



中华人民共和国国家标准

GB/T 22286—2008

动物源性食品中多种 β -受体激动剂 残留量的测定 液相色谱串联质谱法

Determination of β -agonists residues in foodstuff of animal origin—
Liquid chromatography with tandem-mass spectrometric method

2008-08-12 发布

2008-12-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国上海出入境检验检疫局、上海市疾病预防控制中心、上海水产大学、中华人民共和国浦江出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：郭德华、汪国权、金玉娥、李波、王锡昌、钟一亮、邓晓军、靳海彤、杨景贤。

动物源性食品中多种 β -受体激动剂 残留量的测定 液相色谱串联质谱法

1 范围

本标准规定了动物源性食品中沙丁胺醇(salbutamol)、特布他林(terbutaline)、塞曼特罗(cimaterol)、塞布特罗(cimbuterol)、莱克多巴胺(ractompamine)、克仑特罗(clenbuterol)、溴布特罗(brombuterol)、苯氧丙酚胺(isoxsuprine)、马布特罗(mabuterol)、马贲特罗(mapenterol)、溴代克仑特罗(bromchlorbuterol)残留量的液相色谱-串联质谱的测定方法。

本标准适用于猪肝和猪肉中沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗、溴代克仑特罗残留量的检验。

本方法中沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗、溴代克仑特罗的检出限均为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008, ISO 3696:1987, MOD)

3 原理

试样中的残留物经酶解,用高氯酸调节 pH 值,沉淀蛋白后离心,上清液用异丙醇-乙酸乙酯提取,再用阳离子交换柱净化,液相色谱-串联质谱法测定,内标法定量。

4 试剂和材料

除另有规定外,所有试剂均为分析纯,试验用水应符合 GB/T 6682 一级水的标准。

- 4.1 甲醇:液相色谱纯。
- 4.2 乙酸钠($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)。
- 4.3 0.2 mol/L 乙酸钠缓冲液:称取 13.6 g 乙酸钠,溶解于 500 mL 水中,用适量乙酸调节 pH 至 5.2 。
- 4.4 高氯酸: $70\% \sim 72\%$ 。
- 4.5 0.1 mol/L 高氯酸:移取 8.7 mL 高氯酸,用水稀释至 1000 mL 。
- 4.6 氢氧化钠。
- 4.7 10 mol/L 氢氧化钠溶液:称取 40 g 氢氧化钠,用适量水溶解冷却后,用水稀释至 100 mL 。
- 4.8 饱和氯化钠溶液。
- 4.9 异丙醇-乙酸乙酯:($6+4$, 体积比)。
- 4.10 甲酸水溶液: 2% 。
- 4.11 氨水甲醇溶液: 5% 。
- 4.12 0.1% 甲酸水溶液-甲醇溶液:($95+5$, 体积比)。
- 4.13 β -葡萄糖醛甙酶/芳基硫酸酯酶(β -Glucuronidase/aryl sulfatase): $10000 \text{ units}/\text{mg}$ 。
- 4.14 Oasis MCX 阳离子交换柱: $60 \text{ mg}/3 \text{ mL}$,使用前依次用 3 mL 甲醇和 3 mL 水活化。

注:Oasis MCX 阳离子交换柱是由 Waters 公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他产品能有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

4.15 沙丁胺醇(CAS:18559-94-9)、特布他林半硫酸盐(CAS:23031-32-5)、塞曼特罗(CAS:54239-37-1)、塞布特罗(CAS:54239-37-1)、莱克多巴胺盐酸盐(CAS:90274-24-1)、克仑特罗盐酸盐(CAS:37148-27-9)、溴布特罗(CAS:41937-02-4)、苯氧丙酚胺盐酸盐(CAS:579-56-6)、马布特罗(CAS:54240-36-7)、马贲特罗(CAS:95656-68-1)、溴代克仑特罗(CAS:37153-52-9)标准品:纯度大于98%。

4.16 标准储备溶液:准确称取适量的沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗、溴代克仑特罗标准品,用甲醇分别配制成100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准贮备液,保存于 -18°C 冰箱内,可使用1年。

4.17 混合标准储备溶液(1 $\mu\text{g/mL}$):分别准确吸取1.00 mL沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗、溴代克仑特罗至100 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度, -18°C 避光保存。

4.18 同位素内标物:克仑特罗-D9,沙丁胺醇-D3,纯度大于98%。

4.19 同位素内标储备溶液:准确称取适量的克仑特罗-D9、沙丁胺醇-D3,用甲醇配制成100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准贮备液,保存于 -18°C 冰箱内,可使用1年。

4.20 同位素内标工作溶液(10 ng/mL):将上述同位素内标储备溶液用甲醇进行适当稀释。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱-串联质谱联用仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

5.2 均质器。

5.3 旋涡混合器。

5.4 离心机:5 000 r/min 和 15 000 r/min。

5.5 氮吹仪。

5.6 水平振荡器。

5.7 真空过柱装置。

5.8 pH计。

5.9 超声波发生器。

6 样品制备

6.1 提取

称取2 g(精确到0.01 g)经捣碎的样品于50 mL离心管中,加入8 mL乙酸钠缓冲液,充分混匀,再加50 μL β -葡萄糖醛糖甙酶/芳基硫酸酯酶,混匀后, 37°C 水浴水解12 h。

添加100 μL 10 ng/mL的内标工作液于待测样品中。加盖置于水平振荡器振荡15 min,离心10 min(5 000 r/min),取4 mL上清液加入0.1 mol/L高氯酸溶液5 mL,混合均匀,用高氯酸调节pH值到 1 ± 0.3 。5 000 r/min离心10 min后,将全部上清液(约10 mL)转移到50 mL离心管中,用10 mol/L的氢氧化钠溶液调节pH值到11。加入10 mL饱和氯化钠溶液和10 mL异丙醇-乙酸乙酯(6+4)混合溶液,充分提取,在5 000 r/min下离心10 min。

转移全部有机相,在 40°C 水浴下用氮气将其吹干。加入5 mL乙酸钠缓冲液,超声混匀,使残渣充分溶解后备用。

6.2 净化

将阳离子交换小柱连接到真空过柱装置。将上述残渣溶液上柱,依次用2 mL水、2 mL 2%甲酸水溶液和2 mL甲醇洗涤柱子并彻底抽干,最后用2 mL的5%氨水甲醇溶液洗脱柱子上的待测成分。流速控制在0.5 mL/min。洗脱液在 40°C 水浴下氮气吹干。

准确加入200 μL 0.1%甲酸/水-甲醇溶液(95+5),超声混匀。将溶液转移到1.5 mL离心管中,15 000 r/min离心10 min。

上清液供液相色谱串联质谱测定。

7 液相串联质谱测定

7.1 液相色谱-串联质谱条件

- a) 色谱柱: Waters ATLANTICS C₁₈柱, 150 mm×2.1 mm(内径), 粒度 5 μm;
b) 流动相: A:0.1%甲酸/水, B:0.1%甲酸/乙腈, 梯度淋洗见表 1;

表 1 梯度淋洗表

时间/min	A/%	B/%
0	96	4
2	96	4
8	20	80
21	77	23
22	5	95
25	5	95
25.5	96	4

- c) 流速: 0.2 mL/min;
d) 柱温: 30℃;
e) 进样量: 20 μL;
f) 离子源: 电喷雾(ESI), 正离子模式;
g) 扫描方式: 多反应监测(MRM);
h) 脱溶剂气、锥孔气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适的高纯气体; 使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求;
i) 毛细管电压、锥孔电压、碰撞能量等电压值应优化至最优灵敏度;
j) 监测离子: 监测离子见表 2。

表 2 被测物的母离子和离子参数表

被测物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	定量子离子(m/z)	被测物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	定量子离子(m/z)
沙丁胺醇	240	148, 222	148	特布他林	226	152, 125	152
塞曼特罗	202	160, 143	160	塞布特罗	234	160, 143	160
莱克多巴胺	302	164, 284	164	克仑特罗	277	203, 259	203
溴代克仑特罗	323	249, 168	249	溴布特罗	367	293, 349	293
苯氧丙酚胺	302	150, 284	150	马布特罗	311	237, 293	237
马贲特罗	325	237, 217	237	克仑特罗-D9	286	204	204
沙丁胺醇-D3	243	151	151				

注: 方法中所列色谱柱仅供参考, 给出这一信息是为了方便本标准的使用者, 并不表示对该产品的认可。如果其他产品能有相同的效果, 则可使用这些等效的产品。

7.2 液相色谱-串联质谱测定

按照 6.1 液相色谱-串联质谱条件测定样品和混合标准工作溶液, 以色谱峰面积按内标法定量。在上述色谱条件下沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴代克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗和同位素内标沙丁胺醇-D3、克仑特罗-D9 的参考保留时间分别

为 6.16 min、6.24 min、7.01 min、11.07 min、14.65 min、15.66 min、16.52 min、17.47 min、18.72 min、18.77 min、23.11 min、6.10 min 和 15.60 min,标准溶液的液相色谱串联质谱图参见附录 A 中图 A.1。

7.3 液相色谱-串联质谱确证

按照 7.1 液相色谱-串联质谱条件测定样品和标准工作溶液,如果检出的质量色谱峰保留时间与标准样品一致,并且在扣除背景后的样品谱图中,各定性离子的相对丰度与浓度接近的同样条件下得到的标准溶液谱图相比,误差不超过表 3 规定的范围,则可判定样品中存在对应的被测物。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许误差

相对离子丰度	>50%	>20%~50%	>10%~20%	≤10%
允许的相对误差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.4 空白试验

除不加试样外,均按上述测定步骤进行。

8 计算

8.1 按式(1)计算样品中沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗或溴代克仑特罗残留量。计算结果需扣除空白值。

沙丁胺醇-D3 作为沙丁胺醇、特布他林和莱克多巴胺的内标物质,克仑特罗-D9 作为其余 β-受体激动剂的内标物质。

$$X = \frac{c \times c_i \times A \times A_{si} \times V}{c_{si} \times A_i \times A_s \times m} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——样品中被测物残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

c ——沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗或溴代克仑特罗标准工作溶液的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

c_{si} ——标准工作溶液中内标物的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

c_i ——样液中内标物的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

A_s ——沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗或溴代克仑特罗标准工作溶液的峰面积;

A ——样液中沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗或溴代克仑特罗的峰面积;

A_{si} ——标准工作溶液中内标物的峰面积;

A_i ——样液中内标物的峰面积;

V ——样品定容体积,单位为毫升(mL);

m ——样品称样量,单位为克(g)。

8.2 计算结果小于本标准检出限 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时,视为未检出。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 30%。

附录 A

(资料性附录)

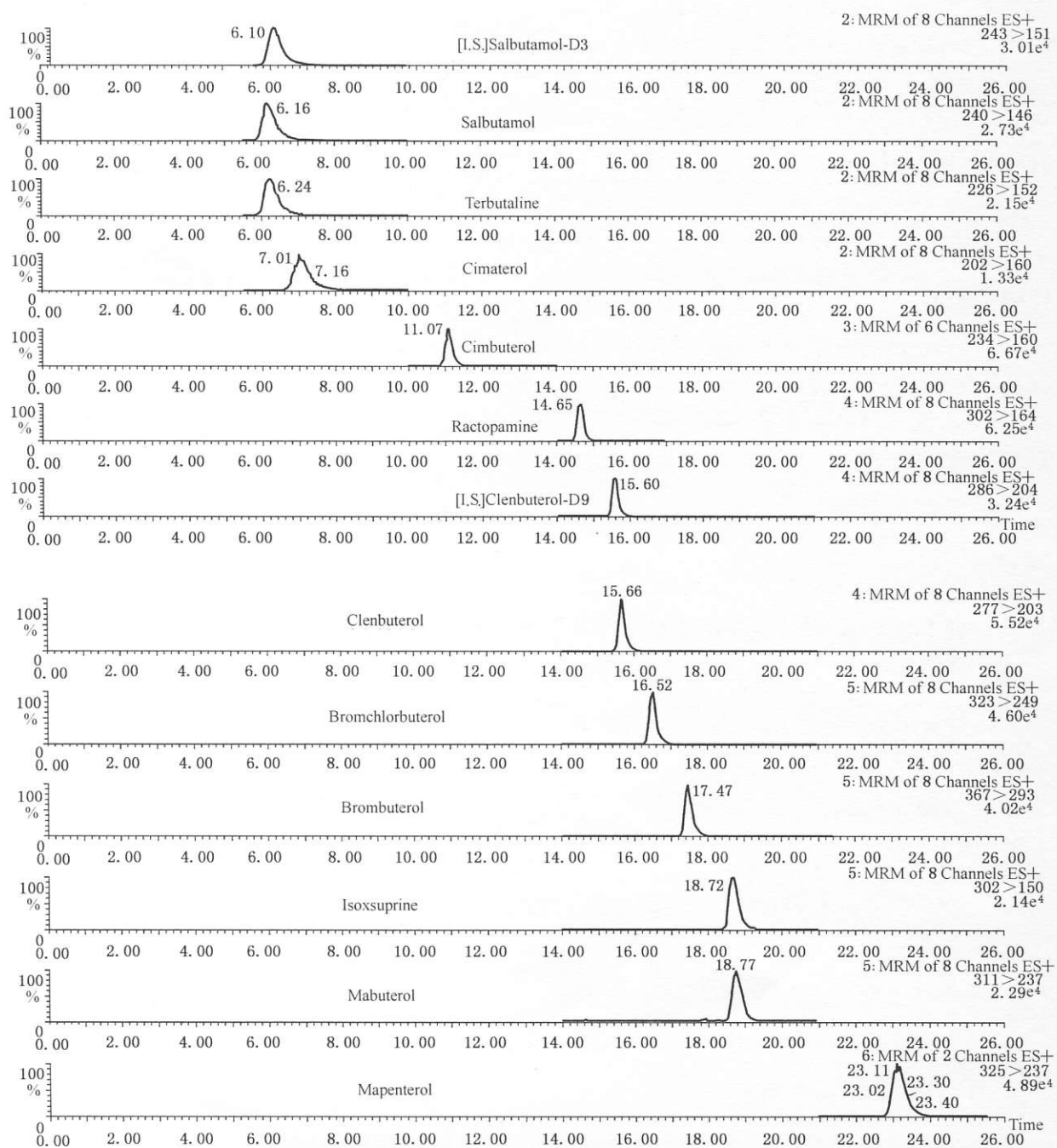
11 种 β -受体激动剂标准物质的多反应监测(MRM)色谱图

图 A.1 沙丁胺醇、特布他林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗和溴代克仑特罗标准物质的多反应监测(MRM)色谱图

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准

动物源性食品中多种 β -受体激动剂
残留量的测定 液相色谱串联质谱法

GB/T 22286—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 11 千字
2008 年 10 月第一版 2008 年 10 月第一次印刷

*

书号: 155066 · 1-34129 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 22286-2008