

# 中华人民共和国国家标准

GB xxxx—20xx

## 食品安全国家标准 动物毛发中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇 和苯乙醇胺 A 残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard

Determination of clenbuterol, ractopamine, salbutamol, and phenylethanolamine A residues in animal hair 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。

本文件系首次发布。

征求意见稿

# 食品安全国家标准

## 动物毛发中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

### 1 范围

本文件规定了动物毛发中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺A残留的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于猪、牛和羊的毛发中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺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 术语与定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 原理

动物毛发经清洗、烘干、粉碎处理后，经盐酸溶液水解，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱仪测定，同位素内标法定量。

### 5 试剂和材料

#### 5.1 试剂

以下所用试剂，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。

5.1.1 乙腈（ $C_2H_3N$ ）：色谱纯。

5.1.2 甲酸（ $CH_2O_2$ ）：色谱纯。

5.1.3 甲醇（ $CH_4O$ ）：色谱纯。

5.1.4 十二烷基磺酸钠（ $C_{12}H_{25}SO_3Na$ ）。

5.1.5 盐酸（ $HCl$ ）。

5.1.6 氨水（ $NH_3 \cdot H_2O$ ）。

## 5.2 溶液配制

5.2.1 十二烷基磺酸钠溶液：称取十二烷基磺酸钠 10 g，加水溶解并稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.2 0.1 mol/L 盐酸溶液：取盐酸 8.3 mL，加水稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.3 0.1%甲酸溶液：取甲酸 1 mL，加水稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.4 复溶液：取乙腈 10 mL，加入 0.1%甲酸溶液 90 mL，混匀。

5.2.5 5%氨水甲醇溶液：取氨水 5 mL，加入甲醇 95 mL，混匀。

## 5.3 标准品

5.3.1 盐酸克仑特罗、盐酸莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A，含量均 $\geq 98.0\%$ ，详见附录 A。

5.3.2 克仑特罗-D<sub>9</sub>、盐酸莱克多巴胺-D<sub>3</sub>、沙丁胺醇-D<sub>3</sub>和苯乙醇胺 A-D<sub>3</sub>，含量均 $\geq 98.0\%$ 。详见附录 A。

## 5.4 标准溶液的制备

5.4.1 克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 标准储备液：取约 10 mg 标准品（以克仑特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺和苯乙醇胺 A 计），精密称定，分别置于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液，-18℃以下保存，有效期 12 个月。

5.4.2 内标储备液：取约 10 mg 标准品（以克仑特罗-D<sub>9</sub>、莱克多巴胺-D<sub>3</sub>、沙丁胺醇-D<sub>3</sub>和苯乙醇胺 A-D<sub>3</sub>计），精密称定，分别置于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配成浓度为 1 mg/mL 的内标储备液，-18℃以下保存，有效期 12 个月。

5.4.3 混合标准中间液：分别吸取标准储备液 0.10 mL，置于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配成浓度为 10 μg/mL 混合标准中间液，-18℃以下保存，有效期 3 个月。

5.4.4 混合标准工作液：吸取混合标准中间液 0.10 mL，置于 10 mL 棕色容量瓶中，用复溶液溶解并稀释至刻度，配成浓度为 100 ng/mL 混合标准工作液，现配现用。

5.4.5 混合内标中间液：分别吸取内标储备液 0.10 mL，置于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配成浓度为 10 μg/mL 混合内标中间液，-18℃以下保存，有效期 3 个月。

5.4.6 混合内标工作液：吸取混合内标中间液 0.10 mL，置于 10 mL 棕色容量瓶中，用复溶液溶解并稀释至刻度，配成浓度为 100 ng/mL 混合内标工作液，现配现用。

## 5.5 材料

5.5.1 固相萃取柱：混合型阳离子交换柱，3 mL，填料 60 mg，或其他性能类似的小柱。

5.5.2 微孔滤膜：孔径 0.22 μm，疏水型。

## 6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI 源）。

6.2 分析天平：感量 0.00001 g 和 0.001 g。

6.3 超声波清洗器。

6.4 电热干燥箱，控温精度 $\pm 2$  °C。

6.5 球磨机：振动频率 60 Hz。

6.6 干燥器。

6.7 旋涡振荡器。

6.8 恒温水浴：控温精度 $\pm 1$  °C。。

6.9 离心机：转速 7000 r/min。

6.10 氮吹仪。

6.11 固相萃取装置。

## 7 试料的制备与保存

### 7.1 样品采集

选取动物背部毛发，从根部剪断，保存备用。采集毛发的量应不少于 4 g。

### 7.2 样品制备

取 2 g 毛发加入 50 mL 烧杯中，加入 20 mL 十二烷基磺酸钠溶液，于超声波清洗器上超声清洗 30 min，再用水洗净毛发，置于 40 °C 电热干燥箱中烘干，用球磨机将其粉碎至粉末。

——取均质的供试毛发样品，作为供试试料。

——取均质的空白毛发样品，作为空白试料。

——取均质的空白毛发样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试料。

### 7.3 试料的保存

置于干燥器中保存。

## 8 测定步骤

### 8.1 提取

取试料 0.5 g（精确至 0.001g），于 10 mL 离心管内，依次加入混合内标工作液 25  $\mu$ L、0.1 mol/L 盐酸溶液 5 mL，涡旋混匀。于 60 °C 水浴中水解 4 h，7000 r/min 离心 10 min，取上清液备用。

## 8.2 净化

固相萃取柱依次用甲醇3 mL，水3 mL预洗。取全部备用液过柱，依次用水3 mL、甲醇3 mL淋洗，抽干，用5%氨水甲醇溶液3 mL洗脱，收集洗脱液，于50 °C氮气吹干，用复溶液0.50 mL溶解，过0.22 μm微孔滤膜，供液相色谱-串联质谱仪测定。

## 8.3 标准曲线的制备

精密量取混合标准工作液、混合内标工作液适量，用复溶液稀释成浓度为0.10 ng/mL、0.50 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL和100 ng/mL的系列标准工作液（含内标溶液均为5 ng/mL），供液相色谱-串联质谱仪测定。以待测分析物特征离子质量色谱峰的峰面积与内标物特征离子质量色谱峰的峰面积比值为纵坐标，相应的浓度为横坐标，绘制标准曲线；求回归方程和相关系数。

## 8.4 测定

### 8.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C<sub>18</sub>柱，柱长 100 mm，内径 2.1 mm，粒径 1.7 μm。或性能相当者。
- b) 柱温：40 °C。
- c) 进样量：10 μL。
- d) 流动相：A：0.1%甲酸溶液；B：乙腈，梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0	0.3	98	2
2	0.3	98	2
7	0.3	40	60
8	0.3	98	2
10	0.3	98	2

### 8.4.2 串联质谱参考条件

- a) 电离方式：电喷雾电离，正离子模式（ESI+）。
- b) 检测方式：多反应监测。
- c) 脱溶剂气、锥孔气、碰撞气均为高纯氮气及其他合适气体，使用前应调节各气体流量使质谱灵敏度达到检测要求。
- d) 定性离子对、定量离子对、锥孔电压及碰撞能量的参考值见表 2。

表2 定性离子对、定量离子对、锥孔电压及碰撞能量的参考值

被测物名称	定性离子对 ( <i>m/z</i> )	定量离子对 ( <i>m/z</i> )	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
克仑特罗	277.0 > 203.1	277.0 > 203.1	25	17
	277.0 > 259.2			11
莱克多巴胺	302.1 > 107.0	302.1 > 164.1	20	17
	302.1 > 164.1			13
沙丁胺醇	240.1 > 148.1	240.1 > 148.1	25	20
	240.1 > 222.1			10
苯乙醇胺 A	345.0>327.0	345.0>150.0	22	17
	345.0>150.0			13
克仑特罗-D <sub>9</sub>	286.0 > 204.1	286.0 > 204.1	25	17
莱克多巴胺-D <sub>3</sub>	305.2 > 167.2	305.2 > 167.2	20	14
沙丁胺醇-D <sub>3</sub>	243.0 > 151.2	243.0 > 151.2	25	14
苯乙醇胺 A-D <sub>3</sub>	348.2>153.1	348.2>153.2	22	17

## 8.4.3 测定方法

## a) 定性测定

在相同的测试条件下，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。

表3 试样溶液中离子相对丰度的允许偏差范围

相对离子丰度	>50%	>20%至50%	>10%至20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

## b) 定量测定

取试样溶液和标准工作液，作单点或多点校准，按内标法定量。标准工作液及试样溶液中目标物的响应值均应在线性范围内。如超出线性范围、应将试样溶液重新稀释至适当的浓度。在上述液相色谱-串联质谱条件下，标准溶液及对应的同位素内标溶液特征离子质量色谱图见附录B。

## 8.5 空白试验

取空白试料，除不添加待测分析物外，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

## 9 结果计算和表述

试料中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺A残留量按标准曲线或公式(1)计算，式中：

$$X = \frac{A \times A'_{iS} \times C_S \times C_{iS} \times V}{A_{iS} \times A_S \times C'_{iS} \times m} \times \frac{1000}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

$X$ —供试试料中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 残留量，单位为微克每千克 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )；

$A$ —试样溶液中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 的峰面积；

$A_S$ —标准溶液中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 的峰面积；

$A_{IS}$ —试样溶液中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 对应内标的峰面积；

$A'_{IS}$ —标准溶液中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 对应内标的峰面积；

$C_S$ —标准溶液中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 浓度，单位为纳克每毫升 ( $\text{ng}/\text{mL}$ )；

$C_{IS}$ —试样溶液中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 内标浓度，单位为纳克每毫升 ( $\text{ng}/\text{mL}$ )；

$C'_{IS}$ —标准溶液中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 内标浓度，单位为纳克每毫升 ( $\text{ng}/\text{mL}$ )；

$V$ —溶解最终残余物体积，单位为毫升 ( $\text{mL}$ )；

$m$ —供试试料的质量，单位为克 ( $\text{g}$ )。

注：测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

## 10 方法的灵敏度、准确度和精密度

### 10.1 灵敏度

本方法对猪、牛和羊毛发中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 的检测限为  $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 10.2 准确度

本方法对于猪、牛和羊的毛发中克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 在  $1 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}$  添加浓度范围内的回收率为  $70\% \sim 120\%$ 。

### 10.3 精密度

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

## 附录 A

(资料性)

## 标准品的中英文名称、化学分子式和 CAS 号

标准品的中英文名称、CAS 号见表 A.1。

表 A.1 标准品中英文名称、化学分子式和 CAS 号

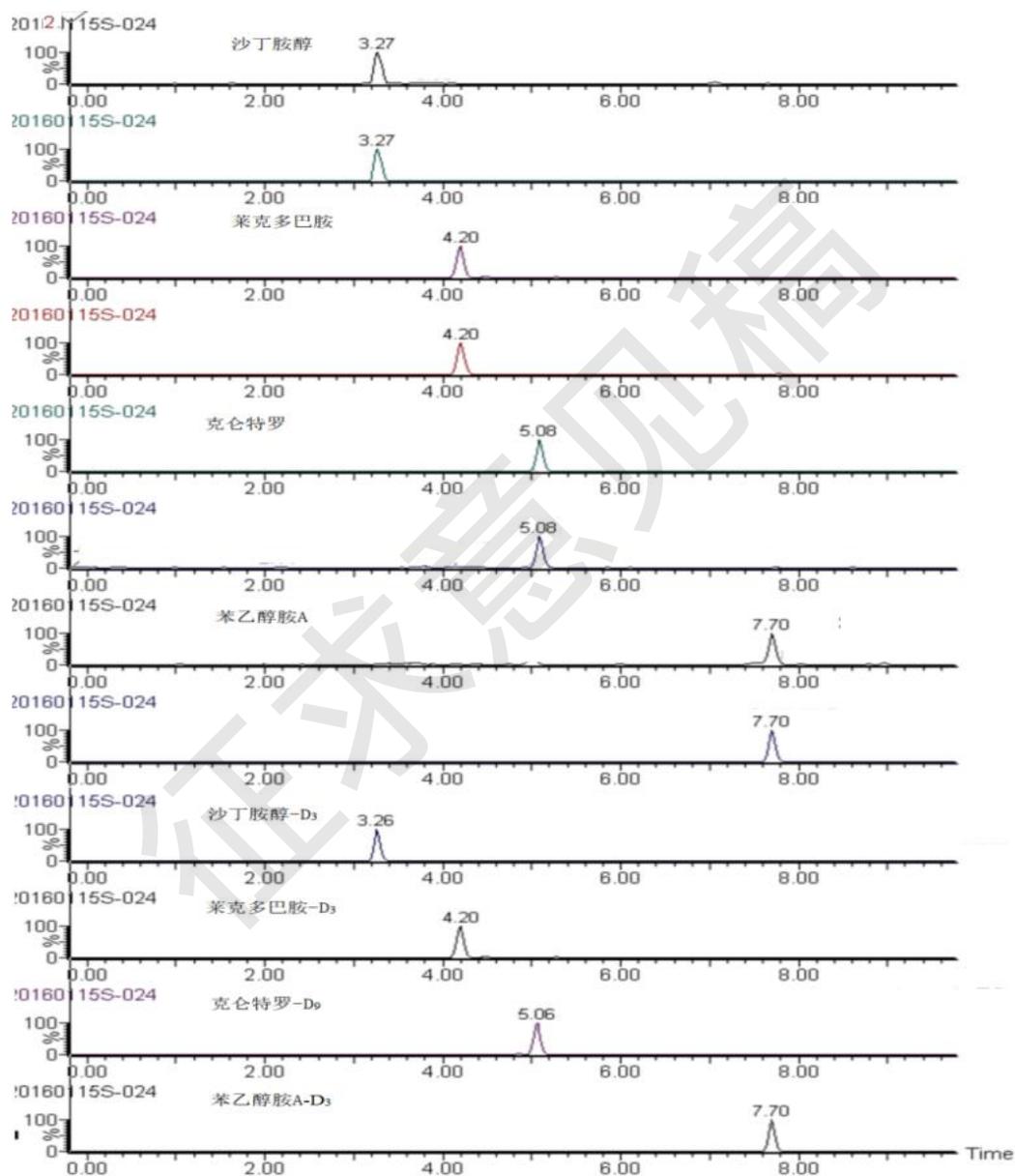
中文名称	英文名称	化学分子式	CAS 号
盐酸克仑特罗	Clenbuterol Hydrochloride	$C_{12}H_{18}Cl_2N_2OH \cdot HCl$	21898-19-1
盐酸莱克多巴胺	Ractopamine Hydrochloride	$C_{18}H_{23}NO_3 \cdot HCl$	90274-24-1
沙丁胺醇	Salbutamol	$C_{13}H_{21}NO_3$	18559-94-9
苯乙醇胺 A	Phenylethanolamine A	$C_{19}H_{24}N_2O_4$	1346746-81-3
克仑特罗-D <sub>9</sub>	Clenbuterol-D <sub>9</sub>	$C_{12}H_9Cl_2D_9N_2O$	129138-58-5
盐酸莱克多巴胺-D <sub>3</sub>	Ractopamine-D <sub>3</sub> Hydrochloride	$C_{18}H_{20}D_3NO_3 \cdot HCl$	1219794-72-5
沙丁胺醇-D <sub>3</sub>	Salbutamol-D <sub>3</sub>	$C_{13}H_{18}D_3NO_3$	1219798-60-3
苯乙醇胺 A-D <sub>3</sub>	Phenylethanolamine A-D <sub>3</sub>	$C_{19}H_{21}D_3N_2O_4$	/

## 附录 B

(资料性)

## 克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 的特征离子质量色谱图

克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺 A 及内标的特征离子质量色谱图见图 B.1。



图B.1 克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和苯乙醇胺A标准溶液(10 ng/mL)及内标溶液(5 ng/mL)的特征离子质量色谱图