



中华人民共和国国家标准

GBXXXXX—XXXX

食品安全国家标准 牛羊肉中常山酮残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-
Determination of halofuginone residue in bovine milk and goat milk by liquid
chromatography-tandem mass spectrometric method

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 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》的规定起草。

征求意见稿

食品安全国家标准

牛羊奶中常山酮残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了牛奶和羊奶中常山酮药物残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。
本文件适用于牛奶和羊奶中常山酮残留量的测定，其他乳制品的检测可以参照执行。

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

试样中的常山酮药物经乙腈提取，固相萃取净化后，液相色谱-串联质谱测定，基质匹配外标法定量。

5 试剂和材料

除非另有说明，所用试剂均为分析纯，水为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。
- 5.1.4 乙酸铵（ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ）。

5.2 溶液配制

2 mmol/L 乙酸铵溶液（含 0.1% 甲酸）：取乙酸铵 0.154 g，加甲酸 1 mL，用适量水溶解并稀释至 1000 mL，混匀。

5.3 标准品

常山酮（Halofuginone， $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{BrClN}_3\text{O}_3$ ，CAS 号：55837-20-2），纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液：取常山酮标准品适量（相当于常山酮 10mg），精密称定，加甲醇适量使溶解并稀释定容至 10 mL 棕色容量瓶，配制成 1 mg/mL 的标准储备液。 -18°C 以下保存，有效期 6 个月。

5.4.2 标准中间液：准确量取常山酮标准储备液适量，用甲醇稀释制成浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 标准中间液。 -18°C 以下保存，有效期 6 个月。

5.4.3 标准工作液 (100 $\mu\text{g/L}$): 准确量取常山酮标准中间液适量, 用甲醇稀释配制成浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 标准工作液。-18℃以下保存, 有效期 1 个月。

5.4.4 标准工作溶液 (20 $\mu\text{g/L}$): 准确量取 100 $\mu\text{g/L}$ 标准工作液适量, 用甲醇稀释配制成浓度为 20 $\mu\text{g/L}$ 标准工作液。临用现配。

5.5 材料

5.5.1 通过式反相混合型亲水亲脂固相萃取柱: 60 mg/3 mL, 或相当者。

5.5.2 聚四氟乙烯微孔滤膜: 有机相, 0.22 μm 。

6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪: 带电喷雾离子源。

6.2 离心机: 9500 r/min 或以上。

6.3 电子天平: 感量为 0.00001 g 和 0.01 g。

6.4 涡旋混合器。

6.5 超声波清洗仪。

6.6 氮气浓缩装置。

6.7 固相萃取装置。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜或冷藏的空白或供试样品, 充分混合均匀。

——取混匀后的供试样品, 作为供试试样;

——取混匀后的空白样品, 作为空白试样;

——取混匀后的空白样品, 添加适宜浓度的标准工作液, 作为空白添加试样。

7.2 试样的保存

—18℃以下避光保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试样 (2 \pm 0.01) g, 于 15 mL 聚丙烯离心管中, 加入乙腈 5 mL, 涡旋混匀 30 s, 超声 5 min, 9500 r/min 离心 5 min。上清液转移至另一 15 mL 刻度离心管, 残渣中加入乙腈 3 mL, 重复提取一次, 合并两次提取液, 用水定容至 10 mL, 涡旋混匀 30 s, 9500 r/min 离心 5 min, 备用。

8.2 净化

精确移取提取液 5 mL, 直接过固相萃取柱, 流速控制在约 1 滴/s, 收集流出液至 15 mL 具刻度试管, 样液完全流出后真空抽干小柱。40℃水浴氮气吹至约 1 mL, 用乙腈稀释至 2 mL, 涡旋混匀 1 min。过 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜, 供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

精密量取 20 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作液适量, 分别加入 5 份经提取和净化后的空白样品溶液中, 40℃水浴氮气吹至约 1 mL, 用乙腈定容至 2 mL, 配制成浓度为 0.2 $\mu\text{g/L}$ 、0.5 $\mu\text{g/L}$ 、1 $\mu\text{g/L}$ 、2 $\mu\text{g/L}$ 和 5 $\mu\text{g/L}$ 的基质匹配系列标准溶液, 聚四氟乙烯滤膜过滤, 供液相色谱-串联质谱测定。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：C₁₈ 色谱柱（2.1×100 mm，2.7 μm）或相当者；
- 流动相：A 为 2 mmol/L 乙酸铵溶液（含 0.1% 甲酸），B 为乙腈，梯度洗脱条件见表 1；
- 流速：0.3 mL/min；
- 柱温：40℃；
- 进样量：5 μL；

表1 梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	95	5
5.0	60	40
6.0	10	90
7.5	10	90
8.0	95	5
11	95	5

8.4.2 质谱参考条件

- 离子源：电喷雾离子源；
- 监测方式：多反应监测，质谱参数参见表 2；
- 扫描方式：正离子扫描；
- 离子源温度：550℃；
- 电喷雾电压：5500 V；
- 气帘气压力（CUR）：30.0 kpa（氮气）；
- 碰撞气体（CAD）：8L/min（氮气）；
- 雾化气（GS1）：40 kpa；
- 辅助气（GS1）：60 kpa；

表2 常山酮特征离子参考质谱条件

药物	定性离子对 m/z	定量离子 m/z	去簇电压 V	碰撞能量 eV
常山酮	416.0>100.1	416.0>100.1	110	26
	416.0>138.1			27

注：带*离子为定量离子

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在同样测试条件下，试样溶液中的常山酮药物的保留时间与基质匹配标准溶液中相应组分的保留时间相比，偏差在±0.1min以内，且检测到的相对离子比率，应当与浓度相当的基质匹配标准溶液相对离子比率一致，其允许相对偏差不超过±40%。

8.4.3.2 定量测定

按8.4.1和8.4.2设定仪器条件，以基质匹配标准溶液浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，作单点或多点校准，按外标法计算试样中药物的残留量，基质匹配标准溶液及试样溶液中的目

标物响应值均在仪器检测的线性范围内。标准溶液特征离子质量色谱图见附录A。对于试样中常山酮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

取空白试样，除不加药物外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算

试样中待测药物的残留量按标准曲线或公式（1）计算，

$$\omega = \frac{\rho_s \times A \times V_1 \times V_3 \times 1000}{A_s \times V_2 \times m \times 1000} \dots \dots (1)$$

式中：

ω —试样中待测药物残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

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

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 —提取溶液总体积，单位为毫升（ mL ）；

V_2 —吸取出用于净化的提取溶液体积值，单位为毫升（ mL ）；

V_3 —最终定容体积，单位为毫升（ mL ）；

m —试样质量，单位为克（ g ）；

注：计算结果不小于 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的保留3位有效数字， $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以下保留至小数点后2位。

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 $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 正确度

本方法在 $0.5 \sim 5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度范围内的回收率为70%~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)
标准物质选择离子质量色谱图

常山酮化合物标准物质选择离子质量色谱图参见图A.1。

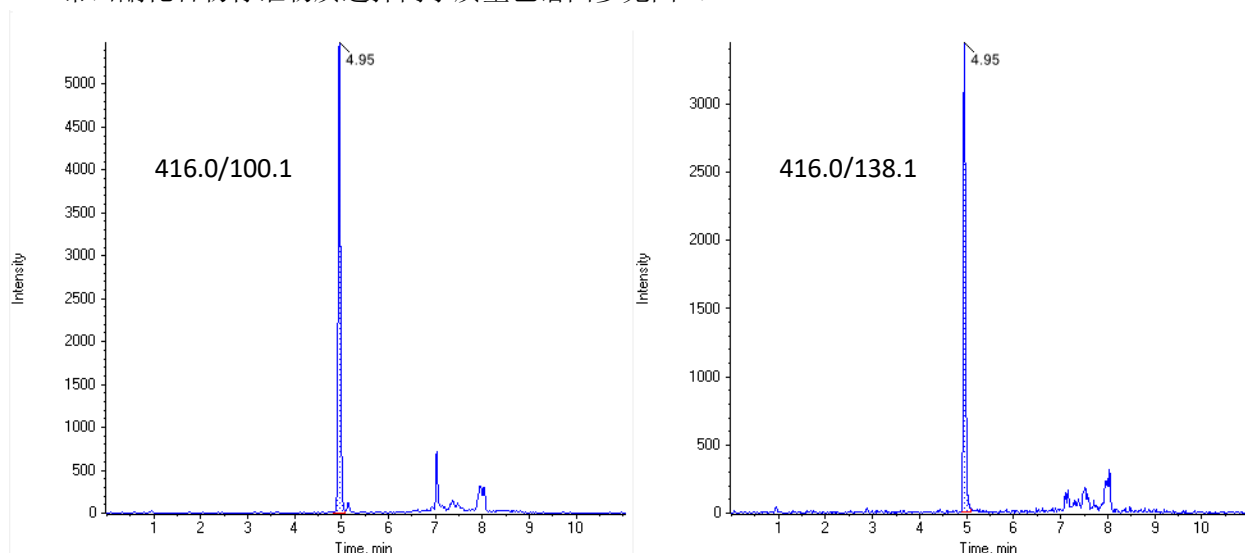


图 A.1 常山酮基质匹配标准溶液特征离子质量色谱图 (0.25 $\mu\text{g/L}$)