



中华人民共和国国家标准

GB ×××××—××××

食品安全国家标准 牛可食性组织中盐霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standards-

Determination of salinomycin residue in bovine edible tissues by liquid
chromatography-tandem mass spectrometry method

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××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

本文件系首次发布。

征求意见稿

食品安全国家标准

牛可食性组织中盐霉素残留量的测定

液相色谱—串联质谱法

1 范围

本文件规定了牛可食性组织中盐霉素残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。
本文件适用于牛肌肉、肝脏、肾脏和脂肪组织中盐霉素残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中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

试样中的药物残留用乙腈提取，提取液过滤膜后用液相色谱-串联质谱仪测定，基质匹配外标法定量。

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 无水硫酸钠 (Na_2SO_4)：用前在 650°C 灼烧 4h，置于干燥器中冷却后备用。

5.1.2 乙腈 (CH_3CN)：色谱纯。

5.1.3 正己烷 (C_6H_{14})。

5.1.4 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

5.2 溶液的配制

5.2.1 0.1%甲酸溶液：取甲酸 1 mL，用水溶解并稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.2 0.1%甲酸乙腈：取甲酸 1 mL，用乙腈稀释至 1000 mL，混匀。

5.3 标准品

盐霉素 (CAS 55721-31-8)，含量 \geq 95%。

5.4 标准溶液的制备

5.4.1 标准储备溶液 (1000 $\mu\text{g/mL}$): 取盐霉素适量 (相当于有效成分 10 mg), 精密称定, 加甲醇适量使溶解并稀释定容至 10 mL 容量瓶, 配制成浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。
-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存, 有效期 6 个月。

5.4.2 标准中间液 (10 $\mu\text{g/mL}$): 准确移取标准储备溶液 1 mL 于 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存, 有效期 1 个月。

5.4.3 标准工作液: 准确移取标准中间液适量, 用乙腈逐级稀释成浓度为 1.5、5.0、20、50、200 和 500 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准工作溶液。现用现配。

5.5 材料

5.5.1 针头式过滤器 (通用型滤膜): 尼龙材质, 孔径 0.22 μm , 或性能相当者。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪: 带电喷雾离子源。

6.2 天平: 感量 0.01 g。

6.3 分析天平: 感量 0.000 01 g。

6.4 离心管: 聚丙烯塑料离心管, 50 mL。

6.5 离心机: 5 000 r/min 或以上。

6.6 涡旋混合器。

6.7 振荡器。

7 试料的制备与保存

7.1 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。

——取均质后的供试样品, 作为供试试料。

——取均质后的空白样品, 作为空白试料。

——取均质后的空白样品, 添加适宜浓度的标准工作液, 作为空白添加试料。

7.2 试料的保存

-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存。

8 测定步骤

8.1 前处理

8.1.1 肌肉、肝脏、肾脏

取试料5 g (精确至 ± 0.05 g), 于50 mL离心管中, 加入无水硫酸钠5 g后再准确加入乙腈10 mL, 涡旋混合1 min, 振荡10 min, 5000 r/min离心3 min, 收集上清液, 残渣中准确加入乙腈10 mL, 同样步骤提取1次, 合并上清液, 过滤膜, 供液相色谱-串联质谱测定。

8.1.2 脂肪

取试料5 g (精确至 ± 0.05 g), 于50 mL离心管中, 加入正己烷10 mL后准确加入乙腈20 mL, 涡旋混合2 min, 5000 r/min离心3 min, 收集乙腈层; 残余物中准确加入乙腈20 mL, 同样步骤萃取1次, 合并乙腈溶液, 过滤膜, 供液相色谱-串联质谱测定。

8.2 基质匹配标准曲线的制备

取5.4.3中系列标准溶液各50 μ L用空白试样按8.1处理后得到的最终溶液稀释至1.0 mL, 得浓度为0.075、0.25、1.0、2.5、10和25 μ g/L的系列基质匹配标准工作溶液, 供液相色谱-串联质谱测定。以定量离子对峰面积为纵坐标, 标准溶液浓度为横坐标, 绘制基质匹配标准曲线。求回归方程和相关系数。

8.3 测定

8.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C₁₈ 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μ m) 或相当者;
- b) 流动相: 0.1%的甲酸溶液-0.1%甲酸乙腈(3+97, v/v);
- c) 流速: 0.3 mL/min;
- e) 柱温: 35 $^{\circ}$ C;
- f) 进样量: 10 μ L。

8.3.2 质谱参考条件

- 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 (MRM)。
- d) 毛细管电压: 2.0 KV。
- e) 锥孔电压: 30 V。

- f) RF透镜电压：0.5 V。
- g) 离子源温度：150 °C。
- h) 脱溶剂气温度：500 °C。
- i) 锥孔气流速：50 L/h。
- j) 脱溶剂气流速：1000 L/h。
- k) 倍增器电压：650 V。
- l) 二级碰撞气：氩气。
- m) 定性离子对、定量离子对、保留时间、锥孔电压和碰撞能量参考值见表1。

表1 定性离子对、定量离子对、碰撞能量和锥孔电压

药物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
盐霉素	773.5>431.3	773.5>431.3	8	54
	773.5>531.4			40

8.4 测定法

取试料溶液和基质匹配标准溶液，按8.3.1和8.3.2设定仪器条件操作，作单点或多点校准，外标法计算。基质匹配标准溶液及试料溶液中目标药物的特征离子质量色谱峰峰面积均应在仪器检测的线性范围之内，如超出线性范围，应将基质匹配标准溶液和试料溶液作相应稀释后重新测定。试料溶液中待测物质的保留时间与基质匹配标准工作液中待测物质的保留时间之比，偏差在±2.5%以内，且试料溶液中的离子相对丰度与基质匹配标准溶液中的离子相对丰度相比，符合表2的要求，则可判定为样品中存在对应的待测物质。标准溶液多反应监测色谱图见附录A。

表2 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

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

8.5 空白试验

取空白试料，除不加药物外，采用完全相同的操作步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试料中待测药物的残留量按标准曲线或公式（1）计算：

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

式中：

X ——试料中待测药物的残留量，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 ——试料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 ——定容体积，单位为毫升（ mL ）；

m ——试料的质量，单位为克（ g ）；

注：计算结果需扣除空白值。测定结果用两次平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

10 检测方法的灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法的检测限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.1 准确度

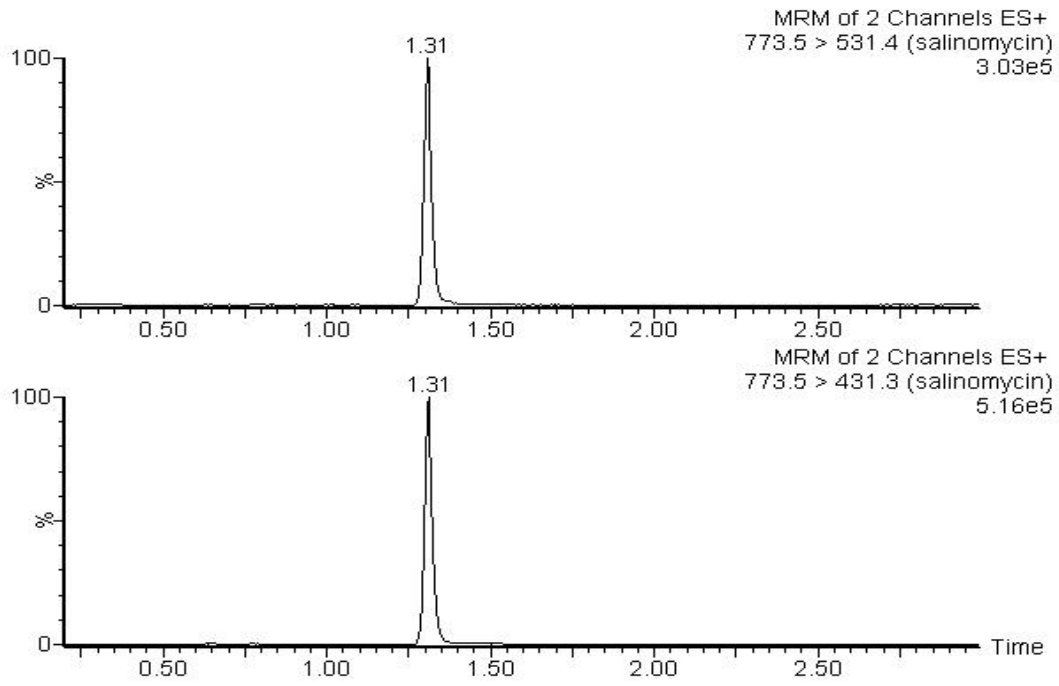
本方法盐霉素在 $1.0\sim 50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $60\%\sim 110\%$ 。

10.2 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 10\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 15\%$ 。

色谱图

牛肉基质匹配标准工作溶液特征离子色谱图见图A.1。



图A.1 牛肉基质匹配标准溶液(0.25 $\mu\text{g/L}$) MRM色谱图