



中华人民共和国国家标准

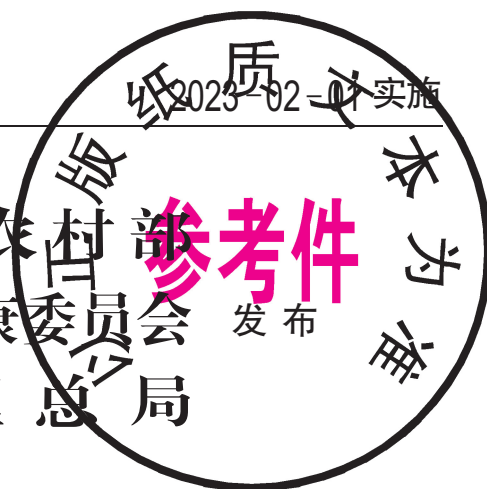
GB 31659.6—2022

食品安全国家标准 牛奶中氯前列醇残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of cloprostenol residues in milk—Liquid chromatography—
tandem mass spectrometric method

2022-09-20 发布

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



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。

本文件系首次发布。



食品安全国家标准

牛奶中氯前列醇残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了牛奶中氯前列醇残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于牛奶中氯前列醇残留量的检测。

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

试样中残留的氯前列醇,用乙腈提取,混合阴离子交换固相萃取柱净化,液相色谱-串联质谱负离子模式测定,外标法定量。

5 试剂和材料

以下所用的试剂,除特别注明外均为分析纯试剂;水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

5.1.2 氨水($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)。

5.1.3 甲酸(CH_2O_2)。

5.1.4 无水硫酸钠(Na_2SO_4)。

5.1.5 乙酸铵($\text{CH}_3\text{COONH}_4$):色谱纯。

5.2 标准品

5.2.1 氯前列醇(Cloprostenol, $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{ClO}_6$, CAS号:40665-92-7),含量 $\geq 98\%$ 。

5.3 溶液配制

5.3.1 0.1%甲酸溶液:取甲酸 1 mL,用水稀释至 1 000 mL,混匀。

5.3.2 5%氨水溶液:取氨水 50 mL,用水稀释至 1 000 mL,混匀。

5.3.3 2%甲酸乙腈溶液:取甲酸 20 mL,用乙腈稀释至 1 000 mL,混匀。

5.3.4 0.1 mol/L 乙酸铵溶液:称取乙酸铵 7.70 g,用水溶解并稀释至 1 000 mL,混匀。

5.3.5 5 mmol/L 乙酸铵溶液:取 0.1 mol/L 乙酸铵溶液 50 mL,用水稀释至 1 000 mL,混匀。

5.3.6 乙腈乙酸铵溶液:取乙腈 30 mL,加 5 mmol/L 乙酸铵溶液至 100 mL,混匀。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液:取氯前列醇钠对照品约 10 mg,精密称定,加乙腈适量使溶解并稀释定容至 10 mL 容量瓶,配制浓度为 1 mg/mL 的氯前列醇标准储备液。-18℃ 以下保存,有效期 3 个月。

5.4.2 标准中间液:准确量取标准储备液 0.1 mL,于 10 mL 容量瓶,用乙腈稀释至刻度,配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准中间液。2 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 1 个月。

5.4.3 系列标准工作液:准确量取标准中间液适量,用乙酸铵乙腈稀释配制成浓度为 5 ng/mL 、10 ng/mL 、20 ng/mL 、50 ng/mL 、100 ng/mL 、500 ng/mL 的系列标准工作溶液。现用现配。

5.5 材料

5.5.1 混合阴离子交换固相萃取柱:60 $\text{mg}/3 \text{ mL}$ 或其性能相当者。

5.5.2 滤膜:0.22 μm ,有机相。

5.5.3 离心管:10 mL,50 mL。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

6.2 分析天平:感量 0.01 g 和 0.000 01 g。

6.3 涡旋混合器。

6.4 超声仪。

6.5 冷冻离心机。

6.6 氮吹仪。

6.7 固相萃取装置。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试试样,并均质。

a) 取均质的供试样品,作为供试试样;

b) 取均质的空白样品,作为空白试样;

c) 取均质的空白样品,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 $^{\circ}\text{C}$ 以下储存。

8 测定步骤

8.1 提取

取试料 2 g(准确至 $\pm 0.05 \text{ g}$)于 50 mL 离心管中,加乙腈 5 mL,无水硫酸钠 2 g,涡旋混匀,超声提取 10 min,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液于 10 mL 离心管中,重复提取 1 次,合并 2 次上清液。40 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干,残余物用 1 mL 乙腈溶解,加 0.1%甲酸水溶液 3 mL,涡旋混匀,备用。

8.2 净化

取混合阴离子交换固相萃取柱,用乙腈 3 mL 活化,水 3 mL 平衡。取备用液过柱,用 5%氨水溶液 3 mL 淋洗,抽干。用 2%甲酸乙腈溶液 3 mL 洗脱,收集洗脱液,40 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干,残余物用 1 mL 乙腈乙酸铵溶液溶解,用微孔滤膜过滤,供液相色谱-串联质谱测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

准确量取氯前列醇的标准工作液各 1 mL,分别溶解经提取、净化及吹干后的空白试料残余物,滤膜过滤,配制成氯前列醇浓度为 5 ng/mL 、10 ng/mL 、20 ng/mL 、50 ng/mL 、100 ng/mL 、500 ng/mL 的系列基质匹配标准溶液,供液相色谱-串联质谱测定,以特征离子质量色谱峰面积为纵坐标、对应的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 色谱条件参考条件

- a) 色谱柱: C₁₈ 柱长 150 mm, 内径 2.1 mm, 粒径 5 μm, 或性能相当者;
- b) 流动相: A 为 5 mmol/L 乙酸铵溶液; B 为乙腈;
- c) 流速: 0.3 mL/min;
- d) 进样量: 5 μL;
- e) 柱温: 30 °C;
- f) 流动相梯度及洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间, min	A, %	B, %
0.00	90	10
0.50	90	10
3.00	10	90
6.00	10	90
6.01	90	10
11.00	90	10

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源: 电喷雾离子源, 负离子模式;
- b) 检测方式: 多反应监测(MRM);
- c) 鞘气压力(GS1): 344.75 kPa(50 psi);
- d) 辅助气压力(GS2): 344.75 kPa(50 psi);
- e) 碰撞气压力(collision gas): 34.475 kPa(5 psi);
- f) 卷帘气压力(curtain gas): 206.85 kPa(30 psi);
- g) 负离子模式电喷雾电压(IS): -4 500 V;
- h) 雾化温度: 500 °C;
- i) 鞘气、辅助气、碰撞气均为高纯氮气。喷雾电压、碰撞能等参数应优化至最优灵敏度;
- j) 监测离子参数情况见表 2。

表 2 氯前列醇特征离子参考质谱条件

化合物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	锥孔电压 V	碰撞能 eV
氯前列醇	423.1>126.8	423.1>126.8	-120	-40
	423.1>189.3			-34

8.4.3 测定法

取试料溶液和基质匹配标准溶液, 按 8.4.1 和 8.4.2 设定仪器条件操作, 作单点或多点校准, 外标法计算。基质匹配标准溶液及试料溶液中目标药物的特征离子质量色谱峰峰面积均应在仪器检测的线性范围之内。试料溶液中待测物质的保留时间与基质匹配标准工作液中待测物质的保留时间之比, 偏差在 ±2.5% 以内, 且试料溶液中的离子相对丰度与基质匹配标准溶液中的离子相对丰度相比, 符合表 3 的要求, 则可判定为样品中存在对应的待测物质。相关谱图见附录 A。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为百分号

相对离子丰度	允许的相对偏差
>50	±20
>20~50	±25

表 3 (续)

相对离子丰度	允许的相对偏差
>10~20	±30
≤10	±50

8.5 空白试验

取空白试料,除不加药物外,采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算与表述

试样中氯前列醇的残留量按标准曲线或公式(1)计算。

$$X = \frac{A \times C_s \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X —— 试样中氯前列醇残留量的数值,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{kg}$);

A —— 试样溶液中氯前列醇的峰面积;

A_s —— 基质匹配标准溶液中氯前列醇的峰面积;

C_s —— 基质匹配标准溶液中氯前列醇浓度的数值,单位为纳克每毫升($\mu\text{g}/\text{L}$);

V —— 试样溶液最终定容体积的数值,单位为毫升(mL);

m —— 供试试样质量的数值,单位为克(g)。

10 检测方法的灵敏度、准确度、精密度

10.1 灵敏度

本方法检测限为 $1.5 \mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法在 $5 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度的水平上其回收率为 $80\% \sim 120\%$ 。

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 $\leq 15\%$ 。

附录 A

(资料性)

氯前列醇标准溶液特征离子质量色谱图

氯前列醇标准溶液特征离子质量色谱图见图 A.1。

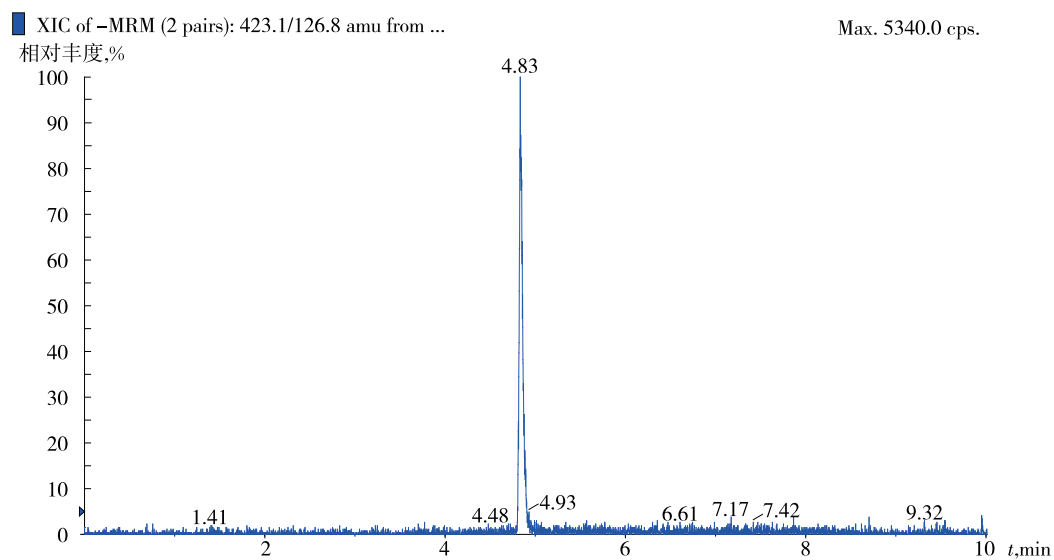


图 A.1 氯前列醇标准溶液特征离子质量色谱图(10 ng/mL)