

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5437—2022

出口动物源食品中苯海拉明残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of diphenhydramine residue in foodstuffs of animal
origin for export—LC-MS/MS method

2022-03-14 发布

2022-10-01 实施

中华人民共和国海关总署 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专利的责任。

本文件由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本文件起草单位：中华人民共和国合肥海关技术中心、中华人民共和国青岛海关、中华人民共和国天津海关。

本文件主要起草人：吕亚宁、韩芳、郑平、王萍、张利刚、宋伟、丁磊、周典兵、盛旋。

以正式出版文本为准

出口动物源食品中苯海拉明残留量的测定

液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本文件规定了出口动物源食品中苯海拉明残留量的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本文件适用于猪肉、牛肉、羊肉、猪肝、猪肾、猪肠和牛奶等动物源性食品中苯海拉明残留量的定量测定和确证。

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 方法提要

试样中的苯海拉明用三氯乙酸-乙腈溶液提取，提取液经强阳离子交换固相萃取柱净化，液相色谱-质谱/质谱仪测定，内标法定量。

5 试剂和材料

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 乙腈：色谱纯。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 甲酸：色谱纯。

5.4 正己烷：色谱纯。

5.5 三氯乙酸。

5.6 氨水：含量为 25%~28%。

5.7 苯海拉明标准物质： $C_{17}H_{22}ClNO$ ，CAS 号. 147-24-0，纯度大于等于 99%。

5.8 氘代苯海拉明标准溶液： $C_{17}H_{18}D_3NO$ ，CAS 号. 170082-18-5，100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

5.9 1%三氯乙酸溶液：称取 10 g 三氯乙酸(4.5)，用水溶解，定容至 1 000 mL，混匀。

5.10 1%三氯乙酸-乙腈溶液(3+7，体积比)：量取 300 mL 1%三氯乙酸溶液(4.9)和 700 mL 乙腈(5.1)，混匀，现用现配。

5.11 20%氨水甲醇溶液：量取 20 mL 氨水(5.6)和 80 mL 甲醇(5.2)，混匀。

- 5.12 0.1%甲酸溶液:量取1.0 mL甲酸(5.3),用水定容至1 000 mL,混匀。
- 5.13 0.1%甲酸-乙腈溶液(95+5,体积比):量取5 mL乙腈(5.1),用0.1%甲酸溶液(5.12)定容至100 mL。
- 5.14 苯海拉明标准储备液:准确称取适量盐酸苯海拉明标准品(5.7),用少量水溶解后,再用乙腈(5.1)定容,配制成浓度为100 mg/L的标准储备液,于0℃~4℃冷藏避光保存,有效期6个月。
- 5.15 苯海拉明标准中间液:准确吸取苯海拉明标准储备液(5.14)1 mL于100 mL容量瓶中,用乙腈(5.1)定容至刻度,配制成浓度为1 mg/L的标准中间液,于0℃~4℃冷藏避光保存,保存期3个月。
- 5.16 苯海拉明-D₃内标工作液:准确吸取苯海拉明-D₃标准溶液(5.8)0.5 mL于100 mL容量瓶中,用乙腈(4.1)定容至刻度,配制成浓度为500 μg/L的内标工作液,于0℃~4℃冷藏避光保存,保存期3个月。
- 5.17 标准工作溶液:准确吸取一定量苯海拉明标准中间液(5.15)和苯海拉明-D₃内标工作液(5.16),用0.1%甲酸溶液-乙腈溶液(5.13)配制成浓度分别为1 μg/L、2 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L的系列标准工作液(苯海拉明-D₃的内标浓度为10 μg/L),于0℃~4℃冷藏避光保存,保存期1个月。
- 5.18 CNWBOND SCX固相萃取柱:苯磺酸型强阳离子交换柱,500 mg,6 mL,或相当者。使用前依次用5 mL甲醇、5 mL水和5 mL1%三氯乙酸溶液-乙腈溶液(5.10)活化,保持柱体湿润。
- 5.19 微孔滤膜:通用型,0.22 μm。

6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱-质谱/质谱仪,带电喷雾离子源(ESI)。
- 6.2 分析天平:感量分别为0.000 1 g和0.01 g。
- 6.3 组织捣碎机。
- 6.4 均质器:转速不低于10 000 r/min。
- 6.5 超声波振荡器。
- 6.6 冷冻离心机:转速不低于8 000 r/min。
- 6.7 固相萃取装置。
- 6.8 氮吹仪。
- 6.9 涡旋混合器
- 6.10 pH计。
- 6.11 离心管:聚乙烯,具塞,50 mL。
- 6.12 比色管:25 mL。

7 试样的制备和保存

7.1 猪肉、牛肉、羊肉、猪肝、猪肾和猪肠

取有代表性样品约500 g,用组织捣碎机充分捣碎,均分成两份,分别装入洁净的容器内,密封并标明标记。如非立即进行前处理,于-18℃下冷冻保存。

7.2 牛奶

取有代表性样品约500 g,充分混匀,均分成两份,分别装入洁净容器,密封并标明标记,于0℃~4℃冷藏保存。

8 测定步骤

8.1 提取与净化

8.1.1 猪肉、牛肉、羊肉、猪肝、猪肾和猪肠

称取约 2 g 试样(精确到 0.01 g)于 50 mL 具塞离心管中,准确加入 100 μ L 苯海拉明-D₃ 内标工作液(5.16)和 20 mL 1%三氯乙酸-乙腈溶液(5.10),10 000 r/min 均质提取 1 min,再超声提取 15 min,于转速 8 000 r/min,温度 4 $^{\circ}$ C 以下,离心 10 min。收集上清液于 25 mL 比色管(5.12)中,用氨水(5.6)调节 pH 至 5,加水定容至 25 mL,待净化。

精确移取 5 mL 提取液,以不超过 1 mL/min 的流速通过已活化的 SCX 固相萃取柱(5.18),待样液全部通过后,依次用 5 mL 水、5 mL 甲醇(5.2)淋洗小柱,弃去全部流出液,减压抽至近干。先后用 6 mL 20%氨水甲醇溶液(5.11)和 4 mL 乙腈(5.1)洗脱,收集全部洗脱液,于 40 $^{\circ}$ C 下氮气吹干,准确加入 1.0 mL 0.1%甲酸-乙腈溶液(5.13)溶解残渣,过 0.22 μ m 微孔滤膜(5.19),供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

8.1.2 牛奶

称取约 2 g 试样(精确到 0.01 g)于 50 mL 具塞离心管中,准确加入 20 μ L 苯海拉明-D₃ 内标工作液(5.16)和 15 mL 1%三氯乙酸-乙腈溶液(5.10),超声提取 15 min。提取液用氨水(5.6)调节 pH 至 5,待净化。

将全部提取液以不超过 1 mL/min 的流速通过已活化的 SCX 固相萃取柱(5.18),待样液全部通过后,依次用 5 mL 水、5 mL 甲醇(5.2)淋洗小柱,弃去全部流出液,减压抽至近干。先后用 6 mL 20%氨水甲醇溶液(5.11)和 4 mL 乙腈(5.1)洗脱,收集全部洗脱液,于 40 $^{\circ}$ C 下氮气吹干,准确加入 1.0 mL 0.1%甲酸-乙腈溶液(5.13)溶解残渣,过 0.22 μ m 微孔滤膜(5.19),供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

8.2 测定

8.2.1 液相色谱条件

液相色谱条件参考如下:

- a) 液相色谱柱:C₁₈ 柱,1.8 μ m,2.1 mm \times 50 mm(内径)或相当者;
- b) 柱温:30 $^{\circ}$ C;
- c) 流速:0.3 mL/min;
- d) 流动相:A 为 0.1%甲酸水溶液,B 为乙腈,流动相梯度洗脱程序见表 1。
- e) 进样量:5 μ L。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.00	95.00	5.00
1.00	95.00	5.00
2.00	60.00	40.00
4.00	60.00	40.00
4.01	95.00	5.00
5.00	95.00	5.00

8.2.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源(ESI)；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 检测方式：多反应监测模式(MRM)；
- d) 雾化气、气帘气、辅助加热气和碰撞气均为高纯氮气；使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求；喷雾电压、去簇电压、碰撞能量等参数应优化至最优灵敏度，质谱参考参数参见附录 A。

8.2.3 液相色谱-串联质谱测定

8.2.3.1 定性测定

按照液相-质谱/质谱条件测定标准工作溶液和待测液。如果待测液中检测的质量色谱峰保留时间与标准品的保留时间偏差在±2.5%之内；定性离子对的相对丰度与浓度相当的标准工作液的相对丰度一致，相对丰度偏差不得超过表 2 的规定，且定性离子对的信噪比均≥3，则可判断样品中存在对应的被测物。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

8.2.3.2 定量测定

将标准工作溶液和待测液依次注入液相色谱-质谱/质谱仪中进行分析，标准工作溶液和待测液中苯海拉明和苯海拉明-D₃ 的响应值均应在仪器线性响应范围内。在上述仪器条件下，苯海拉明标准溶液的多反应监测色谱图参见附录 B。

8.3 空白试验

除不称取试样外，按上述试样测定步骤进行。

9 结果计算和表述

采用标准工作曲线定量，试样中苯海拉明的含量由液相色谱-质谱/质谱仪的数据处理软件或按公式(1)计算，计算结果需扣除空白值：

$$X = \frac{C \times V \times f \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X —— 试样中被测组分含量，单位为微克每千克(μg/kg)；
- C —— 从标准工作曲线得到的样液中被测组分溶液浓度，单位为微克每升(μg/L)；
- V —— 最终样液的定容体积，单位为毫升(mL)；
- m —— 试样质量，单位为克(g)；
- f —— 稀释倍数(牛奶等液体为 1，其他为 5)。

注：结果保留 3 位有效数字。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

猪肉、牛肉、羊肉、猪肝、猪肾和猪肠中苯海拉明的定量限为： $5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。牛奶中苯海拉明的定量限为： $1\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 回收率

猪肉、牛肉、羊肉、猪肝、猪肾、猪肠和牛奶中苯海拉明的添加水平和回收率数据参见附录 C。

以正式出版文本为准

附 录 A
(资料性)
质谱参考参数

A.1 质谱参考参数:

- a) 扫描方式:ESI 正离子模式;
- b) 监测方式:多反应监测(MRM);
- c) 干燥气温度:350 ℃;
- d) 干燥气流速:8 L/min;
- e) 气帘气压力:275.8 kPa;
- f) 鞘气温度:350 ℃;
- g) 鞘气流速:12 L/min;
- h) 毛细管电压:3 000 V;
- i) 监测离子对、去簇电压和碰撞能量等见表 A.1。

表 A.1 苯海拉明的质谱参数

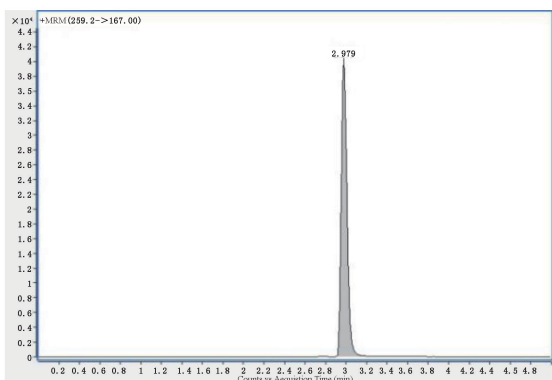
化合物	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	驻留时间 /ms	去簇电压 /V	碰撞电压 /V
苯海拉明	256.0/167.1	256.0/167.1	200	60	6
	256.0/165.1				46
苯海拉明-D ₃	259.2/167.0	259.2/167.0	200	70	5

附录 B

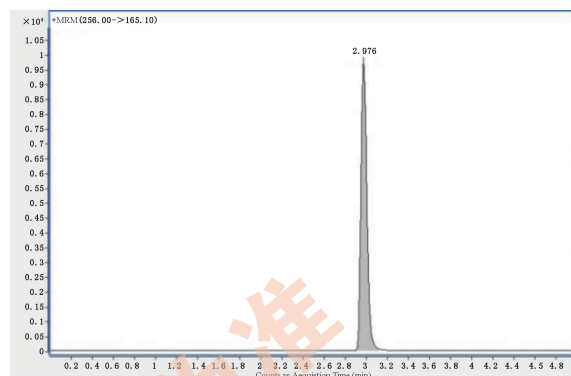
(资料性)

标准物质的多反应监测(MRM)色谱图

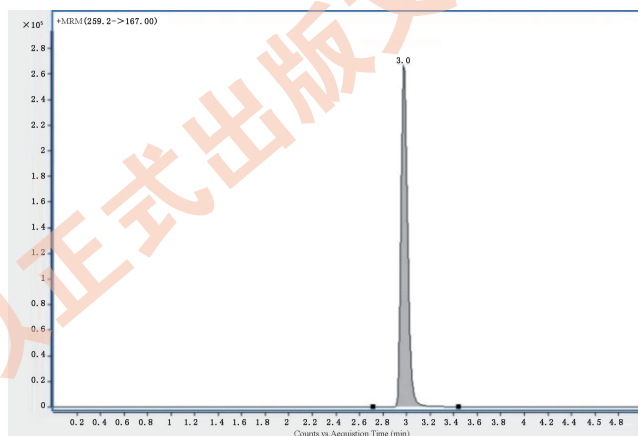
标准物质的多反应监测(MRM)色谱图见图 B.1 和图 B.2。



a) 苯海拉明定量离子对 MRM 色谱图



b) 苯海拉明定性离子对 MRM 色谱图

图 B.1 苯海拉明标准溶液的 MRM 色谱图(2 $\mu\text{g/L}$)图 B.2 苯海拉明-D₃ 内标物质的定量离子对 MRM 色谱图(10 $\mu\text{g/L}$)

附 录 C

(资料性)

添加水平及回收率数据

苯海拉明在典型基质中的添加浓度及其回收率见表 C.1。

表 C.1 苯海拉明在典型基质中的添加浓度及其回收率

序号	样品	添加水平/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率/ %	RSD/ %	回收率范围/ %
1	猪肉	5.00	101	4.50	93.5~106
		10.0	98.1	3.68	92.5~103
		50.0	98.6	1.81	96.4~101
2	牛肉	5.00	102.0	5.43	92.7~108
		10.0	98.7	2.40	96.8~103
		50.0	98.6	0.80	97.21~99.4
3	羊肉	5.00	102	2.78	98.3~106
		10.0	100	2.78	97.7~105
		50.0	99.6	1.02	98.3~101
4	猪肝	5.00	100	1.82	98.2~103
		10.0	99.5	4.16	93.8~104
		50.0	99.81	3.62	96.3~105
5	猪肾	5.00	98.85	3.52	93.8~104
		10.0	99.61	2.57	96.5~104
		50.0	99.44	1.84	97.7~103
6	猪肠	5.0	100	2.96	97.9~106
		10.0	99.7	4.08	94.6~106
		50.0	99.9	2.23	97.7~103
7	牛奶	1.00	99.7	0.95	99.0~101
		2.00	99.3	1.76	97.4~102
		10.0	99.9	1.62	98.0~102

以正式出版文本为准

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
出口动物源食品中苯海拉明残留量的测定
液相色谱-质谱/质谱法
SN/T 5437—2022

*

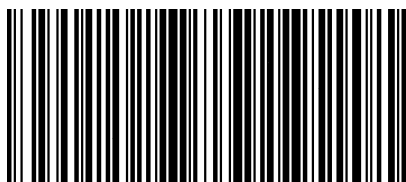
中国海关出版社有限公司出版发行
北京市朝阳区东四环南路甲1号(100023)
编辑部:(010)65194242-7530
网址 www.customskb.com/book
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 21 千字
2022年9月第一版 2022年9月第一次印刷
印数 1—500

*

书号: 155175·825 定价 18.00 元



SN/T 5437-2022