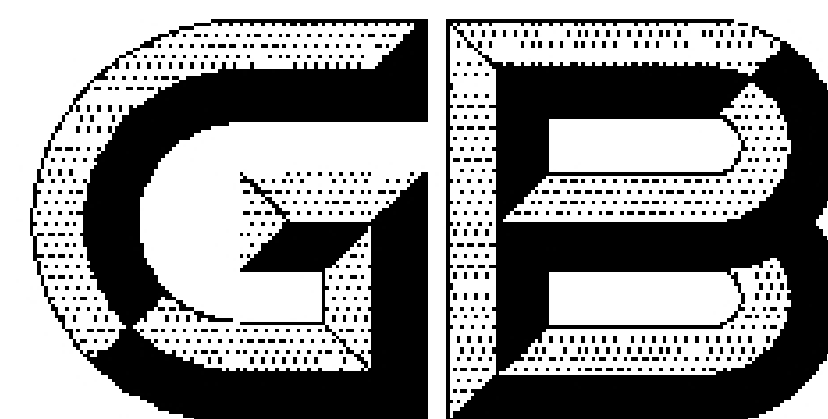




中华人民共和国国家标准

GB/T 20747—2006

牛和猪肌肉中安乃近代谢物残留量的测定 液相色谱-紫外检测法和液相色谱-串联质谱法

Method for the determination of metabolite residues of dipyrone in
bovine and porcine muscle tissues—
LC-UV and LC-MS-MS method

2006-12-31 发布

2007-03-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 和附录 D 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局提出。

本标准由中华人民共和国质量监督检验检疫总局归口。

本标准起草单位：中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：庞国芳、谢丽琪、沈金灿、林燕奎、陈佩金、韩瑞阳。

本标准系首次发布的国家标准。

牛和猪肌肉中安乃近代谢物残留量的测定 液相色谱-紫外检测法和液相色谱-串联质谱法

第一法 液相色谱法

1 范围

本部分规定了牛和猪肌肉中安乃近代谢物 4-甲酰氨基安替比林(4-formylaminoantipyrine)、4-甲基氨基安替比林(4-methylaminoantipyrine)和 4-氨基安替比林(4-aminoantipyrine)的液相色谱测定方法。

本部分适用于牛和猪肌肉中 4-甲酰氨基安替比林、4-甲基氨基安替比林和 4-氨基安替比林残留量的测定。

本部分的方法检出限：4-甲酰氨基安替比林为 $12.5 \mu\text{g/kg}$ ，4-氨基安替比林为 $15.0 \mu\text{g/kg}$ ，4-甲基氨基安替比林为 $20.0 \mu\text{g/kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分，然而，鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本部分。

GB/T 6379.1 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第 1 部分：总则与定义(GB/T 6379.1—2004, ISO 5725-1:1994, IDT)

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第 2 部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法(GB/T 6379.2—2004, ISO 5725-2:1994, IDT)

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

3 原理

肌肉中安乃近代谢物残留用硫酸钠溶液($\text{pH}=7$)提取，过滤后经 Bond Elut C_{18} 固相萃取柱或相当者净化，用甲醇洗脱，氮气吹干。残渣用甲醇+水溶解，供液相色谱仪测定。4-甲酰氨基安替比林用外标法定量、4-甲基氨基安替比林和 4-氨基安替比林用内标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为优级纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲醇：色谱纯。

4.2 乙腈：色谱纯。

4.3 硫酸钠。

4.4 亚硫酸钠。

4.5 乙酸铵：色谱纯。

4.6 硫酸钠+亚硫酸钠提取溶液：准确称取 14.20 g 无水硫酸钠和 2.52 g 亚硫酸钠，用水溶解，并使其体积达到约 950 mL ，然后用 0.5 mol/L 的稀硫酸调节溶液的 pH 值至 7.0 ，用水定容至 $1\,000 \text{ mL}$ 。

4.7 淋洗液：甲醇+水(5+95)。

- 4.8 样品定容液:甲醇+水(1+9)。
- 4.9 4-甲基氨基安替比林、4-甲酰氨基安替比林和 4-氨基安替比林标准物质:纯度 $\geq 99\%$ 。
- 4.10 内标标准物质:4-异丙基氨基安替比林(4-isopropylaminoantipyrine),纯度 $\geq 99\%$ 。
- 4.11 标准储备溶液:100 mg/L。准确称取适量的各种安乃近代谢物标准物质(4.9),用甲醇(4.1)配制成浓度为 100 mg/L 的标准储备溶液,避光 -18°C 保存,可使用 3 个月。
- 4.12 混合标准储备溶液:10.0 mg/L。吸取每种适量标准储备溶液(4.11),用甲醇稀释成 10.0 mg/L 的混合标准工作溶液,避光 -18°C 保存,可使用 1 个月。
- 4.13 内标储备溶液:100 mg/L。准确称取适量的内标标准物质(4.10)用甲醇(4.1)配制成浓度为 100 mg/L 内标储备溶液,避光 -18°C 保存,可使用 1 个月。
- 4.14 内标工作溶液:2.0 mg/L。吸取适量的内标储备溶液(4.13),用甲醇稀释成 2.0 mg/mL 的内标工作溶液,避光 -18°C 保存,可使用 1 个月。
- 4.15 混合标准工作溶液:分别移取不同量混合标准储备溶液(4.12)于进样瓶中,再分别加入适量内标工作溶液(4.14),用样品定容液(4.8)定容至 1 mL,使各被测组分的浓度均为 0.010 $\mu\text{g/mL}$ 、0.050 $\mu\text{g/mL}$ 、0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、0.50 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$,内标物质浓度均为 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 。
- 4.16 Bond Elut C₁₈固相萃取柱或相当者:500 mg,3 mL。用前分别用 5 mL 甲醇和 5 mL 水处理,保持柱体湿润。
- 4.17 滤膜:0.45 μm 。
- 4.18 玻璃滤纸。

5 仪器

- 5.1 液相色谱仪:配有紫外检测器。
- 5.2 固相萃取装置。
- 5.3 氮气浓缩仪。
- 5.4 液体混匀器。
- 5.5 分析天平:感量 0.1 mg 和 0.01 g。
- 5.6 真空泵。
- 5.7 均质器。
- 5.8 移液器:10 μL ~100 μL 和 100 μL ~1 000 μL 。
- 5.9 聚丙烯离心管:50 mL,具塞。
- 5.10 pH 计:测量精度 ± 0.02 pH 单位。
- 5.11 低温离心机:可制冷到 4°C 。
- 5.12 玻璃离心管:15 mL。

6 试样的制备与保存

6.1 试样的制备

取有代表性的牛或猪肌肉,制成实验室样品。试样分为两份,置于样品瓶中,密封,并做上标记。

6.2 试样保存

制备好的试样置于 -18°C 冰柜中避光保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取 5 g 试样,精确至 0.01 g。将上述样品置于 50 mL 聚丙烯离心管(5.9)中,加入 0.25 mL 浓度为 2.0 mg/L 的内标工作溶液(4.14),然后加入 15 mL 硫酸钠+亚硫酸钠提取溶液(4.6),均质 1 min,

在 10℃以4 000 r/min离心 5 min。将上清液转移到另一个干净的 50 mL 容量瓶中,残渣再分别加入 15 mL、10 mL 硫酸钠+亚硫酸钠提取溶液提取两次,离心后,合并上清液,并用硫酸钠+亚硫酸钠提取溶液定容至 50 mL,混合均匀,然后用玻璃滤纸过滤,待净化。

7.2 净化

取 25 mL 提取液(7.1)放入 C₁₈固相萃取柱(4.16)中,以约 1 mL/min 的流速使样液通过固相萃取柱,待样液全部通过后,依次用 5 mL 水和 5 mL 甲醇+水淋洗液(4.7)淋洗固相萃取柱,弃去全部流出液,减压抽干固相萃取柱 10 min。最后用 5 mL 甲醇洗脱,洗脱液收集于 15 mL 玻璃离心管中,置于氮气浓缩仪(5.3)上在 55℃吹至近干,用样品定容液(4.8)定容至 1.0 mL。定容液混匀后,过 0.45 μm 滤膜,供液相色谱测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱:Inertsil ODS-3 色谱柱,5 μm,250 mm×4.6 mm 或相当者;
- b) 柱温:30℃;
- c) 进样量:50 μL;
- d) 流动相、流速及梯度洗脱条件见表 1;
- e) 检测波长:265 nm。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL /min)	水/(%)	甲醇/(%)
0	1.0	90	10
15	1.0	30	70
17	1.0	5	95
18	1.0	90	10
23	1.0	90	10

7.3.2 液相色谱测定

将混合标准工作溶液分别进样,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线,用标准工作曲线对样品进行定量,样品溶液中 4-甲酰氨基安替比林、4-甲基氨基安替比林和 4-氨基安替比林的响应值均应在仪器测定的线性范围内。在上述色谱条件下,4-甲酰氨基安替比林的参考保留时间为 10.61 min,4-氨基安替比林的参考保留时间为 13.60 min,4-甲基氨基安替比林的参考保留时间为 14.76 min,内标化合物的参考保留时间为 17.55 min。安乃近代谢物标准物质的色谱图参见图 A.1。

4-甲酰氨基安替比林采用外标法定量;4-甲基氨基安替比林和 4-氨基安替比林采用内标法进行定量。本方法的添加回收率数据参见附录 C。

7.4 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。



7.5 回收率试验

吸取适量混合标准工作溶液和内标标准工作溶液,用样品定容液(4.8)稀释成所需浓度的标准工作溶液。阴性样品中添加标准溶液,按 7.2 操作,测定后计算样品添加的回收率。

8 结果计算

4-甲酰氨基安替比林结果按式(1)计算:

$$X = c \times \frac{V}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000}$$

.....(1)

式中：

- X ——试样中被测组分残留量,单位为微克每千克(mg/kg)；
 - c ——从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度,单位为纳克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；
 - V ——样品溶液最终定容体积,单位为毫升(mL)；
 - m ——样品溶液所代表最终试样的质量,单位为克(g)。
- 4-甲基氨基安替比林和 4-氨基安替比林结果按式(2)计算：

$$X = c_s \times \frac{A}{A_s} \times \frac{c_i}{c_{si}} \times \frac{A_{si}}{A_i} \times \frac{V}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000} \dots\dots\dots(2)$$

式中：

- X ——试样中被测物残留量,单位为毫克每千克(mg/kg)；
- c_s ——基质标准工作溶液中被测物的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；
- A ——试样溶液中被测物的色谱峰面积；
- A_s ——基质标准工作溶液中被测物的色谱峰面积；
- c_i ——试样溶液中内标物的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；
- c_{si} ——基质标准工作溶液中内标物的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；
- A_{si} ——基质标准工作溶液中内标物的色谱峰面积；
- A_i ——试样溶液中内标物的色谱峰面积；
- V ——样液最终定容体积,单位为毫升(mL)；
- m ——试样溶液所代表试样的质量,单位为克(g)。

注：计算结果应扣除空白值。

9 精密度

本部分的精密度数据是按照 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 的规定确定的,重复性和再现性的值以 95%的可信度来计算。

9.1 重复性

在重复性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限 r ,被测物的含量范围及重复性方程见表 2。

如果差值超过重复性限,应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

9.2 再现性

在再现性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限 R ,被测物的含量范围及再现性方程见表 2。

表 2 含量范围及重复性和再现性方程

化合物名称		含量范围/ ($\mu\text{g/kg}$)	重复性限 r	再现性限 R
猪肉	4-甲酰氨基安替比林	50~400	$\lg r = 0.388\,8 \lg m + 0.029\,1$	$\lg r = 0.681\,7 \lg m - 0.578\,2$
	4-氨基安替比林	50~400	$\lg r = 0.323\,0 \lg m + 0.050\,4$	$\lg r = 0.639\,6 \lg m - 0.531\,5$
	4-甲基氨基安替比林	50~400	$\lg r = 0.720\,59 \lg m - 0.659\,1$	$\lg r = 0.961\,3 \lg m - 1.135\,7$
牛肉	4-甲酰氨基安替比林	50~400	$\lg r = 0.628\,8 \lg m - 0.452\,6$	$\lg r = 0.588\,8 \lg m - 0.406\,3$
	4-氨基安替比林	50~400	$\lg r = 0.448\,6 \lg m - 0.103\,5$	$\lg r = 0.553\,9 \lg m - 0.313\,3$
	4-甲基氨基安替比林	50~400	$\lg r = 0.489\,0 \lg m - 0.184\,5$	$\lg r = 0.789\,9 \lg m - 0.749\,9$
注： m 为两次测定结果的算术平均值。				

第二法 液相色谱-串联质谱法

10 范围

本部分规定了牛和猪肌肉中安乃近代谢物 4-甲酰氨基安替比林(4-formylaminoantipyrine)、4-乙酰氨基安替比林(4-acetylaminoantipyrine)、4-甲基氨基安替比林(4-methylaminoantipyrine)和 4-氨基安替比林(4-aminoantipyrine)的液相色谱-串联质谱测定方法。

本部分适用于牛和猪肌肉中 4-甲酰氨基安替比林、4-乙酰氨基安替比林、4-甲基氨基安替比林和 4-氨基安替比林残留量的测定。

本部分的方法检出限：4-甲酰氨基安替比林为 $1.8 \mu\text{g/kg}$ ；4-氨基安替比林和 4-甲基氨基安替比林为 $1.5 \mu\text{g/kg}$ ；4-乙酰氨基安替比林为 $1.0 \mu\text{g/kg}$ 。

11 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分，然而，鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本部分。

GB/T 6379.1 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第 1 部分：总则与定义(GB/T 6379.1—2004, ISO 5725-1:1994, IDT)

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第 2 部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法(GB/T 6379.2—2004, ISO 5725-2:1994, IDT)

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

12 原理

肌肉中安乃近代谢物残留用硫酸钠溶液($\text{pH}=7$)提取，过滤后，经 Bond Elut C_{18} 固相萃取柱或相当者净化后，用甲醇洗脱，氮气吹干。残渣用甲醇+水溶解，供液相色谱-串联质谱仪测定，内标法或外标法定量。

13 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

13.1 甲醇：色谱纯。

13.2 乙腈：色谱纯。

13.3 硫酸钠。

13.4 亚硫酸钠。

13.5 醋酸铵，色谱纯。

13.6 硫酸钠+亚硫酸钠提取溶液：准确称取 14.20 g 无水硫酸钠和 2.52 g 亚硫酸钠，用水溶解，并使其体积达到约 950 mL，然后用 0.5 mol/L 的稀硫酸调节溶液的 pH 值至 7.0，用水定容至 1 000 mL。

13.7 淋洗液：甲醇+水(1+19)。

13.8 样品定容液：甲醇+水(1+9)。

13.9 4-甲基氨基安替比林、4-乙酰氨基安替比林、4-甲酰氨基安替比林和 4-氨基安替比林标准物质：纯度 $\geq 99\%$ 。

13.10 内标标准物质：4-异丙基氨基安替比林，纯度 $\geq 99\%$ 。

13.11 标准储备溶液：100 mg/L。准确称取适量的各种安乃近代谢物标准物质(13.9)，用甲醇(13.1)配制成浓度为 100 mg/L 的标准储备溶液，避光 -18°C 保存，可使用 3 个月。

13.12 混合标准储备溶液:1.0 mg/L。吸取每种适量标准储备溶液(13.11),用甲醇稀释成1.0 mg/L的混合标准工作溶液,避光-18℃保存,可使用1个月。

13.13 内标储备溶液:准确称取适量的内标标准物质(13.10)用甲醇(13.1)配制成浓度为100 mg/L标准储备溶液,避光-18℃保存,可使用3个月。

13.14 内标工作溶液:0.20 mg/L。吸取适量的内标储备溶液(13.13),用甲醇稀释成0.20 mg/mL的内标标准工作溶液,避光-18℃保存,可使用1个月。

13.15 基质混合标准工作溶液:吸取适量的混合标准储备溶液(13.12)和适量内标工作溶液(13.14),用空白样品提取液配成浓度为1.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、40.0 μg/L和内标浓度为0.20 mg/L的基质混合标准工作溶液。当天配制。

13.16 Bond Elut C₁₈固相萃取柱或相当者:500 mg,3 mL。用前分别用5mL甲醇和5mL水处理,保持柱体湿润。

13.17 滤膜:0.45 μm。

13.18 玻璃滤纸。

14 仪器和设备



14.1 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

14.2 固相萃取装置。

14.3 氮气浓缩仪。

14.4 旋涡混匀器。

14.5 分析天平:感量0.1 mg和0.01 g。

14.6 真空泵。

14.7 均质器。

14.8 移液器:10 μL~100 μL和100 μL~1 000 μL。

14.9 聚丙烯离心管:50 mL,具塞。

14.10 pH计:测量精度±0.02。

14.11 低温离心机:可制冷到4℃。

14.12 玻璃离心管:15 mL。

15 试样的制备与保存

15.1 试样的制备

取有代表性的牛或猪肌肉组织,制成实验室样品。试样分为两份,置于样品瓶中,密封,并做上标记。

15.2 试样保存

制备好的试样置于-18℃冰柜中避光保存。

16 测定步骤

16.1 提取

称取5 g试样,精确至0.01 g。将上述样品置于50 mL聚丙烯离心管(14.9)中,加入0.25 mL浓度为2.0 mg/L的内标工作溶液(13.14),然后加入15 mL硫酸钠+亚硫酸钠提取溶液(13.6),均质1 min,在10℃以4 000 r/min离心5 min。将上清液转移到另一个干净的50 mL容量瓶中,残渣再分别加入15 mL、10 mL硫酸钠+亚硫酸钠提取溶液提取两次,离心后,合并上清液,并用硫酸钠+亚硫酸钠提取溶液定容至50 mL,混合均匀,然后用玻璃滤纸过滤,待净化。

16.2 净化

取 25 mL 提取液(16.1)放入 C₁₈ 固相萃取柱(13.16)中,以约 1 mL/min 的流速使样液通过固相萃取柱,待样液全部通过后,依次用 5 mL 水和 5 mL 甲醇+水淋洗液(13.7)淋洗固相萃取柱,弃去全部流出液,减压抽干固相萃取柱 10 min。最后用 5 mL 甲醇洗脱,洗脱液收集于 15 mL 玻璃离心管中,置于氮气浓缩仪(14.3)上在 55 ℃ 吹至近干,用样品定容液(13.8)定容至 1.0 mL。定容液混匀后,过 0.45 μm 滤膜,供液相色谱-串联质谱测定。

同时取阴性样品,按 16.1 和 16.2 步骤制备空白样品提取液,用于配制基质混合标准工作溶液。

16.3 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。

16.4 回收率试验

吸取适量混合标准储备溶液和内标标准工作溶液,添加到阴性样品中,按上述操作步骤,测定后计算样品添加的回收率。

16.5 测定

16.5.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱:Atlantis dC₁₈ 色谱柱,3 μm,150 mm×2.1 mm 或相当者;
- b) 柱温:30℃;
- c) 进样量:20 μL;
- d) 流动相、流速及梯度洗脱条件见表 3。

表 3 流动相、流速及梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL/min)	5 mmol/L NH ₄ Ac 溶液,pH 4.5/(%)	乙腈/(%)
0	0.30	90	10
10	0.30	20	80
12	0.30	5	95
13	0.30	90	10
18	0.30	90	10

16.5.2 质谱条件

- 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:多反应监测(MRM);
- d) 电喷雾电压:5 000 V;
- e) 辅助气流速:7.0 L/min;
- f) 辅助气温度:450℃;
- g) 聚焦电压:200 V;
- h) 碰撞室出口电压:15 V;
- i) 定性离子对、定量离子对、碰撞气能量及去簇电压见表 4。

表 4 安乃近代谢物测定的质谱参数

代谢物名称	定性离子对(<i>m/z</i>)	定量离子对(<i>m/z</i>)	碰撞气能量/V	去簇电压/V
4-甲酰氨基安替比林	232/104	232/104	21	36
	232/83		30	36

表 4(续)

代谢物名称	定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	碰撞气能量/V	去簇电压/V
4-氨基安替比林	204/159	204/159	19	35
	204/111		19	35
4-甲基氨基安替比林	218/56	218/56	40	50
	218/97		23	50
4-乙酰氨基安替比林	246/228	246/228	20	32
	246/104		35	32
4-异丙氨基安替比林(内标)	246/56	246/56	46	35
	246/125		35	35

16.5.3 液相色谱-串联质谱测定

16.5.3.1 定性测定

每种被测组分选择 1 个母离子,2 个以上子离子,在相同实验条件下,样品中待测物质和内标物的保留时间之比,也就是相对保留时间,与基质混合标准工作溶液中对应的相对保留时间偏差在±2.5%之内;且样品中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的基质混合标准工作溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较,若偏差不超过表 5 规定的范围,则可判定为样品中存在对应的待测物。

表 5 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差 %

相对离子丰度	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的最大偏差	±20	±25	±30	±50

16.5.3.2 定量测定

在仪器最佳工作条件下,对基质混合标准工作溶液进样,以峰面积为纵坐标,基质混合工作溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线,用标准工作曲线对样品进行定量,样品溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。四种安乃近代谢物标准物质和内标物的多反应监测(MRM)色谱图参见图 B.1。4-乙酰氨基安替比林和 4-乙酰氨基安替比林采用外标法定量;4-甲基氨基安替比林和 4-氨基安替比林采用内标法进行定量。四种安乃近代谢物的添加浓度及其平均回收率的试验数据参见附录 D。

16.6 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。

16.7 回收率试验

吸取适量混合标准工作溶液和内标标准工作溶液,用空白基质溶液稀释成所需浓度的标准工作溶液。阴性样品中添加标准溶液,按 16.2 操作,测定后计算样品添加的回收率。

17 结果计算

4-乙酰氨基安替比林和 4-乙酰氨基安替比林结果按式(3)计算:

$$X = c \times \frac{V}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

- X——试样中被测组分残留量,单位为微克每千克(μg/kg);
- c——从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V——样品溶液最终定容体积,单位为毫升(mL);
- m——样品溶液所代表最终试样的质量,单位为克(g)。

4-甲基氨基安替比林和 4-氨基安替比林结果按式(4)计算:

$$X = c_s \times \frac{A}{A_s} \times \frac{c_i}{c_{si}} \times \frac{A_{si}}{A_i} \times \frac{V}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000} \dots\dots\dots(4)$$

式中:

- X——试样中被测物残留量,单位为微克每千克(μg/kg);
- c_s——基质标准工作溶液中被测物的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- A——试样溶液中被测物的色谱峰面积;
- A_s——基质标准工作溶液中被测物的色谱峰面积;
- c_i——试样溶液中内标物的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- c_{si}——基质标准工作溶液中内标物的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- A_{si}——基质标准工作溶液中内标物的色谱峰面积;
- A_i——试样溶液中内标物的色谱峰面积;
- V——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);
- m——试样溶液所代表试样的质量,单位为克(g)。

注:计算结果应扣除空白值。

18 精密度

本部分的精密度数据是按照 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 的规定确定的,重复性和再现性的值以 95%的可信度来计算。

18.1 重复性

在重复性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限 r,被测物的含量范围及重复性方程见表 6。

表 6 含量范围及重复性和再现性方程

化合物名称		含量范围/ (μg/kg)	重复性限 r	再现性限 R
猪肉	4-甲酰氨基安替比林	5.0~40.0	lgr=0.397 0 lgm-0.606 1	lgr=0.767 5 lgm-0.996 7
	4-氨基安替比林	5.0~40.0	lgr=0.683 0 lgm-0.838 3	lgr=0.866 0 lgm-1.090 2
	4-甲基氨基安替比林	5.0~40.0	lgr=0.737 8 lgm-1.021 6	lgr=1.007 2 lgm-1.263 3
	4-乙酰氨基安替比林	5.0~40.0	lgr=0.607 6 lgm-0.801 9	lgr=0.797 3 lgm-1.002 7
牛肉	4-甲酰氨基安替比林	5.0~40.0	lgr=0.729 2 lgm-0.955 6	lgr=0.752 7 lgm-0.977 9
	4-氨基安替比林	5.0~40.0	lgr=0.874 4 lg m-1.115 0	lgr=0.756 7 lgm-0.884 7
	4-甲基氨基安替比林	5.0~40.0	lgr=0.878 0 lgm-1.090 2	lgr=1.122 7 lgm-1.392 8
	4-乙酰氨基安替比林	5.0~40.0	lgr=0.686 7 lgm-0.947 8	lgr=0.972 0 lgm-1.269 0
注:m 为两次测定结果的算术平均值。				

如果差值超过重复性限,应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

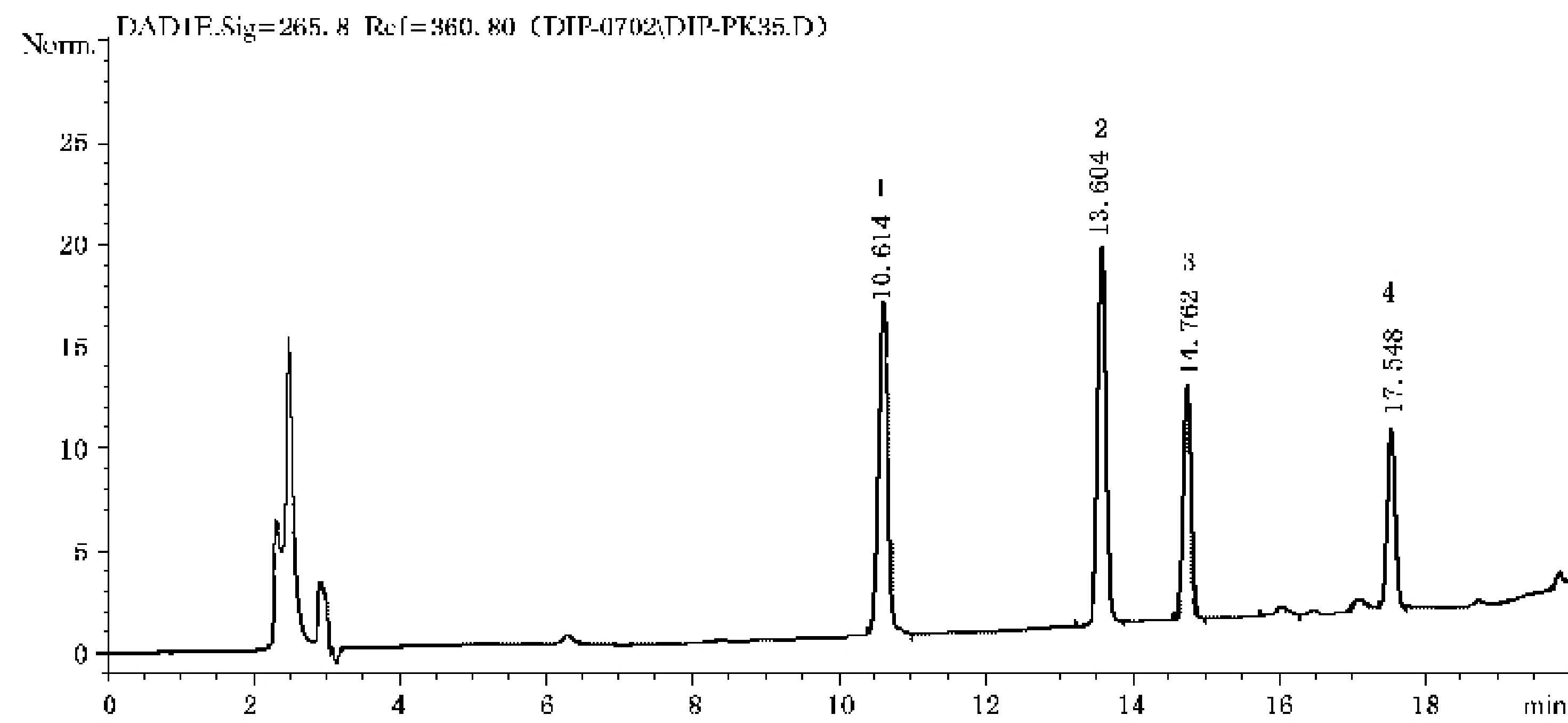
18.2 再现性

在再现性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限 R,被测物的含量范围及再现性方程见表 6。

附录 A
(资料性附录)

三种安乃近代谢物标准物质及内标物的液相色谱图

三种安乃近代谢物标准物质及内标物的液相色谱图,见图 A.1。



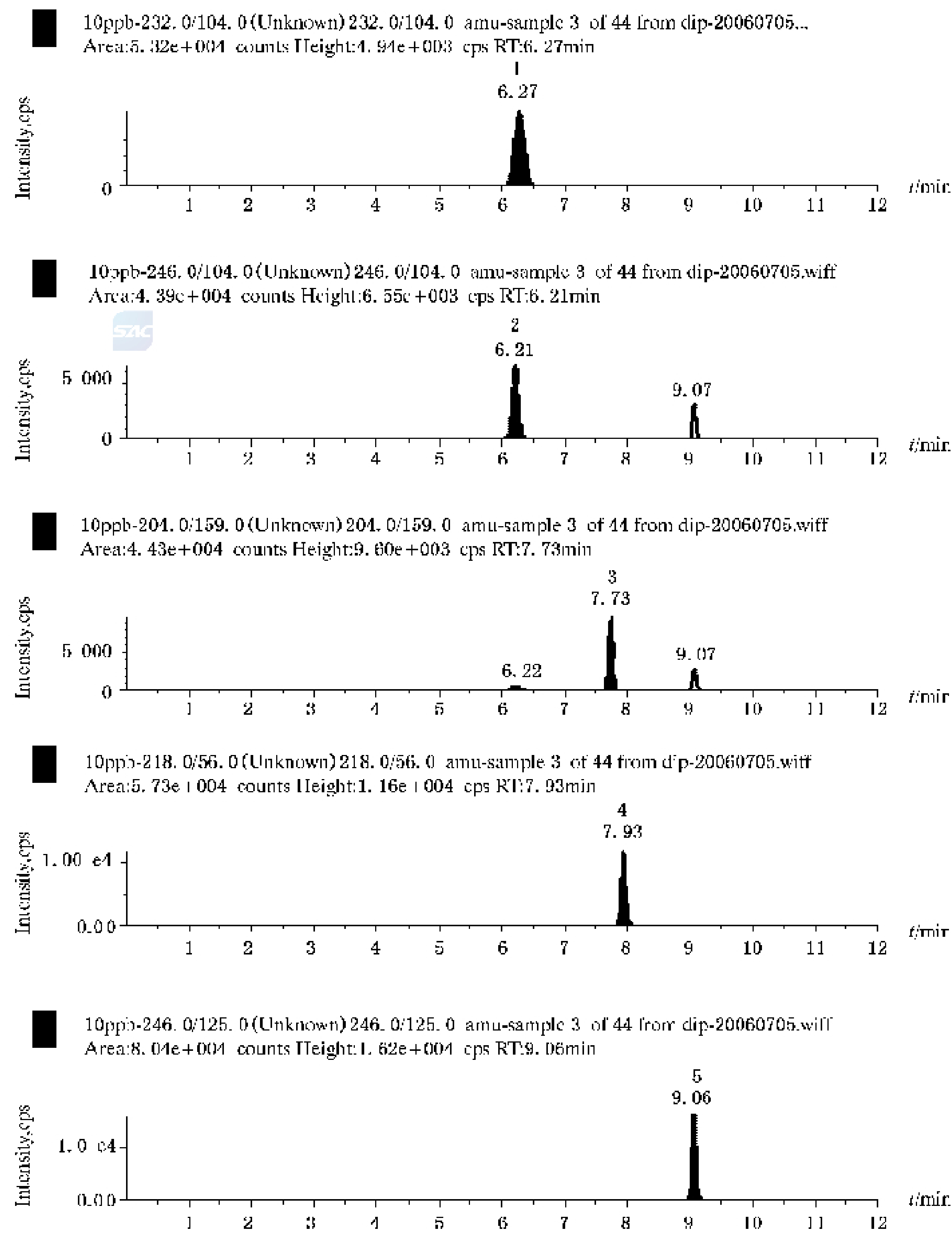
- 1——4-甲酰氨基安替比林,10.61 min;
- 2——4-氨基安替比林,13.60 min;
- 3——4-甲基氨基安替比林,14.76 min;
- 4——4-异丙氨基安替比林(内标),17.55min。

图 A.1 三种安乃近代谢物标准物质及内标物的液相色谱图

附录 B
(资料性附录)

四种安乃近标准物质及内标物的多反应监测(MRM)色谱图

四种安乃近标准物质及内标物的多反应监测(MRM)色谱图,见图 B.1。



- 1——4-甲酰氨基安替比林,6.27 min;
- 2——4-乙酰氨基安替比林,6.21 min;
- 3——4-氨基安替比林,7.73 min;
- 4——4-甲基氨基安替比林,7.93min;
- 5——4-异丙氨基安替比林(内标)9.06 min。

图 B.1 四种安乃近标准物质及内标物的多反应监测(MRM)色谱图

附 录 C
(资料性附录)
回收率(液相色谱法)

猪肉中安乃近代谢物的添加浓度及其平均回收率,见表 C.1。

表 C.1 猪肉中安乃近代谢物的添加浓度及其平均回收率($n=10$)

安乃近代谢物名称	添加浓度/ ($\mu\text{g/kg}$)	回收率/ (%)
4-甲酰氨基安替比林	50.0	81.3
	100	85.0
	200	85.6
	400	90.8
4-氨基安替比林	50.0	86.3
	100	87.7
	200	90.0
	400	96.0
4-甲基氨基安替比林	50.0	80.4
	100	81.9
	200	87.5
	400	86.0

牛肉中安乃近代谢物的添加浓度及其平均回收率,见表 C.2。

表 C.2 牛肉中安乃近代谢物的添加浓度及其平均回收率($n=10$)

安乃近代谢物名称	添加浓度/ ($\mu\text{g/kg}$)	回收率/ (%)
4-甲酰氨基安替比林	50.0	86.6
	100	84.2
	200	91.0
	400	92.5
4-氨基安替比林	50.0	82.0
	100	86.6
	200	90.0
	400	94.2
4-甲基氨基安替比林	50.0	 83.2
	100	84.0
	200	84.0
	400	90.6

附 录 D
(资料性附录)
回收率(液相色谱-串联质谱法)

猪肉中安乃近代谢物的添加浓度及其平均回收率,见表 D. 1。

表 D. 1 猪肉中安乃近代谢物的添加浓度及其平均回收率(*n* = 10)

安乃近代谢物名称	添加浓度/ (μg/kg)	回收率/ (%)
4-甲酰氨基安替比林	5.0	91.2
	10.0	94.0
	20.0	92.0
	40.0	92.0
4-氨基安替比林	5.0	82.0
	10.0	87.5
	20.0	96.5
	40.0	97.8
4-甲基氨基安替比林	5.0	80.4
	10.0	77.1
	20.0	75.0
	40.0	75.7
4-乙酰氨基安替比林	5.0	90.2
	10.0	88.2
	20.0	85.0
	40.0	88.8

牛肉中安乃近代谢物的添加浓度及其平均回收率,见表 D. 2。

表 D. 2 牛肉中安乃近代谢物的添加浓度及其平均回收率(*n* = 10)

安乃近代谢物名称	添加浓度/ (μg/kg)	回收率/ (%)
4-甲酰氨基安替比林	5.0	81.6
	10.0	85.5
	20.0	89.0
	40.0	89.1
4-氨基安替比林	5.0	96.2
	10.0	97.6
	20.0	101
	40.0	104
4-甲基氨基安替比林	5.0	86.4
	10.0	80.7
	20.0	78.5
	40.0	76.4
4-乙酰氨基安替比林	5.0	86.4
	10.0	88.1
	20.0	85.9
	40.0	90.5