

ICS 67.050
CCS X



中华人民共和国国家标准

GB XXXXX—XXXX

食品安全国家标准 水产品中镇静剂类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—
Determination of tranquilizers residues in aquatic products
by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

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

水产品中镇静剂类药物残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中安眠酮、硝西洋、地西洋、奥沙西洋、艾司唑仑、阿普唑仑、劳拉西洋、三唑仑残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鱼、虾、蟹、海参可食组织中安眠酮、硝西洋、地西洋、奥沙西洋、艾司唑仑、阿普唑仑、劳拉西洋、三唑仑药物残留量的测定。其他水产品可食组织可参照执行。

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

GB/T 30891-2014 水产品抽样规范

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试料中残留的镇静剂类药物，用酸化乙腈提取，亲水亲脂平衡型固相萃取柱和乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶净化，液相色谱-串联质谱测定，基质匹配标准溶液外标法定量。

5 试剂与材料

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。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

5.1.2 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

5.1.3 乙酸（ CH_3COOH ）。

5.1.4 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。

5.1.5 无水硫酸钠（ Na_2SO_4 ）：经 650°C 灼烧 4 h，冷却后贮于密闭容器中备用。

5.2 溶液配制

5.2.1 1%乙酸乙腈溶液：取乙酸 10 mL，用乙腈稀释至 1 000 mL，混匀。

5.2.2 60%乙腈水溶液：取乙腈 600 mL，用水稀释至 1 000 mL，混匀。

5.2.3 定溶液：取甲酸 1 mL，用 60%乙腈水溶液稀释至 1 000 mL，混匀。

5.2.4 0.1%甲酸溶液：取甲酸 1 mL，用水稀释至 1 000 mL，混匀。

5.3 标准物质

安眠酮、硝西洋、地西洋、奥沙西洋、艾司唑仑、阿普唑仑、劳拉西洋、三唑仑标准溶液，浓度 1 mg/mL。具体见附录 A。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 混合标准中间溶液（10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：分别精密量取 1 mg/mL 的标准溶液各 1 mL，于 100 mL 容量瓶中，用乙腈稀释并定容至刻度，配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准中间溶液。-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 3 个月。

5.4.2 混合标准工作溶液（1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：精密量取 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准中间溶液 1 mL，于 10 mL 容量瓶中，用乙腈稀释并定容至刻度，配制成浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准工作液。-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存，有效期 3 个月。

5.5 材料

5.5.1 亲水亲脂平衡型固相萃取柱：60 mg/3 mL，或相当者。

5.5.2 PSA 吸附剂：40 ~ 60 μm 。

5.5.3 聚偏氟乙烯微孔滤膜：0.22 μm 。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源（ESI 源）。

6.2 分析天平：感量 0.01 g 和感量 0.000 01 g。

6.3 氮吹仪。

6.4 均质器。

6.5 旋涡混合器。

- 6.6 离心机：8000 r/min 或以上。
- 6.7 超声波振荡器。
- 6.8 具塞聚丙烯塑料离心管：50 mL。
- 6.9 聚丙烯塑料离心管：20 mL。

7 试料的制备与保存

7.1 试料的制备

按 GB/T 30891—2014 附录 B 的要求制样。

- a) 取均质后的供试样品，作为供试试料；
- b) 取均质后的空白样品，作为空白试料。
- c) 取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准溶液，作为空白添加试料。

7.2 试料的保存

-18℃ 以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试料5 g（精确至±0.05 g），置于50 mL离心管中，量取1%乙酸乙腈溶液20 mL加入离心管中，涡旋30 s，35℃超声提取10 min，加入无水硫酸钠5 g，涡旋1 min，8000 r/min离心10 min，移取上清液于20 mL离心管中，40℃氮气吹至近干，加入乙腈0.5 mL溶解残渣，加入水5 mL，备用。

8.2 净化

固相萃取柱用甲醇5 mL、水5 mL活化，取备用液过柱，控制流速不超过1 mL/min，用水5 mL淋洗，加乙腈10 mL洗脱。收集洗脱液，40℃氮气吹干。准确加入定溶液0.50 mL复溶，加入PSA吸附剂0.15 g，涡旋 1 min，8000 r/min离心10 min，取上清液过0.22 μm滤膜，供液相色谱-串联质谱仪分析。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

准确移取混合标准工作溶液适量，用定溶液稀释成浓度为1.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、50.0 μg/L、100.0 μg/L的系列标准工作溶液。取空白试料，依次按8.1和8.2处理至氮气吹干，分别加入系列标准工作溶液0.50 mL溶解残渣，加入PSA吸附剂0.15 g，涡旋 1 min，8000 r/min离心10 min，取上清液过0.22 μm滤膜，制成浓度为1.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、50.0 μg/L、

100.0 $\mu\text{g/L}$ 的系列基质匹配标准溶液，供液相色谱-串联质谱仪测定。使用时现配现用。以待测物特征离子峰面积为纵坐标，相应的基质匹配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 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱： C_{18} 柱，100 mm \times 2.1 mm(i.d.)，1.8 μm ，或性能相当者。
- b) 柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ 。
- c) 流速：0.25 mL/min。
- d) 进样量：5 μL 。
- e) 流动相：A为乙腈，B为0.1%甲酸溶液；梯度洗脱程序见表1。

表1 流动相梯度洗脱程序

时间, min	A 体积分数, %	B 体积分数, %
0.00	15	85
0.50	15	85
5.00	95	5
7.00	95	5
8.00	15	85
10.0	15	85

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI 源）。
- b) 扫描方式：正离子扫描。
- c) 检测方式：多反应监测（MRM）。
- d) 电喷雾电压：3500 V。
- e) 离子源温度：450 $^{\circ}\text{C}$ 。
- f) 脱溶剂气、碰撞气、辅助气等气体，在使用前应调节其流量，使质谱灵敏度达到检测要求。
- g) 母离子、子离子、锥孔电压及碰撞能量等见表 2。

表2 多反应监测母离子、子离子、锥孔电压和碰撞能量

化合物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
安眠酮	251.1>91.1	251.1>91.1	10	44
	251.1>132.0		10	36
硝西泮	282.1>180.2	282.1>180.2	48	30
	282.1>207.2		48	30
地西洋	285.0>154.0	285.0>154.0	48	25
	285.0>193.1		48	31
奥沙西洋	288.0>104.1	288.0>104.1	23	30
	288.0>242.0		23	20
艾司唑仑	295.0>205.0	295.0>267.2	70	36
	295.0>267.2		70	22
阿普唑仑	309.1>205.2	309.1>281.2	58	36
	309.1>281.2		58	24
劳拉西洋	321.1>75.1	321.1>75.1	18	80
	321.1>102.2		18	80
三唑仑	343.0>239.2	343.0>239.2	90	34
	343.0>308.0		90	24

8.5 测定法

8.5.1 定性方法

在相同测试条件下，试料溶液中各组分的保留时间与标准溶液中各组分的保留时间相比，偏差在±2.5%以内，且检测到的离子的相对丰度，应当与浓度相当的标准溶液的离子相对丰度一致，其允许偏差应符合表3要求。

表3 定性确证时离子相对丰度的允许偏差

相对离子丰度	>50%	20%~50%	10%~20%	≤10%
允许偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

8.5.2 定量方法

取试料溶液和基质标准溶液，作单点或多点校准，按外标法以色谱峰面积定量。基质标准溶液和试料溶液中目标物的峰面积均应在仪器检测的线性范围之内。基质标准溶液多反应监测谱图见附录B。

8.6 空白试验

取空白试料，除不加标准溶液外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试料中待测物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 —试料中镇静剂类药物的残留量的数值,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

A —试料溶液中镇静剂类药物的色谱峰面积;

A_s —基质匹配标准溶液中镇静剂类药物的色谱峰面积;

C_s —基质匹配标准溶液中镇静剂类药物浓度的数值,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

V —试料最终定容体积的数值,单位为毫升(mL);

m —供试试料质量的数值,单位为克(g);

10 方法灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法8种镇静剂类药物的检出限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法8种镇静剂类药物在 $1 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $60\% \sim 110\%$ 。

10.3 精密度

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

附录 A

(资料性)

药物中英文通用名称、化学分子式、CAS号

表A1 8种镇静剂类药物中英文通用名称、化学分子式、CAS号

中文通用名称	英文通用名称	化学分子式	CAS号
安眠酮	Methaqualone	$C_{16}H_{14}N_2O$	72-44-6
硝西洋	Nitrazepam	$C_{15}H_{11}N_3O_3$	146-22-5
地西洋	Diazepam	$C_{16}H_{13}ClN_2O$	439-14-5
奥沙西洋	Oxazepam	$C_{15}H_{11}ClN_2O_2$	604-75-1
艾司唑仑	Estazolam	$C_{16}H_{11}ClN_4$	29975-16-4
阿普唑仑	Alprazolam	$C_{17}H_{13}ClN_4$	28981-97-7
劳拉西洋	Lorazepam	$C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$	846-49-1
三唑仑	Triazolam	$C_{17}H_{12}Cl_2N_4$	28911-01-5

附录 B

(资料性)

色谱图

8种镇静剂类药物基质标准溶液谱图见图B。

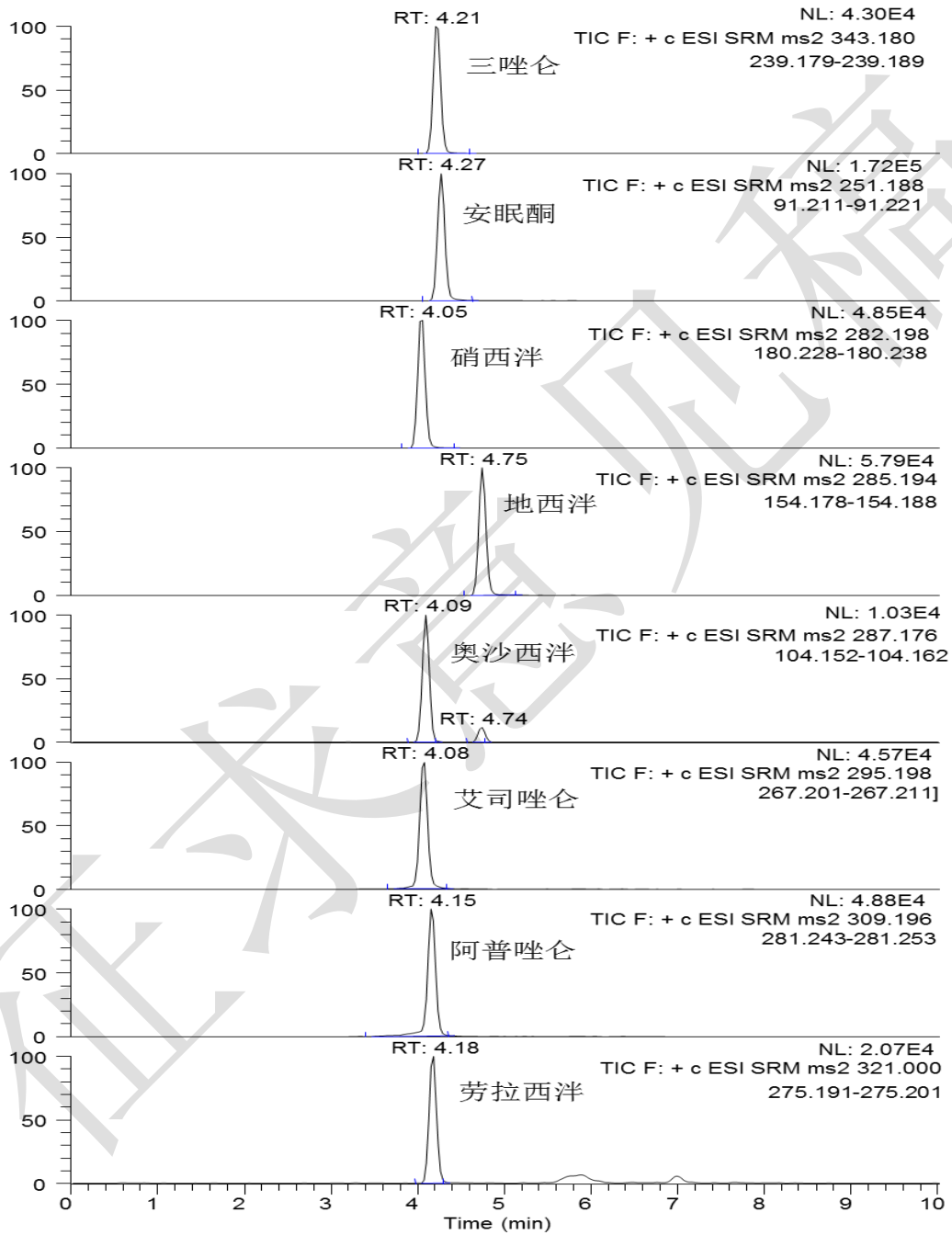


图 B. 8 种镇静剂类药物基质标准溶液多反应监测谱图 (10.0 $\mu\text{g/L}$)