



中华人民共和国国家标准

GB×××××-××××

代替 GB/T 22960-2008

食品安全国家标准 水产品中头孢类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standards-

Determination of cephalosporins residues in aquatic products by liquid
chromatography-tandem mass spectrometric method
(公开征求意见稿)

××××-××-发布

××××-××-××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》的规则起草。

本文件代替GB/T 22960-2008《河豚鱼和鳗鱼中头孢唑啉、头孢匹林、头孢氨苄、头孢洛宁、头孢喹肟残留量的测定.液相色谱-串联质谱法》。与GB/T 22960-2008相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- 标准文本格式修改为食品安全国家标准文本格式。
- 标准范围从“河豚鱼和鳗鱼”扩大至“鱼和虾”。
- 标准范围中药物数量从5种增加至9种，并增加头孢匹林代谢产物去乙酰基头孢匹林。
- 更改了标准前处理步骤。
- 标准灵敏度进一步提高，头孢唑啉的定量限从10 µg/kg提高至4.0 µg/kg，头孢匹林、头孢氨苄、头孢洛宁和头孢喹肟的定量限从2.0 µg/kg提高至1.0 µg/kg。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- GB/T 22960-2008。

食品安全国家标准

水产品中头孢类药物残留量的测定

液相色谱—串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中头孢类药物残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鱼和虾可食组织中头孢氨苄、头孢拉定、头孢唑林、头孢哌酮、头孢乙腈、头孢匹林、头孢洛宁、头孢喹肟、头孢噻肟、去乙酰基头孢匹林残留量的检测，其他水产品可参照使用。

2 规范性引用文件

下列文件中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

GB/T 30891 水产品抽样办法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中残留的头孢类药物用 80% 乙腈溶液提取，增强型脂质去除固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱法测定，基质匹配标准溶液外标法定量。

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 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

5.1.2 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

5.1.3 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。

5.2 溶液的配制

5.2.1 30%乙腈溶液：取乙腈 30 mL，用水稀释至 100 mL。

5.2.2 80%乙腈溶液：取乙腈 800 mL，用水稀释至 1000 mL。。

5.2.3 0.1%甲酸溶液：取甲酸 1 mL，用水稀释至 1000 mL。

5.3 标准品

头孢氨苄、头孢拉定、头孢唑林、头孢哌酮、头孢乙腈、头孢匹林、去乙酰基头孢匹林、头孢洛宁、头孢喹肟、头孢噻肟标准品，含量均 $\geq 95\%$ ，其它相关信息见附录 A。

5.4 标准溶液的制备

5.4.1 标准储备液：取标准品各约 10 mg，精密称定，分别置于 25 mL 容量瓶中，用 30% 乙腈溶液溶解并稀释至刻度，配制成浓度为 400 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。 -18°C 以下避光保存，有效期 1 个月。

5.4.2 混合标准储备液：分别准确量取头孢乙腈、头孢唑林和头孢哌酮 3 种头孢类药物标准储备液的体积各 1.0 mL，其他标准储备液各 0.25 mL 于 10 mL 容量瓶中，用 30% 乙腈溶液稀释至刻度，配制成浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ （头孢乙腈、头孢唑林和头孢哌酮 3 种头孢类药物的浓度为 40 $\mu\text{g/mL}$ ）的混合标准储备液。 -18°C 以下避光保存，有效期 7 d。

5.4.3 混合系列标准工作液：准确移取混合标准储备液适量，用 0.1% 甲酸溶液稀释成浓度为 0.50 $\mu\text{g/L}$ 、1.0 $\mu\text{g/L}$ 、5.0 $\mu\text{g/L}$ 、10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 和 50 $\mu\text{g/L}$ （头孢乙腈、头孢唑林和头孢哌酮 3 种头孢类药物药物的浓度为 2.0 $\mu\text{g/L}$ 、4.0 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、40 $\mu\text{g/L}$ 、80 $\mu\text{g/L}$ 和 200 $\mu\text{g/L}$ ）的系列混合标准工作溶液，现配现用。

5.5 材料

5.5.1 增强型脂质去除柱：300 mg/3 mL，或性能相当者。

5.5.2 针头式过滤器通用型滤膜：尼龙材质，孔径 0.22 μm 或性能相当者。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源。

6.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.000 01 g。

6.3 离心机：8000 r/min 或以上。

6.4 氮吹仪。

6.5 匀质器：10000 r/min 或以上。

6.6 固相萃取装置。

6.7 涡旋混合器。

6.8 离心管：聚丙烯塑料离心管，10 mL、50 mL。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

按 GB/T 30891 附录 B 的要求制样。取适量新鲜或解冻的空白或供试样品，绞碎并使均质。

——取均质后的供试样品，作为供试试样。

——取均质后的空白样品，作为空白试样。

——取均质后的空白样品，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℃以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

取试料(5±0.05) g，于50 mL离心管中，加入80%乙腈溶液20 mL，用匀质器以10000r/min以上速度匀质1 min，8000 r/min离心5 min，移取上清液用80%乙腈溶液稀释至25.0 mL，备用。

8.2 净化

取固相萃取柱，准确移取5.0 mL备用液过柱，再用2 mL80%乙腈溶液洗脱，保持过柱流速1~2 mL/min，收集流出液和洗脱液于10 mL离心管中。收集到的溶液在45℃水浴氮吹至约0.5 mL，用0.1%甲酸溶液稀释至2.0 mL，涡旋1 min，过0.22 μm滤膜，供液相色谱-串联质谱测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

取空白试样依次按8.1和8.2处理，45℃水浴氮气吹至约0.5 mL，分别加入5.4.3中的系列混合标准工作溶液1.0 mL，用0.1%甲酸溶液稀释至2.0 mL，涡旋1 min，过0.22 μm滤膜，制备0.25 μg/L、0.50 μg/L、2.5 μg/L、5.0 μg/L、10 μg/L和25 μg/L（头孢乙腈、头孢唑林和头孢哌酮3种头孢类药物药物的浓度为1.0 μg/L、2.0 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、40 μg/L和100 μg/L）的系列基质匹配标准工作溶液，供液相色谱-串联质谱测定。以定量离子对峰面积为纵坐标，

基质匹配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 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C₁₈色谱柱（100 mm×2.0 mm，1.7 μm）或相当者；
- b) 流动相：A：0.1%甲酸溶液，B：甲醇，梯度洗脱程序见表1；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：35 ℃；
- e) 进样量：10 μL。

表1 流动相梯度洗脱条件

时间 (min)	0.1% 甲酸溶液 (%)	甲醇 (%)
0	95	5
1.0	95	5
4.5	50	50
6.0	50	50
6.1	95	5
7.5	95	5

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾（ESI）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) 毛细管电压：2 000 V；
- e) RF透镜电压：0.5 V；
- f) 离子源温度：150 ℃；
- g) 脱溶剂气温度：500 ℃；
- h) 锥孔气流速：50 L/h；
- i) 脱溶剂气流速：1000 L/h；

j) 二级碰撞气：氙气；

k) 定性离子对、定量离子对、碰撞能量和锥孔电压见表2。

表2 定性离子对、定量离子对、碰撞能量和锥孔电压

化合物名称	定性离子对和 碰撞能量 (eV)	定量离子对和 碰撞能量 (eV)	锥孔电压 (V)
头孢氨苄	348.1/106.0 (32) 348.1/158.0 (10)	348.1/158.0 (10)	26
头孢拉定	350.2/157.9 (12) 350.2/176.0 (12)	350.2/176.0 (12)	24
头孢乙腈	362.0/178.0 (14) 362.0/258.0 (10)	362.0/258.0 (10)	24
头孢唑林	455.0/156.0 (16) 455.0/323.0 (10)	455.0/323.0 (10)	4
头孢哌酮	646.2/143.0 (38) 646.2/530.1 (10)	646.2/143.0 (38)	28
头孢匹林	424.1/151.9 (22) 424.1/292.0 (12)	424.1/292.0 (22)	28
头孢洛宁	459.1/151.9 (18) 459.1/337.0 (8)	459.1/337.0 (8)	12
头孢噻肟	529.2/134.0 (14) 529.2/396.0 (12)	529.2/134.0 (14)	34
去乙酰基头孢匹林	382.1/111.8 (20) 382.1/151.9 (26)	382.1/151.9 (26)	32
头孢噻肟	456.0/167.0 (18) 456.0/396.0 (8)	456.0/396.0 (8)	22

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在相同测试条件下，试样溶液中目标药物的保留时间与基质匹配标准工作液中目标药物的保留时间偏差在 $\pm 0.1\text{min}$ 以内，且检测到的离子的相对丰度，应当与浓度相当的基质匹配标准工作溶液相对丰度一致。其允许偏差为 $\pm 40\%$ 。

8.4.3.2 定量测定

取试样溶液和基质匹配标准工作溶液，作单点或多点校准，外标法计算。基质匹配标准工作溶液及试样溶液中目标药物的特征离子质量色谱峰峰面积均应在仪器检测的线性范围内。基质匹配标准溶液特征离子质量色谱图见附录 B。对于试料中头孢类药物残留量超过仪器测定线性范围的，应对试样溶液采用空白基质溶液稀释后测定。

8.5 空白试验

取空白试料，除不加标准溶液外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中待测药物的残留量按标准曲线或公式（1）计算：

$$X = \frac{C_s \times A \times V_1 \times V_2 \times 1000}{A_s \times m \times V_3 \times 1000}$$

式中：

X —试样中待测药物的残留量的数值，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；

C_s —标准溶液中待测药物浓度的数值，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

A —试样溶液中待测药物的峰面积；

A_s —标准溶液中待测药物的峰面积；

V_1 —提取后提取液体积，单位为毫升（ mL ）；

V_2 —最终样液定容体积，单位为毫升（ mL ）；

V_3 —用于净化的提取液体积，单位为毫升（ mL ）；

m —试样质量，单位为克（ g ）。

注：头孢匹林残留量以头孢匹林和去乙酰基头孢匹林之和计；计算结果小于 $1\mu\text{g/kg}$ 的保留3位有效数字， $1\mu\text{g/kg}$ 以下保留至小数点后2位。

10 检测方法的灵敏度、正确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法中头孢哌酮、头孢乙腈和头孢唑林在水产品中的检出限为 $2.0\ \mu\text{g/kg}$ ，定量限为 $4.0\ \mu\text{g/kg}$ ；其余头孢类药物和去乙酰基头孢匹林在水产品中的检出限为 $0.5\ \mu\text{g/kg}$ ，定量限为 $1.0\ \mu\text{g/kg}$ 。

10.2 正确度

本方法中头孢哌酮、头孢乙腈和头孢唑林在 $4.0\sim 40\ \mu\text{g/kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $60\%\sim 120\%$ ，其余头孢类药物和去乙酰基头孢匹林在 $1.0\sim 10\ \mu\text{g/kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $60\%\sim 120\%$ 。

10.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附 录 A
(资料性附录)

9种头孢类药物和去乙酰基头孢匹林的英文名称、CAS号、分子式

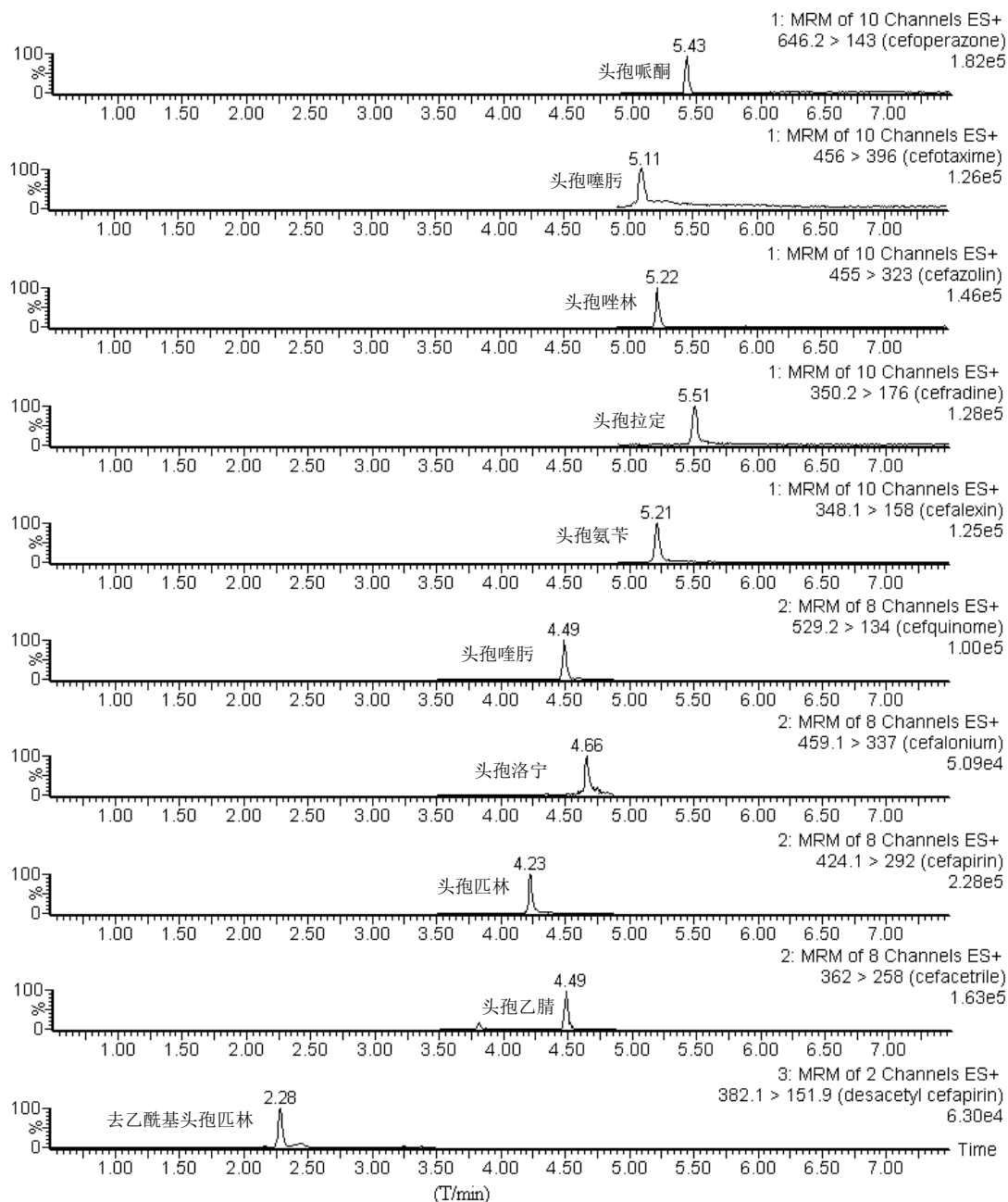
表A.1 9种头孢类药物和去乙酰基头孢匹林的英文名称、CAS号、分子式

化合物	英文名称	CAS号	分子式
头孢氨苄	cefalexin	15686-71-2	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₄ S
头孢拉定	cefradine	38821-53-3	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₄ S
头孢乙腈	cefacetrile	10206-21-0	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O ₆ S
头孢唑林	cefazolin	25953-19-9	C ₁₄ H ₁₄ N ₈ O ₄ S ₃
头孢哌酮	cefoperazone	62893-19-0	C ₂₅ H ₂₇ N ₉ O ₈ S ₂
头孢匹林	cefapirin	21593-23-7	C ₂₄ H ₂₄ N ₄ O ₂
头孢洛宁	cefalonium	5575-21-3	C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₅ S ₂
头孢喹肟	cefquinome	84957-30-2	C ₂₃ H ₂₄ N ₆ O ₅ S ₂
去乙酰基头孢匹林	desacetyl cefapirin	38115-21-8	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₅ S ₂
头孢噻肟	cefotaxime	63527-52-6	C ₁₆ H ₁₇ N ₅ O ₇ S ₂

附录 B
(资料性附录)

鲈鱼基质头孢类药物基质匹配标准溶液液相色谱串联质谱多反应监测(MRM)色谱图

鲈鱼基质头孢类药物基质匹配标准溶液液相色谱串联质谱多反应监测(MRM)色谱图见图B.1。



图B.1 头孢类药物基质(鲈鱼)匹配标准溶液(头孢哌酮、头孢乙腈和头孢唑林浓度2.0 µg/L, 其他头孢类药物0.50 µg/L)液相色谱串联质谱MRM色谱图