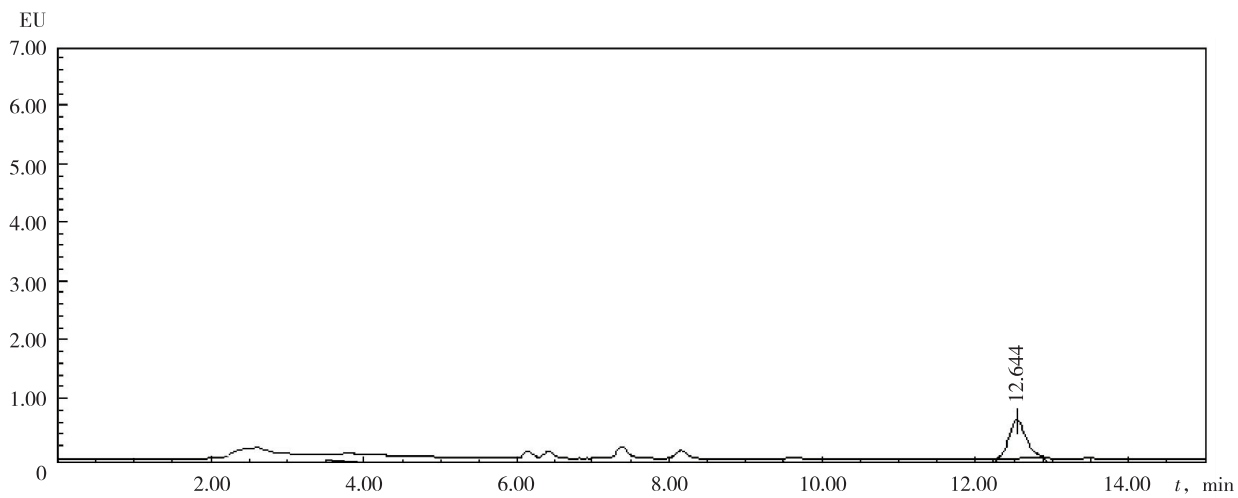


图 A.1 碘醚柳胺标准溶液的高效液相色谱图(100 μg/L)