

中华人民共和国国家标准

GB 31660.6—2019

食品安全国家标准  
动物性食品中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂残留量  
的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-

Determination of five kinds of alpha-agonists residues in animal  
derived food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

2019-09-06 发布

2020-04-01 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

本标准系首次发布。

**食品安全国家标准**  
**动物性食品中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂残留量的测定**  
**液相色谱-串联质谱法**

## 1 范围

本标准规定了动物性食品中5种 $\alpha_2$ -受体激动剂的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于猪肌肉、肝脏和肾脏组织及鸡肌肉和肝脏组织中替扎尼定、赛拉嗪、溴莫尼定、安普乐定和可乐定残留量的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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

试样中残留的 $\alpha_2$ -受体激动剂，用碳酸钠缓冲溶液、乙酸乙酯提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱测定，外标法定量。

## 4 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

### 4.1 试剂

- 4.1.1 乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ )：色谱纯。
- 4.1.2 甲酸( $\text{HCOOH}$ )：色谱纯。
- 4.1.3 甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ )。
- 4.1.4 氨水( $\text{NH}_4\text{OH}$ )。
- 4.1.5 无水碳酸钠( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )。
- 4.1.6 碳酸氢钠( $\text{NaHCO}_3$ )。
- 4.1.7 乙酸乙酯( $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ )。

### 4.2 溶液配制

- 4.2.1 碳酸钠溶液：取无水碳酸钠10.6 g，用水溶解并稀释至100 mL。
- 4.2.2 碳酸氢钠溶液：取碳酸氢钠8.4 g，用水溶解并稀释至100 mL。
- 4.2.3 碳酸钠缓冲溶液：取碳酸钠溶液90 mL、碳酸氢钠溶液10 mL，混匀，现用现配。
- 4.2.4 甲酸溶液(0.2%)：取甲酸1 mL，用水溶解并稀释至500 mL。
- 4.2.5 甲酸-乙腈溶液：取0.2%甲酸溶液80 mL，加乙腈20 mL，混匀。
- 4.2.6 氨水甲醇溶液(5%)：取氨水5 mL，用甲醇溶解并稀释至100mL。

### 4.3 标准品

盐酸替扎尼定(Tizanidine hydrochloride,  $\text{C}_9\text{H}_{8}\text{ClN}_5\text{S HCl}$ , CAS:64461-82-1)、盐酸赛拉嗪(Xylazine Hydrochloride,  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{S}$ , CAS:7361-61-7)、溴莫尼定(Brimonidine,  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{BrN}_5$ , CAS:59803-98-4)、盐酸安普乐定(Apraclonidine hydrochloride,  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_4\text{Cl}_2 \text{ HCl}$ ,

CAS:73218-79-8) 和盐酸可乐定 (Clonidine hydrochloride, C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>3</sub>, CAS:4205-91-8) : 含量均≥98%。

#### 4.4 标准溶液制备

4.4.1 标准贮备液: 取盐酸替扎尼定、盐酸赛拉嗪、溴莫尼定、盐酸安普乐定和盐酸可乐定标准品各约 10mg, 精密称定, 分别于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配制成浓度均为 1 mg/mL 的盐酸替扎尼定、盐酸赛拉嗪、溴莫尼定、盐酸安普乐定和盐酸可乐定标准贮备液。2~8°C 保存, 有效期 6 个月。

4.4.2 混合标准工作液: 分别精密量取上述标准贮备液各 1 mL, 于 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配制成浓度为 10 μg/mL 的混合标准工作液。于 2~8°C 保存, 有效期 1 个月。

4.4.3 标准曲线制备: 分别精密量取混合标准工作液适量, 用甲酸-乙腈溶液稀释配制成浓度为 0.5、1、10、50 和 100 μg/L 系列混合标准工作液, 临用现配。

#### 4.5 材料

4.5.1 固相萃取MCX柱: 60mg/3mL, 或相当者。

4.5.2 滤膜: 有机相, 0.22 μm。

### 5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪: 配电喷雾电离源。

5.2 分析天平: 感量 0.00001 g 和 0.01 g。

5.3 均质机。

5.4 离心机。

5.5 涡旋振荡器。

5.6 旋转蒸发仪。

5.7 固相萃取装置。

5.8 鸡心瓶。

5.9 离心管: 50 mL。

### 6 试料的制备与保存

#### 6.1 试料的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织, 绞碎并使均质。

——取均质的供试样品, 作为供试试料。

——取均质的空白样品, 作为空白试料。

——取均质的空白样品, 添加适宜浓度的标准工作液, 作为空白添加试料。

#### 6.2 样品的保存

-20°C 以下保存。

## 7 测定步骤

### 7.1 提取

取试料2 g（准确至±20mg），于50 mL离心管中，加碳酸钠缓冲液5 mL，振荡混匀，加乙酸乙酯10 mL，充分振荡，于8000 r/min离心5 min，取上清液于鸡心瓶中，下层溶液中加乙酸乙酯10 mL重复提取一次，合并两次上清液。于55℃旋转蒸发至干，加甲酸-乙腈溶液4.0mL溶解残余物，备用。

### 7.2 净化

MCX柱依次用甲醇、水各3 mL活化。取备用液过柱，用水3 mL、甲醇3 mL分别淋洗，挤干，氨水甲醇溶液6 mL洗脱，收集洗脱液，于60℃旋转蒸发至干，用甲酸-乙腈溶液1.0 mL溶解残余物，滤过，液相色谱-串联质谱测定。

### 7.3 测定

#### 7.3.1 色谱条件

- a) 色谱柱：C<sub>18</sub>（100 mm×3.0 mm，粒径1.8 μm），或相当者；
- b) 柱温：30℃；
- c) 进样量：10 μL；
- d) 流速：0.3 mL/min；
- e) 流动相：A：乙腈；B：0.2%甲酸溶液，梯度洗脱程序见表1。

**表1 梯度洗脱程序**

时间 min	A：乙腈 %	B：0.2%甲酸溶液 %
0.0	10	90
3.0	30	70
4.0	30	70
4.5	80	20
5.5	80	20
5.6	10	90

#### 7.3.2 质谱条件

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- 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℃；

- e) 脱溶剂温度: 500°C;  
 f) 毛细管电压: 3.0 V;  
 g) 定性离子对、定量离子对及锥孔电压和碰撞能量见表 2。

表 2 5 种  $\alpha_2$  受体激动剂类药物的质谱参数

被测物名称	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	锥孔电 压 V	碰撞能量 eV
替扎尼定	254.1>44.1	254.1>44.1	38	22
	254.1>210.0			30
赛拉嗪	221.1>90.0	221.1>90.0	30	22
	221.1>164.0			26
溴莫尼定	292.2>170.2	292.2>212.3	40	35
	292.2>212.3			30
安普乐定	245.2>174.2	245.2>174.2	40	28
	245.2>209.2			20
可乐定	230.0>160.0	230.0>213.0	43	34
	230.0>213.0			24

## 7.4 测定法

### 7.4.1 定性测定

在同样测试条件下, 试样液中  $\alpha_2$ -受体激动剂的保留时间与标准工作液中相应  $\alpha_2$ -受体激动剂的保留时间之比, 偏差在  $\pm 5\%$  以内, 且检测到离子的相对丰度, 应当与浓度相当的校正标准溶液相对丰度一致, 其允许偏差应符合表 3 要求。

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	$\leq 10$
允许的最大偏差 %	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

### 7.4.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准工作液, 按外标法以峰面积定量, 标准工作液及试样溶液中的  $\alpha_2$  受体激动剂类响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述条件下,  $\alpha_2$  受体激动剂标准溶液特征离子质量色谱图见附录 A。

## 7.5 空白试验

除不加试料外, 采用完全相同的步骤进行平行操作。

## 8 结果计算和表述

试料中待测药物的残留量按式(1)计算:

式中：

X——供试物料中相应的 $\alpha_2$ 受体激动剂类药物残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$C_s$ ——标准溶液中相应的  $\alpha_2$  受体激动剂类药物浓度，单位为微克每升 ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )；

A——试样溶液中相应的  $\alpha_2$  受体激动剂类药物的色谱峰面积；

$A_s$ ——标准溶液中相应的  $\alpha_2$  受体激动剂类药物色谱峰面积；

V——溶解残余物所用的溶液体积，单位为毫升（mL）；

*m*—供试试验料质量, 单位为克 (g);

计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。

## 9 检测方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法的检测限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法在1~100 μg/kg添加浓度水平上的回收率为60%~100%。

9.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附录A  
(资料性附录)  
特征离子质量色谱图

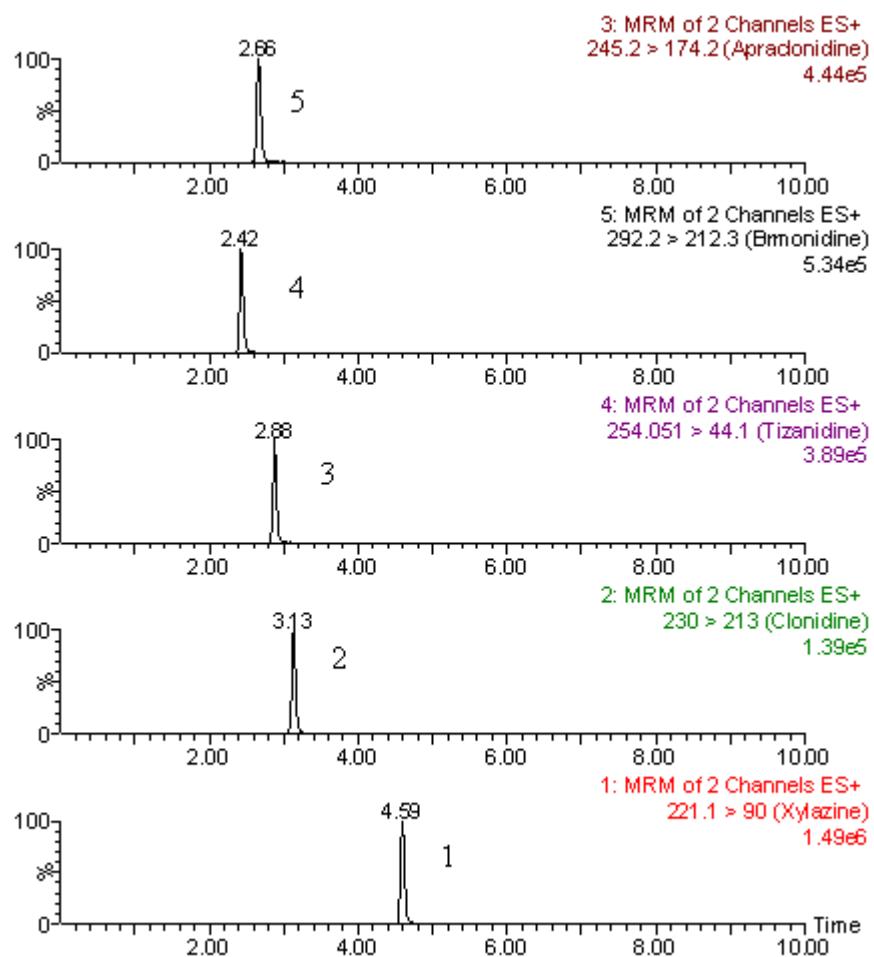


图 A.1  $10 \mu\text{g}/\text{L} \alpha_2$ 受体激动剂类药物标准溶液特征离子质量色谱图

- 1-赛拉嗪特征离子质量色谱图 ( $221.1 > 90.0$ )
- 2-可乐定特征离子质量色谱图 ( $230.0 > 213.0$ )
- 3-替扎尼定特征离子质量色谱图 ( $254.1 > 44.1$ )
- 4-溴莫尼定特征离子质量色谱图 ( $292.2 > 212.3$ )
- 5-安普乐定特征离子质量色谱图 ( $245.2 > 174.2$ )