

中华人民共和国国家标准

GB ××××.×—××××

食品安全国家标准 动物性食品中吩噻嗪类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National Food Safety Standard-
Determination of Phenothiazines Residue in Animal Derived Food by
Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

(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》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件系首次发布。

征求意见稿

国家食品安全标准

动物性食品中吩噻嗪类药物残留量测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了动物性食品中吩噻嗪类药物残留检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于猪、牛、羊的肌肉、肝脏、肾脏、脂肪及牛奶等动物源食品中氯丙嗪、乙酰丙嗪、丙酰丙嗪、三氟丙嗪、三氟拉嗪、甲硫哒嗪、奋乃静、丙酰奋乃静、乙酰奋乃静等吩噻嗪类药物单个或混合物残留量的检测。

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。

GB31650 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量

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

试样中残留的吩噻嗪类药物用碱性乙腈提取，阳离子交换固相萃取柱净化，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

除特别注明者外，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 (CH₃OH)：色谱纯。

5.1.2 乙腈 (CH₃CN)：色谱纯。

5.1.3 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

5.1.4 氨水 (NH₄OH)。

5.2 溶液配制

5.2.1 5%氨水乙腈溶液：取氨水 5 mL，用乙腈稀释至 100 mL。

5.2.2 1%甲酸乙腈溶液：取甲酸 1 mL，用乙腈稀释至 100 mL。

5.2.3 5%氨化甲醇洗脱液：取氨水 5 mL，用甲醇稀释至 100 mL。

5.2.4 0.1%甲酸水溶液：取甲酸 1 mL，用水稀释至 1000 mL。

5.2.5 复溶液：取 0.1%甲酸水溶液 70 mL，用乙腈稀释并定容到 100 mL。

5.3 标准品

氯丙嗪、乙酰丙嗪、丙酰丙嗪、三氟丙嗪、三氟拉嗪、甲硫哒嗪、奋乃静、丙酰奋乃静、乙酰奋乃静，含量均 $\geq 98.0\%$ ，具体见附录 A。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准贮备溶液（ $100\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ）：准确称取氯丙嗪、乙酰丙嗪、丙酰丙嗪、三氟丙嗪、三氟拉嗪、甲硫哒嗪、奋乃静、丙酰奋乃静、乙酰奋乃静标准品适量（折算纯度相当于各成分 $10\ \text{mg}$ ），用甲醇溶解并定容于 $100\ \text{mL}$ 容量瓶中，配制成浓度为 $100\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的贮备液， -20°C 以下避光保存，有效期 6 个月。

5.4.2 标准混合中间液（ $1\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ）：准确移取 $100\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 吩噻嗪类药物标准贮备液 $100\ \mu\text{L}$ ，用甲醇稀释并定容于 $10\ \text{mL}$ 容量瓶中， -20°C 以下避光保存，有效期 6 个月。

5.5 材料

5.5.1 阳离子交换固相萃取柱： $60\ \text{mg}$ （ $3\ \text{mL}$ ），或相当者。

5.5.2 针式滤器： $0.22\ \mu\text{m}$ ，有机系。

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 $0.000\ 01\ \text{g}$ 和 $0.01\ \text{g}$ 。

6.3 匀浆机。

6.4 高速冷冻离心机：转速不低于 $8000\ \text{r}/\text{min}$ 。

6.5 氮吹仪。

6.6 旋涡混合器。

6.7 固相萃取装置。

7 试料的制备与保存

7.1 试料的制备

7.1.1 组织

取适量新鲜或解冻空白或供试组织，绞碎并均质。

——取绞碎并均质后的供试样品，作为供试试样；

——取绞碎并均质后的空白样品，作为空白试样；

——取绞碎并均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作溶液，作为空白添加试样。

7.1.2 牛奶

取适量新鲜或解冻的空白或供试牛奶，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

-20℃ 以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取 (2±0.05) g 试料置于 50 mL 具塞离心管中, 加入 5% 氨水乙腈 8 mL, 涡动 1 min, 涡旋振荡 5 min, 8000 r/min 离心 5 min。取上清液放入另一离心管中。向残渣中再加入乙腈 8 mL, 重复提取一次, 合并两次的上清液, 于 45℃ 下氮吹至近干。取 3 mL 1% 甲酸乙腈溶液溶解上述残留物, 涡动 30 s, 8000 r/min 离心 5 min, 上清液备用。

8.2 净化

用甲醇、水各 3 mL 活化 MCX 固相萃取小柱, 取备用上清液过柱, 依次用水、甲醇各 3 mL 淋洗小柱, 真空抽干 1 min, 用 3 mL 5% 氨化甲醇洗脱, 收集洗脱液, 45℃ 氮气吹至近干, 准确加入 1.0 mL 复溶液溶解, 过 0.22 μm 针式滤器, 待测。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

准确量取标准工作溶液适量, 用空白基质提取液逐级稀释成浓度为 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 ng/mL 的基质标准工作液, 供液相色谱-串联质谱仪测定。以药物定量离子峰面积为纵坐标, 基质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 色谱参考条件

- a) 色谱柱: C₁₈ 柱, 100 mm×2.1 mm (i.d.), 粒径 1.7 μm, 或相当者;
- b) 流动相: 0.1% 甲酸水溶液+乙腈, 梯度洗脱 (梯度洗脱程序见表 1);
- c) 流速: 0.3 mL/min;
- d) 柱温: 35℃;
- e) 进样量: 5 μL。

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间 (min)	0.1% 甲酸水溶液 (%)	乙腈 (%)
0	70	30
1.0	60	40
3.0	10	90
4.0	10	90
4.6	70	30
6.0	70	30

8.4.2 质谱参考条件

- 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°C；
- e) 雾化温度：500°C；
- f) 电离电压：0.5 kV；
- g) 锥孔气流速：50 L/h；
- h) 雾化气流速：800 L/h；
- i) 定性离子对、定量离子对、锥孔电压、碰撞能量见表2。

表 2. 9 种吩噻嗪类药物定性离子对、定量离子和锥孔电压、碰撞能量

药物名称	离子对(m/z)	锥孔电压(V)	碰撞能量(eV)
氯丙嗪	318.9>58.0 318.9>86.0*	30	28 18
乙酰丙嗪	327.1>58.0 327.1>86.0*	32	26 20
丙酰丙嗪	341.2>86.0* 341.2>58.0	34	18 26
三氟丙嗪	353.1>86.1* 353.1>58.0	26	20 24
三氟拉嗪	408.5>141.3 408.5>113.2*	40	22 28
甲硫哒嗪	371.2>126.2* 371.2>98.1	36	22 30
奋乃静	404.4>171.2* 404.4>143.1	40	22 28
丙酰奋乃静	426.4>143.1 426.4>171.1*	40	30 24
乙酰奋乃静	412.5>171.3 412.5>143.3*	44	24 30

* 为定量离子对

8.4.3 测定法

a) 定性测定

在同样测试条件下，试料溶液中吩噻嗪类药物的保留时间与基质匹配标准溶液中吩噻嗪类药物的保留时间之比，偏差在 0.1min 以内；且检测到的离子的相对丰度，应当与浓度相当的校正标准溶液相对丰度一致，其允许偏差为±40%。

b) 定量测定

以基质匹配标准溶液浓度为横坐标，药物特征离子质量色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，按外标法计算试样中药物的残留量。基质匹配标准溶液和试样溶液中待测物的响应值均应在仪器检测的定量测定线性范围之内，超过线性范围时应根据测定浓度进行适当倍数稀释后再进行分析。在上述色谱-质谱条件下，各药物标准溶液特征离子质量色谱图参见附录。

8.5 空白试验

取空白试料，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

试料中吩噻嗪类药物的残留量按式（1）计算：

$$X = \frac{AC_s V}{A_s m} \quad (1)$$

式中：

X ——试料中目标化合物的残留量， $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；

A ——试料中目标化合物定量离子的峰面积；

A_s ——基质标准溶液中目标化合物定量离子的峰面积；

C_s ——基质标准溶液中目标化合物的浓度， $\mu\text{g}/\text{L}$ ；

V ——试料定容体积， mL ；

m ——供试试料质量， g 。

注：计算结果以平行测定结果的算术平均值表示，含量不小于 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 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、准确度、精密度

10.1 灵敏度

本方法检出限为 $0.5\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $1.0\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法在 $1.0\sim 10\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率均为 $60\%\sim 120\%$ 。

10.3 精密度

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

附录A
(资料性)
药物中英文通用名称、化学分子式和CAS号

药物中英文通用名称、化学分子式和CAS号见表A.1。

表 A.1 9 种吩噻嗪类药物的中英文通用名称、化学分子式和CAS号

中文通用名称	英文通用名称	化学分子式	CAS 号
氯丙嗪	Chlopromazine	C ₁₇ H ₁₉ ClN ₂ S	50-53-3
乙酰丙嗪	Acepromazine	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ OS	61-00-7
丙酰丙嗪	Propionylpromazne	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ OS	7681-67-6
三氟丙嗪	Triflupromazine	C ₁₈ H ₁₉ F ₃ N ₂ S	146-54-3
三氟拉嗪	Trifluoperazine	C ₂₁ H ₂₄ F ₃ N ₃ S	117-89-5
甲硫哒嗪	Thioridazine	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ S ₂	50-52-2
奋乃静	Perphenazine	C ₂₁ H ₂₆ ClN ₃ OS	58-39-9
丙酰奋乃静	Carfenazine	C ₂₄ H ₃₁ N ₃ O ₂ S	2622-30-2
乙酰奋乃静	Acetophenazine	C ₂₃ H ₂₉ N ₃ O ₂ S	2751-68-0

附录 B
(资料性)
特征离子质量色谱图

吩噻嗪类药物标准溶液特征离子质量色谱图见图 B.1。

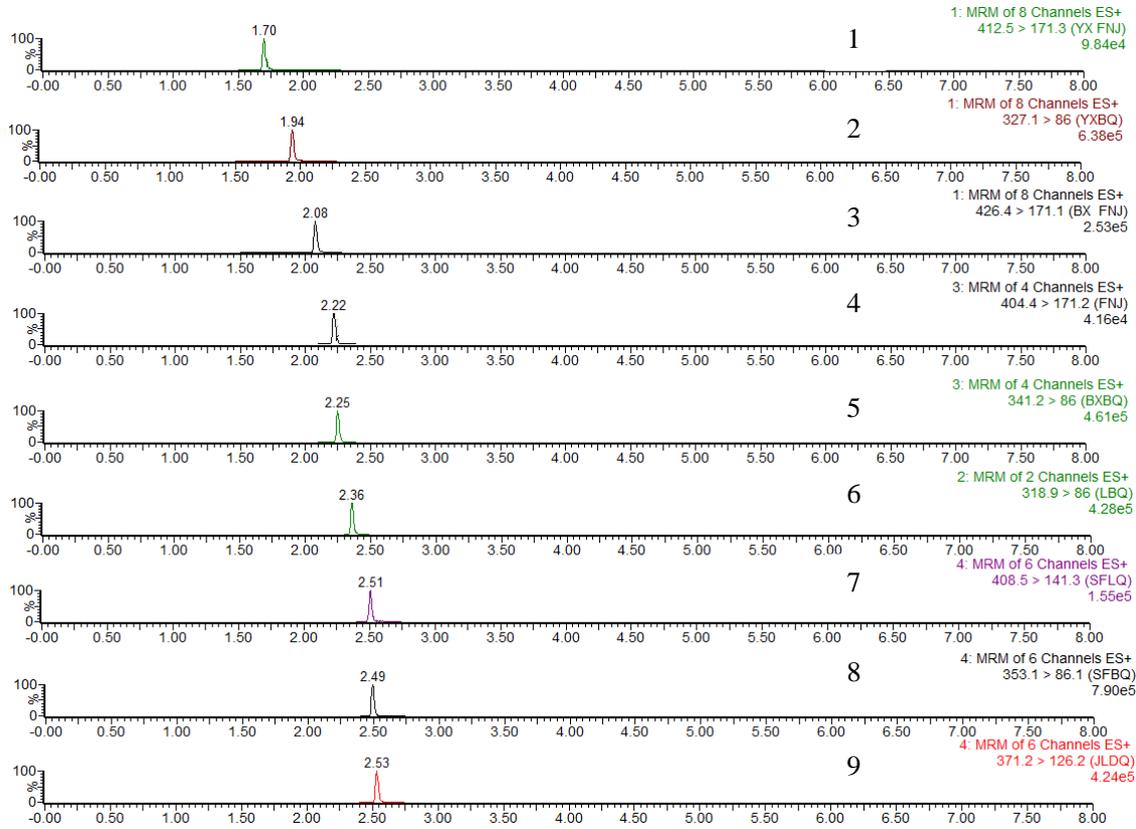


图 B 9 种吩噻嗪类药物标准溶液特征离子质量色谱图 (1.0 $\mu\text{g/L}$)
(1-乙酰奋乃静, 2-乙酰丙嗪, 3-丙酰奋乃静, 4-奋乃静, 5-丙酰丙嗪,
6-氯丙嗪, 7-三氟拉嗪, 8-三氟丙嗪, 9-甲硫哒嗪)