



中华人民共和国国家标准

GBXXXXX—XXXX

食品安全国家标准 奶及奶粉中吩噻嗪类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-
Determination of phenothiazines residues in milk and milk powder by liquid
chromatography-tandem mass spectrometric method

(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

奶及奶粉中吩噻嗪类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了奶与奶粉中吩噻嗪类药物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、羊奶、牛奶粉和羊奶粉中氯丙嗪、异丙嗪、乙酰丙嗪、丙酰丙嗪、赛拉嗪5种吩噻嗪类药物残留量的测定。

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

试样中的吩噻嗪类药物，经酸化乙腈提取，混合型强阳离子交换柱净化，液相色谱-串联质谱法测定，基质匹配外标法定量。

5 试剂与材料

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 试剂甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

5.1.2 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯

5.1.3 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。

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

5.1.5 浓盐酸（ HCl ）。

5.1.6 乙酸铵（ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ）。

5.2 溶液配制

5.2.1 0.1 mol/L 盐酸溶液：取盐酸 0.835 mL，用水稀释至 100 mL，混匀。

5.2.2 乙腈-盐酸溶液（9:1）：取 0.1 mol/L 盐酸溶液 50 mL，乙腈 450 mL，混匀。

5.2.3 5%氨水乙腈溶液：取氨水 5 mL，用乙腈稀释至 100 mL，混匀。

5.2.4 2 mmol/L 乙酸铵溶液（含 0.1% 甲酸）：取乙酸铵 0.154 g，加甲酸 1 mL，用适量水溶解并稀释至 1000 mL，混匀。

5.3 标准品

氯丙嗪、异丙嗪、乙酰丙嗪、丙酰丙嗪、赛拉嗪标准品，含量均 $\geq 95.0\%$ ，或带证书的标准溶液，见附录 A。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液：取标准品各适量（相当于各待测组分 10 mg），精密称定，用甲醇溶解并稀释定容至 100 mL 容量瓶，配制成浓度为 100 mg/L 的标准储备液。-18℃以下避光保存，有效期 12 个月。

5.4.2 混合标准中间液：准确量取上述标准储备液适量，用甲醇稀释制成浓度为 10mg/L 的标准中间液，-18℃以下避光保存，有效期 3 个月。

5.4.3 混合标准工作液(100 μg/L)：准确量取混合标准中间液适量，用甲醇稀释配制成浓度为 100 μg/L 标准工作液。-18℃以下避光保存，有效期 1 个月。

5.4.4 混合标准工作液(20 μg/L)：准确量取 100 μg/L 混合标准工作液适量，用甲醇稀释配制成浓度为 20 μg/L 标准工作液。临用现配。

5.5 材料

5.5.1 混合型强阳离子交换 MCX 柱：60 mg/3 mL，或相当者。

5.5.2 微孔滤膜：0.22 μm 有机系尼龙滤膜。

6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源。

6.2 离心机：9500 r/min 或以上。

6.3 电子天平：感量为 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.4 涡旋混合器。

6.5 振荡器。

6.6 超声波清洗器。

6.7 固相萃取装置。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

7.1.1 奶

取适量新鲜或冷藏的空白或供试奶，混合均匀。

——取混匀的供试样品，作为供试试样；

——取混匀的空白样品，作为空白试样；

——取混匀的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

7.1.1 奶粉

取适量空白或供试奶粉，混合均匀。

——取混匀的供试样品，作为供试试样；

——取混匀的空白样品，作为空白试样；

——取混匀的空白样品，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℃以下避光保存。

8 测定步骤

8.1 提取

准确称取牛奶(羊奶)试料(2 ±0.05) g，于50 mL离心管。奶粉试料称取(0.4 ±0.01) g于50 mL离心管，加水1.5 mL，超声溶解。加乙腈-盐酸溶液4 mL，涡旋混合20 s，振荡10 min，9500 r/min离心5 min。全部上清液转移至另一洁净刻度离心管，残渣中加乙腈-盐酸溶液4 mL重复提取一次，合并两次提取液于50 mL刻度离心管中，用水定容至15 mL，涡旋混合1 min，9500 r/min离心5 min，待净化。

8.2 净化

取混合型强阳离子交换MCX柱，依次以甲醇3 mL和水3 mL预处理。取提取液7.5 mL过柱，流速控制在约1滴/s，弃去流出液。用水3 mL淋洗，抽干。以5 %氨水乙腈溶液5 mL洗脱于15 mL刻度试管收集。45℃水浴氮气吹至约1 mL，用2 mmol/L乙酸铵溶液（含0.1%甲酸）定容至2 mL，涡旋混合1 min，过0.22 μm滤膜，供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

精密量取100 μg/L混合标准工作液或20 μg/L混合标准工作液适量，用乙腈稀释成含吩噻嗪药物浓度分别为0.05 μg/L、0.1 μg/L、0.2 μg/L、0.5 μg/L、1.0 μg/L、2.0 μg/L、5.0 μg/L的系列标准溶液。从上述标准溶液中各取1.0 mL加入到洁净试管中，吹氮至近干，加入1 mL经提取和净化后的空白基质样品溶液，混匀，配制成基质匹配标准溶液，供液相色谱-串联质谱测定。奶粉基质匹配标准溶液浓度：0.05 μg/L、0.1 μg/L、0.2 μg/L、0.5 μg/L、1.0 μg/L；牛奶奶基质匹配标准溶液浓度：0.2 μg/L、0.5 μg/L、1.0 μg/L、2.0 μg/L、5.0 μg/L。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：C₁₈柱（100 mm×2.1 mm，2.7 μm）或相当者；
- 流动相：A：2 mmol/L 乙酸铵溶液（含0.1%甲酸），B：乙腈，梯度洗脱条件见表1；
- 流速：0.25 mL/min；
- 柱温：40 °C；
- 进样量：5 μL。

表1 流动相梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	95	5
5.0	10	90
7.0	10	90
7.1	95	5
10	95	5

8.4.2 质谱参考条件

- 电离方式：电喷雾电离，正离子模式；
- 数据采集：多反应监测（MRM），质谱参数参见表2；
- 离子源温度：550℃；
- 电喷雾电压：5500 V；
- 气帘气压力（CUR）：35.0 psi（氮气）；
- 碰撞气体（CAD）：Medium（氮气）；
- 雾化气（GS1）：40 psi；
- 辅助气（GS1）：60 psi；

表2 化合物的母离子及定量定性离子、碰撞能量

药物	定性离子对 m/z	定量离子 m/z	去簇电压 V	碰撞能量 eV
氯丙嗪	319.1>58.1	319.1>58.1	60	26

	319.1>86.1			27
异丙嗪	285.1>86.1	285.1>86.1	50	26
	285.1>198.0			27
乙酰丙嗪	327.1>86.1	327.1>86.1	60	26
	327.1>58.1			27
丙酰丙嗪	341.2>58.1	341.2>58.1	60	26
	341.2>86.1			27
赛拉嗪	221.2>90.0	221.2>90.0	60	26
	221.2>164.0			27

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在同样测试条件下,试样溶液中的吩噻嗪类药物的保留时间与基质匹配标准溶液中相应组分的保留时间相比,相对偏差在0.1min以内,且检测到的相对离子丰度,应当与浓度相当的基质匹配标准溶液相对离子丰度一致,其允许偏差在±40%以内。

8.4.3.2 定量测定

按8.4.1和8.4.2设定仪器条件,以基质匹配标准溶液浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线,作单点或多点校准,按外标法计算试样中药物的残留量,基质匹配标准溶液及试样溶液中的目标物响应值均在仪器检测的线性范围内。标准溶液特征离子质量色谱图见附录B。

8.5 空白试验

取空白试样,除不加药物外,采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算

试样中待测药物的残留量按标准曲线或公式(1)计算,

$$X = \frac{C_s \times A \times V_1 \times V_3 \times 1000}{A_s \times V_2 \times m \times 1000} \dots \dots (1)$$

式中:

X —试样中待测药物残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

C_s —标准溶液中待测药物浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

A —试样溶液中待测药物的峰面积;

A_s —标准溶液中待测药物的峰面积;

V_1 —提取溶液总体积,单位为毫升(mL);

V_2 —吸取出用于净化的提取溶液体积值,单位为毫升(mL);

V_3 —最终定容体积,单位为毫升(mL);

m —试样质量,单位为克(g);

注:计算结果以平行测定结果的算术平均值表示,含量不小于 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 的保留3位有效数字, $1\mu\text{g}/\text{kg}$

以下保留至小数点后2位。

10 方法灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法5种吩噻嗪类药物的检出限为0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法在0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度的回收率为70%~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 $\leq 20\%$ 。

征求意见稿

附 录 A
(资料性)
吩噻嗪类化合物信息

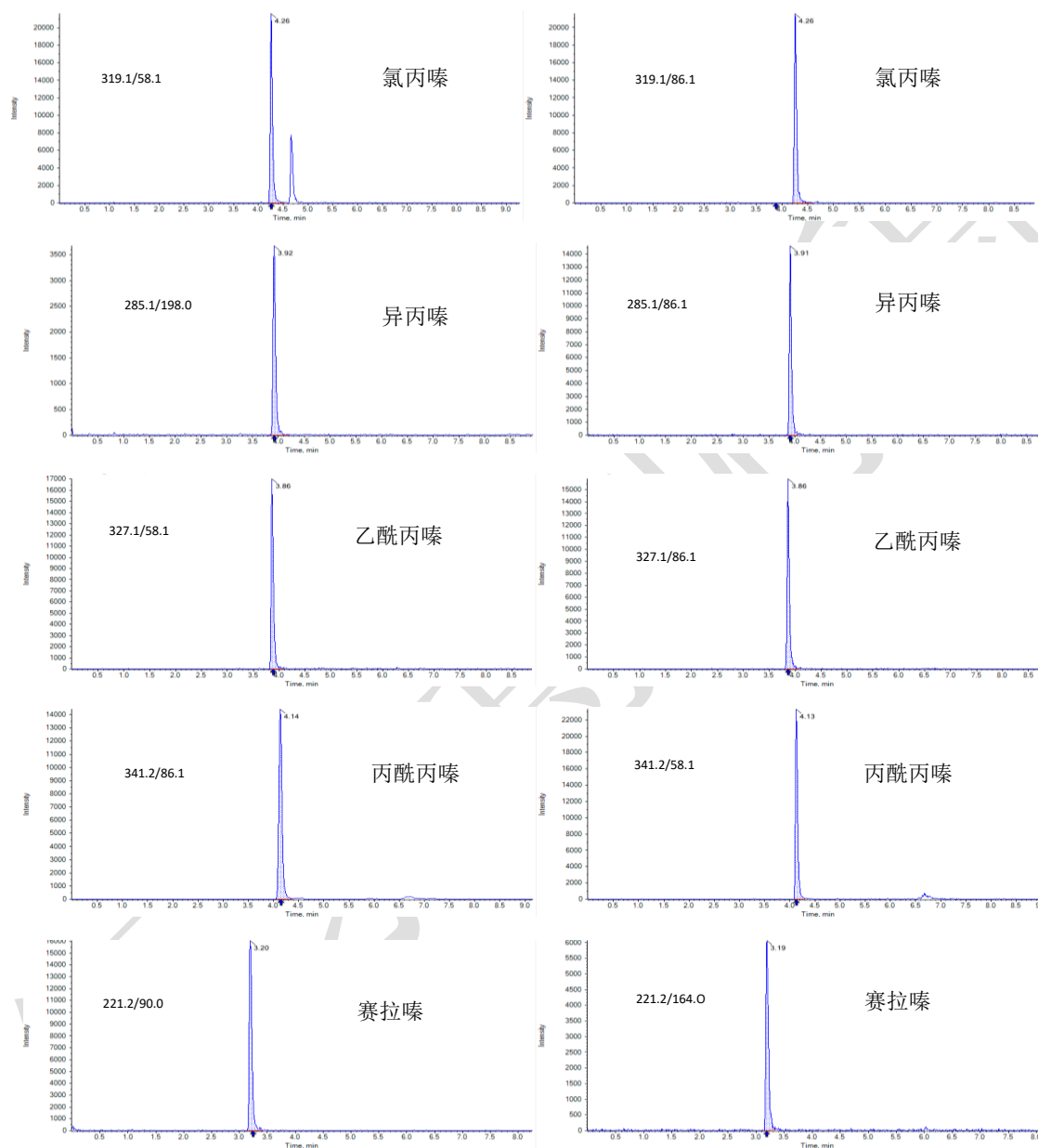
吩噻嗪类化合物的中英文名称、CAS号、化学分子式及相对分子质量参见表A.1。

表A.1 吩噻嗪类化合物标准物质的信息

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量
1	氯丙嗪	Chlorpromazine	50-53-3	$C_{17}H_{19}ClN_2S$	318.9
2	异丙嗪	Promethazine	60-87-7	$C_{17}H_{20}N_2S$	284.4
3	乙酰丙嗪	Acepromazine	61-00-7	$C_{19}H_{22}N_2OS$	326.5
4	丙酰丙嗪	Propionylpromazine	3568-24-9	$C_{20}H_{24}N_2OS$	340.5
5	赛拉嗪	Xylazine	7361-61-7	$C_{12}H_{16}N_2S$	220.34

附录 B
(资料性)
标准物质选择离子质量色谱图

吩噻嗪类化合物标准物质选择离子质量色谱图参见图B.1。



图B.1 混合标准溶液特征离子质量色谱图 (0.5 μg/L)