



中华人民共和国国家标准

GBXXXXX—XXXX

食品安全国家标准 动物性食品中苯乙醇胺A残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-

Determination of phenylethanolamine A residue in animal derived food by liquid
chromatography-tandem mass spectrometry

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

动物性食品中苯乙醇胺 A 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苯乙醇胺A残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。
本文件适用于猪、牛和羊的肌肉、肝脏、肾脏和脂肪中苯乙醇胺A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。

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

试样中残留的苯乙醇胺A用0.2 mol/L乙酸铵缓冲溶液和10%甲酸甲醇溶液提取，混合型阳离子交换固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱正离子模式测定，内标法定量。

5 试剂与材料

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 正己烷（ C_6H_{14} ）：色谱纯。
- 5.1.3 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。
- 5.1.4 冰乙酸（ CH_3COOH ）。
- 5.1.5 乙酸铵（ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ）。
- 5.1.6 氨水（ $\text{NH}_3\cdot\text{OH}$ ）：25%~28%。

5.2 溶液配制

- 5.2.1 0.2 mol/L 乙酸铵缓冲溶液：称取乙酸铵 15.4 g，加水约 900 mL 溶解，用冰乙酸调节 pH 至 5.2，加水稀释至 1000 mL，混匀。
- 5.2.2 10%甲酸甲醇溶液：量取甲酸 100 mL，用甲醇稀释至 1000 mL，混匀。
- 5.2.3 5%氨水甲醇溶液：量取 25 mL 氨水，用甲醇稀释至 500 mL，混匀。
- 5.2.4 0.1%甲酸溶液：量取 1 mL 甲酸，用水稀释至 1000 mL，混匀。
- 5.2.5 10%甲醇溶液：量取甲醇 10 mL，用水稀释至 100 mL，混匀。

5.3 标准品

- 5.3.1 苯乙醇胺 A（Phenylethanolamine A， $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$ ，CAS：1346746-81-3）：纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 5.3.2 苯乙醇胺 A-D₃（Phenylethanolamine A-D₃， $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{D}_3\text{N}_2\text{O}_4$ ）：纯度 $\geq 99.0\%$ 。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液：取苯乙醇胺 A 标准品约 10 mg，精密称定，转移入 100 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，配制成浓度为 100 mg/L 的苯乙醇胺 A 标准储备液。-18℃ 以下保存，有效期 12 个月。

5.4.2 内标储备液：取苯乙醇胺 A-D₃ 标准品约 10 mg，精密称定，转移入 100 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，配制成浓度为 100 mg/L 的苯乙醇胺 A-D₃ 内标储备液。-18℃ 以下保存，有效期 12 个月。

5.4.3 标准中间液：准确量取标准储备液适量，用甲醇稀释定容，配制成浓度为 1 mg/L 的苯乙醇胺 A 标准中间液。-18℃ 保存，有效期 1 个月。

5.4.4 内标中间液：准确量取内标储备液适量，用甲醇稀释定容，配制成浓度为 1 mg/L 的苯乙醇胺 A-D₃ 内标中间液。-18℃ 保存，有效期 1 个月。

5.4.5 标准工作液：准确量取标准中间液适量，用甲醇稀释定容，配制成浓度为 100 μg/L 的苯乙醇胺 A 标准工作液。-18℃ 保存，有效期 14 天。

5.4.6 内标工作液：准确量取内标中间液适量，用甲醇稀释定容，配制成浓度为 100 μg/L 的苯乙醇胺 A-D₃ 内标工作液。-18℃ 保存，有效期 14 天。

5.5 材料

5.5.1 混合型阳离子交换固相萃取柱：60 mg/3 mL，或性能相当者。

5.5.2 微孔滤膜：0.22 μm 有机系滤膜。

6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源（ESI）。

6.2 天平：感量 0.01 g。

6.3 分析天平：感量 0.00001 g。

6.4 酸度计。

6.5 均质器。

6.6 超声波清洗器。

6.7 离心机：温度≤4℃，转速≥8 000 r/min。

6.8 氮吹仪。

6.9 超声波清洗仪。

6.10 固相萃取装置。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织，绞碎，并使均质。

a) 取均质后的供试样品，作为供试试样；

b) 取均质后的空白样品，作为空白试样；

c) 取均质后的空白样品，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℃ 以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试样(2±0.05) g于50 mL离心管中,加苯乙醇胺A-D₃工作液100 μL,加0.2 mol/L乙酸铵缓冲溶液5.0 mL,再加10%甲酸甲醇提取液5.0 mL,涡旋混匀1 min,超声提取20 min,8000 r/min、4℃下离心10 min,取上清液至另一个50 mL离心管中。残渣重复提取1次,合并两次上清液,8000 r/min、4℃下离心5 min,取上清液,加入10 mL正己烷,涡旋30 s,5000 r/min离心5 min,弃去正己烷层,下层提取液备用。

8.2 净化

固相萃取柱用甲醇、水各3 mL活化,取备用液过柱,再依次用水、甲醇各3 mL淋洗,抽干。用5%氨水甲醇溶液3 mL洗脱,收集洗脱液,50℃下氮气吹干。残余物中加入10%甲醇溶液1.0 mL溶解,涡旋混匀,过0.22 μm滤膜后供上机测定。

8.3 标准曲线的制备

准确量取苯乙醇胺A工作液和苯乙醇胺A-D₃工作液适量,用10%甲醇水溶液配制成苯乙醇胺A浓度为0.1、0.25、0.5、1、5、10、40 μg/L,苯乙醇胺A-D₃浓度均为10 μg/L的系列标准工作溶液,涡旋混匀,供液相色谱-串联质谱测定。以苯乙醇胺A与内标特征离子质量色谱峰面积比为纵坐标,对应的标准曲线溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱: C₁₈柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)或性能相当者;
- 流动相: A: 0.1% 甲酸水溶液, B: 甲醇, 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 流动相梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	90	10
4.0	20	80
5.0	20	80
6.0	90	10
7.0	90	10

8.4.2 质谱参考条件

- 离子源: 电喷雾离子源;
- 扫描方式: 正离子扫描;
- 检测方式: 多反应离子监测(MRM);
- 离子源温度: 300℃; 脱溶剂气温度: 350℃;
- 毛细管电压: 1.95 kV;
- 锥孔气流量: 30 L/h; 脱溶剂气流量: 600 L/h;
- 定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞能的参考值见表2;

表2 化合物的母离子及定量定性离子、碰撞能量

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
苯乙醇胺 A	345.2>327.2	345.2>150.1	14	16
	345.2>150.1			24
苯乙醇胺 A-D ₃	348.2>153.1	348.2>153.1	14	24

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在同样的测试条件下，试样溶液的保留时间与标准溶液保留时间的偏差应在±2.5%之内；试样溶液中的离子相对丰度与标准溶液中的离子相对丰度相比，符合表3的要求。

8.4.3.2 定量测定

按8.4.1和8.4.2设定仪器条件，取试样溶液和标准溶液，作单点或多点校准，按内标法以峰面积比计算。标准溶液及试样溶液中目标物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱-质谱条件下，苯乙醇胺A标准溶液特征离子质量色谱图见附录A。

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

试样中苯乙醇胺A的残留量按标准曲线或公式（1）计算：

$$X = \frac{C_s \times C_{is} \times A_i \times A'_{is} \times V}{C'_{is} \times A_s \times A_{is} \times m} \dots (1)$$

式中：

X—供试试样中苯乙醇胺A的残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；

C_s —标准溶液中苯乙醇胺A的浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

C_{is} —试样溶液中苯乙醇胺A-D₃的浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

C'_{is} —标准溶液中苯乙醇胺A-D₃的浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

A_i —试样溶液中苯乙醇胺A的峰面积；

A_{is} —试样溶液中苯乙醇胺A-D₃的峰面积；

A_s —标准溶液中苯乙醇胺A的峰面积；

A'_{is} —标准溶液中苯乙醇胺A-D₃的峰面积；

V—溶解残余物的10%甲醇溶液体积，单位为毫升（mL）；

m—供试试样的质量，单位为克（g）。

注：计算结果不小于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 方法灵敏度、正确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法的检测限为 $0.1\ \mu\text{g/kg}$ ，定量限为 $0.25\ \mu\text{g/kg}$ 。

10.2 正确度

本方法在 $0.25\ \mu\text{g/kg}$ ~ $10\ \mu\text{g/kg}$ 添加浓度水平上的回收率为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)
特征离子质量色谱图

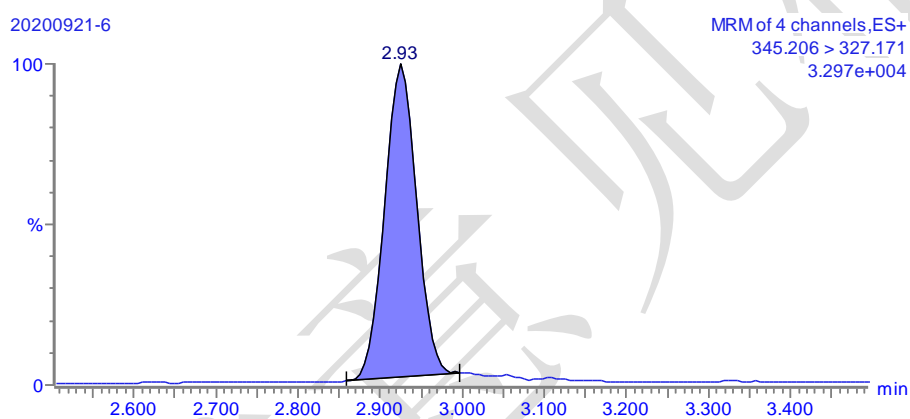
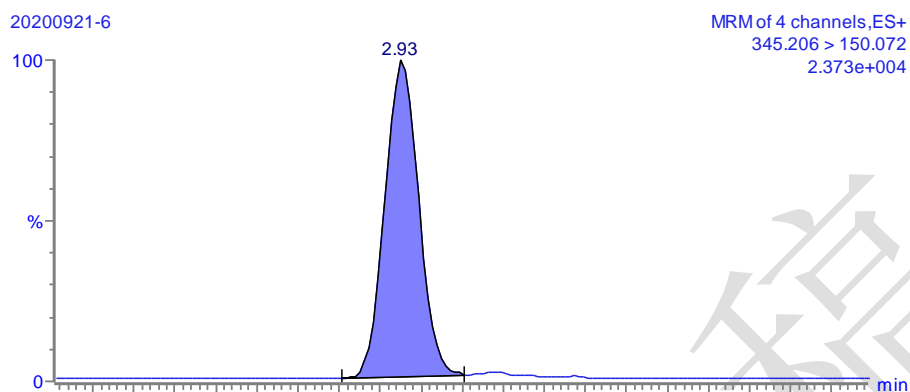
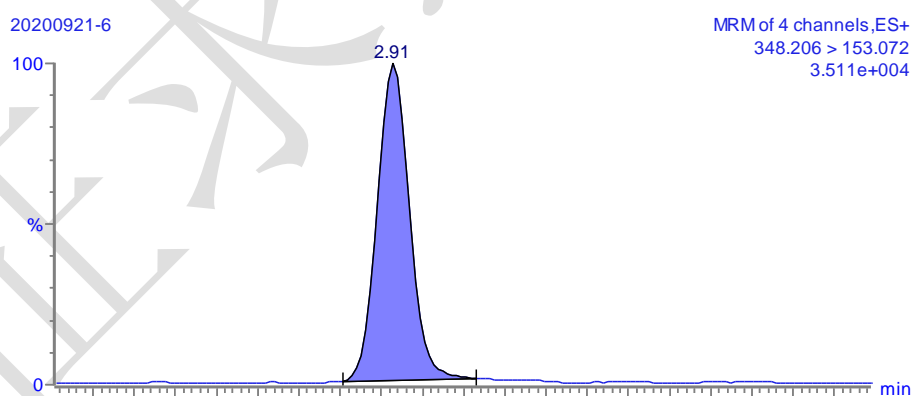


图 A.1 苯乙醇胺 A 标准溶液特征离子质量色谱图 (0.25 µg/L)



图A.2 苯乙醇胺A-D₃标准溶液特征离子质量色谱图 (0.25 µg/L)