

中华人民共和国国家标准

GB xxxx.x—20xx

食品安全国家标准 动物性食品中异丙嗪残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National Food Safety Standard—
Determination of Promethazine Residue in Animal Derived Food by
Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometric Method

(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。

食品安全国家标准

动物性食品中异丙嗪残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了动物性食品中异丙嗪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、羊的可食性组织（肌肉、肝脏、肾脏、脂肪）中异丙嗪残留量的检测。

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

3 原理

试样中异丙嗪的残留用碱性乙腈提取，提取液经阳离子交换固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱测定，基质匹配标准溶液外标法定量。

4 试剂和材料

除特别注明者外，所有试剂均为分析纯；实验用水应符合 GB/T 6682 一级水的标准。

4.1 试剂

4.1.1 乙腈（CH₃CN，CAS 号：75-05-8）：色谱纯。

4.1.2 甲醇（CH₃OH，CAS 号：67-56-1）：色谱纯。

4.1.3 甲酸（CHOOH，CAS 号：64-18-6）：色谱纯。

4.1.4 氨水（NH₄OH，CAS 号：1336-21-6）：25%~28%。

4.2 溶液配制

4.2.1 0.1%甲酸水溶液：取甲酸 1 mL，用水稀释至 1000 mL。

4.2.2 1%甲酸乙腈溶液：取甲酸 1 mL，用乙腈稀释到 100 mL。

4.2.3 5%氨化甲醇洗脱液：取氨水 5 mL，用甲醇稀释到 100 mL。

4.2.4 复溶液：取 0.1%甲酸水溶液 80 mL，用乙腈稀释至 100 mL。

4.3 标准品

异丙嗪（Promethazine，C₁₇H₂₀N₂S，CAS 号：60-87-7）：含量≥98%。

4.4 标准溶液制备

4.4.1 标准贮备溶液（100 μg/mL）：准确称取异丙嗪标准品适量（折算纯度相当于成分 10 mg），用甲醇溶解并定容于 100 mL 容量瓶中，配制成浓度为 100 μg/mL 的储备液，-20℃以

下避光保存，有效期 6 个月。

4.4.2 标准工作液（100 ng/mL）：精密量取 100 $\mu\text{g/mL}$ 的异丙嗪标准中间液 100 μL ，用甲醇稀释并定容于 100 mL 容量瓶中，配制成浓度为 100 ng/mL 的标准工作液。-20℃以下避光保存，有效期 6 个月。

4.5 材料

4.5.1 混合阳离子交换固相萃取柱：60 mg（3 mL），或相当者。

4.5.2 针式滤器：0.22 μm ，有机系。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-三重四级杆串联质谱仪：带电喷雾离子源（ESI）。

5.2 分析天平 感量 0.000 01 g 和 0.01 g。

5.3 匀浆机。

5.4 高速冷冻离心机，转速不低于 10000 r/min。

5.5 氮吹仪。

5.6 旋涡混合器。

6 试样的制备与保存

6.1 试样制备

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溶液，作为空白添加试样。

6.2 试样保存

-20℃条件下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试料（ 5 ± 0.05 ）g 置于 50mL 具塞离心管中，加入乙腈 8 mL，氨水 0.4 mL，涡动混匀 30 s，涡旋振荡 5 min，8000 r/min 离心 5 min。取上清液倒入另一洁净离心管中。向残渣中再加入乙腈 8 mL，重复提取一次，合并两次的乙腈提取液，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，涡旋混合 30 s，上清液待净化。

7.2 净化

取 3 mL 上清液加入经 3 mL 甲醇、3 mL 水活化 MCX 固相萃取小柱，依次用水、甲醇各 3 mL 淋洗小柱，挤干，用 3 mL 5% 氨化甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，45℃下氮吹至近干，加 1.0 mL 复溶液，充分溶解，过 0.22 μm 针式滤器，待测。

7.3 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0.25 ng/mL、0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、50.0 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。

7.4 测定

7.4.1 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°C；
- 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 (%)
0.0	80	20
0.5	60	40
2.0	60	40
3.0	5	90
3.5	80	20
5.0	80	20

7.4.2 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；
- d) 离子源温度：150°C；
- e) 雾化温度：500°C；
- f) 电离电压：2800 V；
- 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 异丙嗪药物定性、定量离子对及质谱条件

化合物	定性离子对 (<i>m/z</i>)	定量离子对 (<i>m/z</i>)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
异丙嗪	285.2>86.1	285.2>86.1	20	14
	285.2>198.1			20

7.4.3 测定法

a) 定性测定

在同样测试条件下，试料溶液中待测物的保留时间与基质匹配标准溶液中异丙嗪的保留时间偏差在±0.1 min 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，药物定量离子峰面积为纵坐标，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，异丙嗪的基质匹配标准溶液特征离子质量色谱图参见附录。

7.5 空白试验

除不加试料外，按照7.1~7.4的测定步骤进行平行操作。

8 结果计算和表述

试料中异丙嗪的残留量按标准曲线或公式（1）计算：

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

式中：

X——供试组织中待测药物残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

A——试样溶液中待测药物的峰面积；

A_s ——基质标准工作液中待测药物的峰面积；

C_s ——基质标准工作液中待测药物的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）；

m——试样的质量，单位为克（g）；

V——试样提取液浓缩近干后残余物溶解的总体积，单位为毫升（mL）。

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。

9 检测方法灵敏度、准确度、精密度

9.1 灵敏度

本方法在猪、牛、羊的肌肉、肝脏、肾脏、脂肪组织中异丙嗪的检出限为 $0.25\mu\text{g}/\text{kg}$ ，

定量限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法在 0.5~5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度回收率为 60%~120%。

9.3 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
(资料性附录)
药物特征离子质谱色谱图

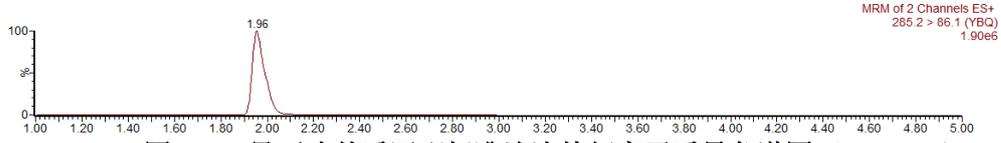


图 A.1 异丙嗪基质匹配标准溶液特征离子质量色谱图 (0.5 $\mu\text{g/L}$)