

中华人民共和国国家标准

GB 31660.6—2019

食品安全国家标准 动物性食品中 5 种 α_2 -受体激动剂残留量 的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-

Determination of five kinds of alpha-agonists residues in animal
derived food by liquid chromatography- tandem mass spectrometry method

2019-09-06 发布

2020-04-01 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
国家市场监督管理总局

发布

前 言

本标准系首次发布。

食品安全国家标准
动物性食品中 5 种 α_2 -受体激动剂残留量的测定
液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了动物性食品中5种 α_2 -受体激动剂的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于猪肌肉、肝脏和肾脏组织及鸡肌肉和肝脏组织中替扎尼定、赛拉嗪、溴莫尼定、安普乐定和可乐定残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 原理

试样中残留的 α_2 -受体激动剂，用碳酸钠缓冲溶液、乙酸乙酯提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱测定，外标法定量。

4 试剂和材料

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。

4.1 试剂

4.1.1 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

4.1.2 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

4.1.3 甲醇（CH₃OH）。

4.1.4 氨水（NH₄OH）。

4.1.5 无水碳酸钠（Na₂CO₃）。

4.1.6 碳酸氢钠（NaHCO₃）。

4.1.7 乙酸乙酯（CH₃COOC₂H₅）。

4.2 溶液配制

4.2.1 碳酸钠溶液：取无水碳酸钠 10.6 g，用水溶解并稀释至 100 mL。

4.2.2 碳酸氢钠溶液：取碳酸氢钠 8.4 g，用水溶解并稀释至 100 mL。

4.2.3 碳酸钠缓冲溶液：取碳酸钠溶液 90 mL、碳酸氢钠溶液 10 mL，混匀，现用现配。

4.2.4 甲酸溶液（0.2%）：取甲酸 1 mL，用水溶解并稀释至 500 mL。

4.2.5 甲酸-乙腈溶液：取 0.2%甲酸溶液 80 mL，加乙腈 20 mL，混匀。

4.2.6 氨水甲醇溶液（5%）：取氨水 5 mL，用甲醇溶解并稀释至 100mL。

4.3 标准品

盐酸替扎尼定（Tizanidine hydrochloride, C₉H₈ClN₅S HCl, CAS:64461-82-1）、盐酸赛拉嗪（Xylazine Hydrochloride, C₁₂H₁₆N₂S, CAS:7361-61-7）、溴莫尼定（Brimonidine, C₁₁H₁₀BrN₅, CAS:59803-98-4）、盐酸安普乐定（Apraclonidine hydrochloride, C₉H₁₀N₄Cl₂ HCl,

CAS:73218-79-8)和盐酸可乐定(Clonidine hydrochloride, $C_9H_{10}Cl_3N_3$, CAS:4205-91-8): 含量均 $\geq 98\%$ 。

4.4 标准溶液制备

4.4.1 标准贮备液: 取盐酸替扎尼定、盐酸赛拉嗪、溴莫尼定、盐酸安普乐定和盐酸可乐定标准品各约10mg, 精密称定, 分别于10 mL量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配制成浓度均为1 mg/mL的盐酸替扎尼定、盐酸赛拉嗪、溴莫尼定、盐酸安普乐定和盐酸可乐定标准贮备液。2~8℃保存, 有效期6个月。

4.4.2 混合标准工作液: 分别精密量取上述标准贮备液各1 mL, 于100 mL量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配制成浓度为10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液。于2~8℃保存, 有效期1个月。

4.4.3 标准曲线制备: 分别精密量取混合标准工作液适量, 用甲酸-乙腈溶液稀释配制成浓度为0.5、1、10、50和100 $\mu\text{g/L}$ 系列混合标准工作液, 临用现配。

4.5 材料

4.5.1 固相萃取MCX柱: 60mg/3mL, 或相当者。

4.5.2 滤膜: 有机相, 0.22 μm 。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪: 带电喷雾电离源。

5.2 分析天平: 感量0.00001 g和0.01 g。

5.3 均质机。

5.4 离心机。

5.5 涡旋振荡器。

5.6 旋转蒸发器。

5.7 固相萃取装置。

5.8 鸡心瓶。

5.9 离心管: 50 mL。

6 试料的制备与保存

6.1 试料的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织, 绞碎并使均质。

——取均质的供试样品, 作为供试试料。

——取均质的空白样品, 作为空白试料。

——取均质的空白样品, 添加适宜浓度的标准工作液, 作为空白添加试料。

6.2 样品的保存

-20℃以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

取试料2 g (准确至±20mg)，于50 mL离心管中，加碳酸钠缓冲液5 mL，振荡混匀，加乙酸乙酯10 mL，充分振荡，于8000 r/min离心5 min，取上清液于鸡心瓶中，下层溶液中加乙酸乙酯10 mL重复提取一次，合并两次上清液。于55℃旋转蒸发至干，加甲酸-乙腈溶液4.0mL溶解残余物，备用。

7.2 净化

MCX柱依次用甲醇、水各3 mL活化。取备用液过柱，用水3 mL、甲醇3 mL分别淋洗，挤干，氨水甲醇溶液6 mL洗脱，收集洗脱液，于60℃旋转蒸发至干，用甲酸-乙腈溶液1.0 mL溶解残余物，滤过，液相色谱-串联质谱测定。

7.3 测定

7.3.1 色谱条件

- a) 色谱柱: C₁₈ (100 mm×3.0 mm, 粒径 1.8 μm), 或相当者;
- b) 柱温: 30℃;
- c) 进样量: 10 μL;
- d) 流速: 0.3 mL/min;
- e) 流动相: A: 乙腈; B: 0.2%甲酸溶液, 梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

时间 min	A: 乙腈 %	B: 0.2%甲酸溶液 %
0.0	10	90
3.0	30	70
4.0	30	70
4.5	80	20
5.5	80	20
5.6	10	90

7.3.2 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;
- d) 离子源温度: 150℃;

e) 脱溶剂温度: 500℃;

f) 毛细管电压: 3.0 V;

g) 定性离子对、定量离子对及锥孔电压和碰撞能量见表 2。

表 2 5 种 α_2 受体激动剂类药物的质谱参数

被测物名称	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	锥孔电 压 V	碰撞能量 eV
替扎尼定	254.1>44.1	254.1>44.1	38	22
	254.1>210.0			30
赛拉嗪	221.1>90.0	221.1>90.0	30	22
	221.1>164.0			26
溴莫尼定	292.2>170.2	292.2>212.3	40	35
	292.2>212.3			30
安普乐定	245.2>174.2	245.2>174.2	40	28
	245.2>209.2			20
可乐定	230.0>160.0	230.0>213.0	43	34
	230.0>213.0			24

7.4 测定法

7.4.1 定性测定

在同样测试条件下, 试样液中 α_2 -受体激动剂的保留时间与标准工作液中相应 α_2 -受体激动剂的保留时间之比, 偏差在 $\pm 5\%$ 以内, 且检测到离子的相对丰度, 应当与浓度相当的校正标准溶液相对丰度一致, 其允许偏差应符合表 3 要求。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许误差

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

7.4.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准工作液, 按外标法以峰面积定量, 标准工作液及试样溶液中的 α_2 受体激动剂类响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述条件下, α_2 受体激动剂标准溶液特征离子质量色谱图见附录A。

7.5 空白试验

除不加试料外, 采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果计算和表述

试料中待测药物的残留量按式 (1) 计算:

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

式中：

- X ——供试试料中相应的 α_2 受体激动剂类药物残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；
- C_s ——标准溶液中相应的 α_2 受体激动剂类药物浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；
- A ——试样溶液中相应的 α_2 受体激动剂类药物的色谱峰面积；
- A_s ——标准溶液中相应的 α_2 受体激动剂类药物色谱峰面积；
- V ——溶解残余物所用的溶液体积，单位为毫升（ mL ）；
- m ——供试试料质量，单位为克（ g ）；

计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。

9 检测方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法的检测限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法在 $1 \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $60\% \sim 100\%$ 。

9.3 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
(资料性附录)
特征离子质量色谱图

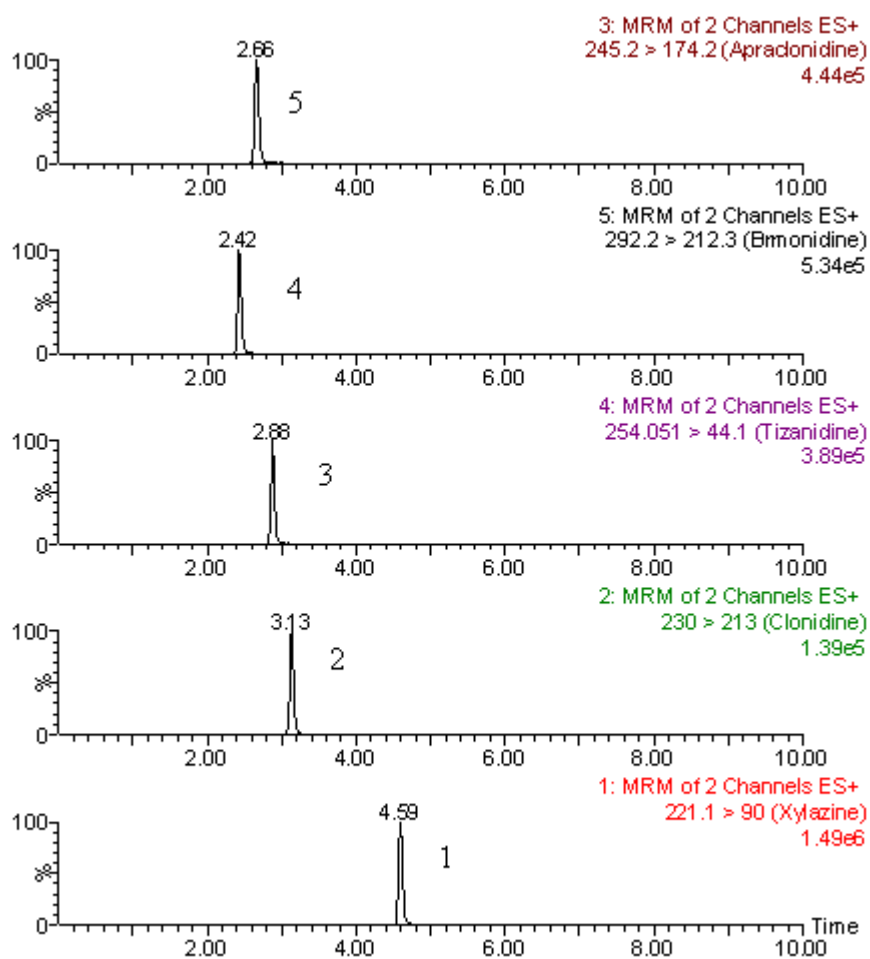


图 A.1 10 $\mu\text{g/L}$ α_2 受体激动剂类药物标准溶液特征离子质量色谱图

- 1-赛拉嗪特征离子质量色谱图 (221.1>90.0)
- 2-可乐定特征离子质量色谱图 (230.0>213.0)
- 3-替扎尼定特征离子质量色谱图 (254.1>44.1)
- 4-溴莫尼定特征离子质量色谱图 (292.2>212.3)
- 5-安普乐定特征离子质量色谱图 (245.2>174.2)