ICS 67.120

CCS X 04

团 体 标 准

T /LAIA 003-2023

动物源性食品中8种α2-受体激动剂残留量检测方法

液相色谱-串联质谱法

Determination of eight kinds of alpha-2 agonists residues in animal-derived foods by Liquid chromatography —tandem mass spectrometry method

2024-12-12发布 2024-12-12实施

辽宁省分析测试协会 发 布

目次

[前言 II](#_Toc157601111)

[1 范围 3](#_Toc157601112)

[2 原理 3](#_Toc157601113)

[3 试剂或材料 3](#_Toc157601114)

[4 仪器设备 4](#_Toc157601115)

[5 试料的制备 4](#_Toc157601116)

[6 试验步骤 4](#_Toc157601129)

[7 结果计算 6](#_Toc157601130)

[8 精密度 6](#_Toc157601134)

1. 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。

本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国科学院沈阳应用生态研究所提出。

本文件由辽宁省分析测试协会归口。

本文件起草单位：丹东安德生物科技有限公司、辽宁大学、丹东海关综合技术服务中心、大连海关技术中心。

本文件主要起草人：李芳、于杰、胡风庆、张以圣、高世光、郝俊峰、张跃瀚、梁健健、李秋航、张鑫。

本文件为首次发布。

动物源性食品中8种α2-受体激动剂残留量检测方法

液相色谱-串联质谱法

范围

本文件规定了动物源性食品中胍那苄、溴莫尼定、可乐定、赛拉嗪、特拉唑嗪、利美尼定、美托咪定、赛庚啶液相色谱-串联质谱法（LC-MS-MS）测定方法。

本标准适用于适用于猪、牛、羊、鸡等动物的肌肉、肝脏和肾脏组织中胍那苄、溴莫尼定、可乐定、赛拉嗪、特拉唑嗪、利美尼定、美托咪定、赛庚啶的测定，检出限为1µg/kg。

原理

样品中残留的胍那苄、溴莫尼定、可乐定、赛拉嗪、特拉唑嗪、利美尼定、美托咪定、赛庚啶用甲酸水和甲醇溶液提取，经MCX固相萃取柱净化浓缩后，用液相色谱-串联质谱仪以选择离子监测（MRM）方式进行检测，化合物利用外标法定量。

试剂或材料

除特别注明外，本标准所用试剂均为分析纯试剂，水为超纯水，符合GB/T 6682规定的一级水。

胍那苄、溴莫尼定、可乐定、赛拉嗪、特拉唑嗪、利美尼定、美托咪定、赛庚啶标准品：纯度≥95%。

甲酸：色谱纯。

乙腈：色谱纯。

甲醇：分析纯。

氨水：分析纯。

MCX（混合阳离子交换柱）固相萃取小柱，60mg/3mL，或等效阳离子交换柱。

0.2%甲酸-水：移取2mL甲酸至1L水中，混合均匀。

试样提取液：100mL 0.2%甲酸-水溶液与900mL甲醇混合均匀。

0.2%甲酸水-乙腈溶液（8+2）：量取800mL 0.2%甲酸-水和200mL乙腈混合均匀。

0.1%甲酸水：移取1mL甲酸至1L水中，混合均匀。

有机相滤膜：0.45μm。

标准贮备溶液：

称取胍那苄、溴莫尼定、可乐定、赛拉嗪、特拉唑嗪、利美尼定、美托咪定、赛庚啶标准品10.0mg(精确至0.0001g)，置于100mL容量瓶中用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀即得。制成100μg/mL的溶液，作为标准储备液，置4℃保存，储存期为3个月。

标准工作液：

准确移取标准储备液1mL 置100mL容量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，得到1.0μg/mL标准工作液，置4℃保存，储存期为1个月。

仪器设备

液相色谱-串联质谱仪。

电子天平。

离心机。

氮吹仪。

振荡器。

涡旋混合器。

超声仪。

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。

样品在-20°C以下保存。

试验步骤

**提取**

称取2.00g样品于50mL离心管中，加10mL试样提取液振荡混匀，超声提取30min，于8000r/min离心10min，上清液待净化。

净化

MCX固相萃取柱依次用3mL甲醇、3mL水活化，将提取液过已活化的固相萃取柱，全部弃去，用3mL水、3mL甲醇淋洗，抽干后用3mL 5%氨水甲醇洗脱，收集洗脱液于玻璃试管中，在55℃下氮气吹干，用1mL 0.2%甲酸水-乙腈溶液（8+2）溶解残留物，过0.45μm滤膜，待上机检测。

基质匹配标准曲线的制备

准确量取混合标准工作液适量，用空白样品提取液稀释，配制成α2-受体激动剂类药物浓度为2ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、50ng/mL的系列基质标准工作液，现用现配。以特征离子质量色谱峰面积为纵坐标、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。

测定

* + - 1. 液相色谱条件

色谱柱：VC-C18，2.1\*100mm，2.5μm或相当者

柱温：25℃

流速：0.2mL/min

进样量：5µL

运行时间：16min

流动相：A：0.1%甲酸水，B，乙腈，流动相梯度见表1。

1. 流动相的梯度洗脱程序

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间/min | A/% | B/% |
| 0 | 100 | 0 |
| 2.00 | 100 | 0 |
| 5.00 | 50 | 50 |
| 10.00 | 0 | 100 |
| 12.00 | 0 | 100 |
| 14.00 | 100 | 0 |
| 16.00 | 100 | 0 |

* + - 1. 质谱条件

1. 离子化模式：正离子模式（ESI+）。
2. 质谱扫描方式：多反应监测（MRM）。
3. 气帘气：35 psi。
4. 雾化气：55 psi。
5. 辅助气：55 psi。
6. 电喷雾电压：5500 V。
7. 离子源温度：550 ℃

定性、定量离子及对应的锥孔电压和碰撞电压见附录A。

* + - 1. 质谱条件
    1. 液相色谱-质谱/质谱测定

定性测定

试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±2.5%之内。

每种化合物的质谱定性离子应出现，至少应包括一个母离子和两个子离子，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表2规定的范围。

1. 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 相对离子丰度/% | ＞50 | ＞20~50 | ＞10~20 | ≤10 |
| 允许的相对偏差/% | ±20 | ±25 | ±30 | ±50 |

定量测定

根据样液中各化合物浓度，选定峰面积相近的标准工作溶液，标准工作溶液及样液中各化合物响应值应在仪器检测线性范围内。

* + 1. 检出限

胍那苄、溴莫尼定、可乐定、赛拉嗪、特拉唑嗪、利美尼定、美托咪定、赛庚啶的检出限均为1µg/kg。

结果计算

结果按式(1)计算：

 (1)

式中：

*X*—试样中各化合物含量，单位为微克每千克（μg/kg）；

*c*—从标准工作曲线上得到的被测组分溶液浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

*V* —定容体积，单位为毫升（mL）；

*m* —试样溶液所代表试样的质量，单位为克（g）。

精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对值不得超过算术平均值的10％。



（资料性附录）

8种α2-受体激动的质谱测定参数

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 化合物名称Compound | 母离子  Mother ion(m /z) | 子离子  Daughter ion(m/z) | 锥孔电压  Cone voltage(V) | 碰撞能量  Collision energy(eV) |
| 胍那苄 | 231.0 | 172.0 | 65 | 30 |
| 85.0 | 20 |
| 溴莫尼定 | 292.0 | 212.3 | 90 | 40 |
| 170.2 | 50 |
| 可乐定 | 230.0 | 213.0 | 80 | 35 |
| 160.2 | 45 |
| 赛拉嗪 | 221.2 | 90.2 | 75 | 30 |
| 164.3 | 35 |
| 特拉唑嗪 | 388.2 | 290.2 | 100 | 38 |
| 247.2 | 43 |
| 利美尼定 | 181.1 | 95.1 | 40 | 10 |
| 67.1 | 16 |
| 美托咪定 | 201.0 | 94.9 | 65 | 25 |
| 68.2 | 45 |
| 赛庚啶 | 288.1 | 191.1 | 95 | 42 |
| 96.2 | 34 |

附 录 B

8种α2-受体激动剂的定量离子色谱图

 