

# 中华人民共和国国家标准

GB 31660.6—2019

---

## 食品安全国家标准 动物性食品中 5 种 $\alpha_2$ -受体激动剂残留量 的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-

Determination of five kinds of alpha-agonists residues in animal  
derived food by liquid chromatography- tandem mass spectrometry method

2019-09-06 发布

2020-04-01 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

本标准系首次发布。

**食品安全国家标准**  
**动物性食品中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂残留量的测定**  
**液相色谱-串联质谱法**

## 1 范围

本标准规定了动物性食品中5种 $\alpha_2$ -受体激动剂的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于猪肌肉、肝脏和肾脏组织及鸡肌肉和肝脏组织中替扎尼定、赛拉嗪、溴莫尼定、安普乐定和可乐定残留量的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 原理

试样中残留的 $\alpha_2$ -受体激动剂，用碳酸钠缓冲溶液、乙酸乙酯提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱测定，外标法定量。

## 4 试剂和材料

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。

### 4.1 试剂

4.1.1 乙腈（CH<sub>3</sub>CN）：色谱纯。

4.1.2 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

4.1.3 甲醇（CH<sub>3</sub>OH）。

4.1.4 氨水（NH<sub>4</sub>OH）。

4.1.5 无水碳酸钠（Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>）。

4.1.6 碳酸氢钠（NaHCO<sub>3</sub>）。

4.1.7 乙酸乙酯（CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>）。

### 4.2 溶液配制

4.2.1 碳酸钠溶液：取无水碳酸钠 10.6 g，用水溶解并稀释至 100 mL。

4.2.2 碳酸氢钠溶液：取碳酸氢钠 8.4 g，用水溶解并稀释至 100 mL。

4.2.3 碳酸钠缓冲溶液：取碳酸钠溶液 90 mL、碳酸氢钠溶液 10 mL，混匀，现用现配。

4.2.4 甲酸溶液（0.2%）：取甲酸 1 mL，用水溶解并稀释至 500 mL。

4.2.5 甲酸-乙腈溶液：取 0.2%甲酸溶液 80 mL，加乙腈 20 mL，混匀。

4.2.6 氨水甲醇溶液（5%）：取氨水 5 mL，用甲醇溶解并稀释至 100mL。

### 4.3 标准品

盐酸替扎尼定（Tizanidine hydrochloride, C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>ClN<sub>5</sub>S HCl, CAS:64461-82-1）、盐酸赛拉嗪（Xylazine Hydrochloride, C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>S, CAS:7361-61-7）、溴莫尼定（Brimonidine, C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>BrN<sub>5</sub>, CAS:59803-98-4）、盐酸安普乐定（Apraclonidine hydrochloride, C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub> HCl,

CAS:73218-79-8)和盐酸可乐定(Clonidine hydrochloride,  $C_9H_{10}Cl_3N_3$ , CAS:4205-91-8):含量均 $\geq 98\%$ 。

#### 4.4 标准溶液制备

4.4.1 标准贮备液:取盐酸替扎尼定、盐酸赛拉嗪、溴莫尼定、盐酸安普乐定和盐酸可乐定标准品各约10mg,精密称定,分别于10 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,配制成浓度均为1 mg/mL的盐酸替扎尼定、盐酸赛拉嗪、溴莫尼定、盐酸安普乐定和盐酸可乐定标准贮备液。2~8℃保存,有效期6个月。

4.4.2 混合标准工作液:分别精密量取上述标准贮备液各1 mL,于100 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,配制成浓度为10  $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液。于2~8℃保存,有效期1个月。

4.4.3 标准曲线制备:分别精密量取混合标准工作液适量,用甲酸-乙腈溶液稀释配制成浓度为0.5、1、10、50和100  $\mu\text{g/L}$ 系列混合标准工作液,临用现配。

#### 4.5 材料

4.5.1 固相萃取MCX柱:60mg/3mL,或相当者。

4.5.2 滤膜:有机相,0.22  $\mu\text{m}$ 。

### 5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪:带电喷雾电离源。

5.2 分析天平:感量0.00001 g和0.01 g。

5.3 均质机。

5.4 离心机。

5.5 涡旋振荡器。

5.6 旋转蒸发器。

5.7 固相萃取装置。

5.8 鸡心瓶。

5.9 离心管:50 mL。

### 6 试料的制备与保存

#### 6.1 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。

#### 6.2 样品的保存

-20℃以下保存。

## 7 测定步骤

### 7.1 提取

取试料2 g (准确至±20mg)，于50 mL离心管中，加碳酸钠缓冲液5 mL，振荡混匀，加乙酸乙酯10 mL，充分振荡，于8000 r/min离心5 min，取上清液于鸡心瓶中，下层溶液中加乙酸乙酯10 mL重复提取一次，合并两次上清液。于55℃旋转蒸发至干，加甲酸-乙腈溶液4.0mL溶解残余物，备用。

### 7.2 净化

MCX柱依次用甲醇、水各3 mL活化。取备用液过柱，用水3 mL、甲醇3 mL分别淋洗，挤干，氨水甲醇溶液6 mL洗脱，收集洗脱液，于60℃旋转蒸发至干，用甲酸-乙腈溶液1.0 mL溶解残余物，滤过，液相色谱-串联质谱测定。

### 7.3 测定

#### 7.3.1 色谱条件

- a) 色谱柱: C<sub>18</sub> (100 mm×3.0 mm, 粒径 1.8 μm), 或相当者;
- b) 柱温: 30℃;
- c) 进样量: 10 μL;
- d) 流速: 0.3 mL/min;
- e) 流动相: A: 乙腈; B: 0.2%甲酸溶液, 梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

时间 min	A: 乙腈 %	B: 0.2%甲酸溶液 %
0.0	10	90
3.0	30	70
4.0	30	70
4.5	80	20
5.5	80	20
5.6	10	90

#### 7.3.2 质谱条件

- 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;
- d) 离子源温度: 150℃;

e) 脱溶剂温度: 500℃;

f) 毛细管电压: 3.0 V;

g) 定性离子对、定量离子对及锥孔电压和碰撞能量见表 2。

表 2 5 种  $\alpha_2$  受体激动剂类药物的质谱参数

被测物名称	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	锥孔电 压 V	碰撞能量 eV
替扎尼定	254.1>44.1	254.1>44.1	38	22
	254.1>210.0			30
赛拉嗪	221.1>90.0	221.1>90.0	30	22
	221.1>164.0			26
溴莫尼定	292.2>170.2	292.2>212.3	40	35
	292.2>212.3			30
安普乐定	245.2>174.2	245.2>174.2	40	28
	245.2>209.2			20
可乐定	230.0>160.0	230.0>213.0	43	34
	230.0>213.0			24

## 7.4 测定法

### 7.4.1 定性测定

在同样测试条件下, 试样液中  $\alpha_2$ -受体激动剂的保留时间与标准工作液中相应  $\alpha_2$ -受体激动剂的保留时间之比, 偏差在  $\pm 5\%$  以内, 且检测到离子的相对丰度, 应当与浓度相当的校正标准溶液相对丰度一致, 其允许偏差应符合表 3 要求。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许误差

相对离子丰度 %	>50	20~50	10~20	$\leq 10$
允许的最大偏差 %	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

### 7.4.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准工作液, 按外标法以峰面积定量, 标准工作液及试样溶液中的  $\alpha_2$ 受体激动剂类响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述条件下,  $\alpha_2$ 受体激动剂标准溶液特征离子质量色谱图见附录A。

## 7.5 空白试验

除不加试料外, 采用完全相同的步骤进行平行操作。

## 8 结果计算和表述

试料中待测药物的残留量按式 (1) 计算:

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

式中：

- $X$ ——供试试料中相应的 $\alpha_2$ 受体激动剂类药物残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；
- $C_s$ ——标准溶液中相应的 $\alpha_2$ 受体激动剂类药物浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；
- $A$ ——试样溶液中相应的 $\alpha_2$ 受体激动剂类药物的色谱峰面积；
- $A_s$ ——标准溶液中相应的 $\alpha_2$ 受体激动剂类药物色谱峰面积；
- $V$ ——溶解残余物所用的溶液体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；
- $m$ ——供试试料质量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。

## 9 检测方法灵敏度、准确度和精密度

### 9.1 灵敏度

本方法的检测限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 9.2 准确度

本方法在 $1 \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $60\% \sim 100\%$ 。

### 9.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附录A  
(资料性附录)  
特征离子质量色谱图

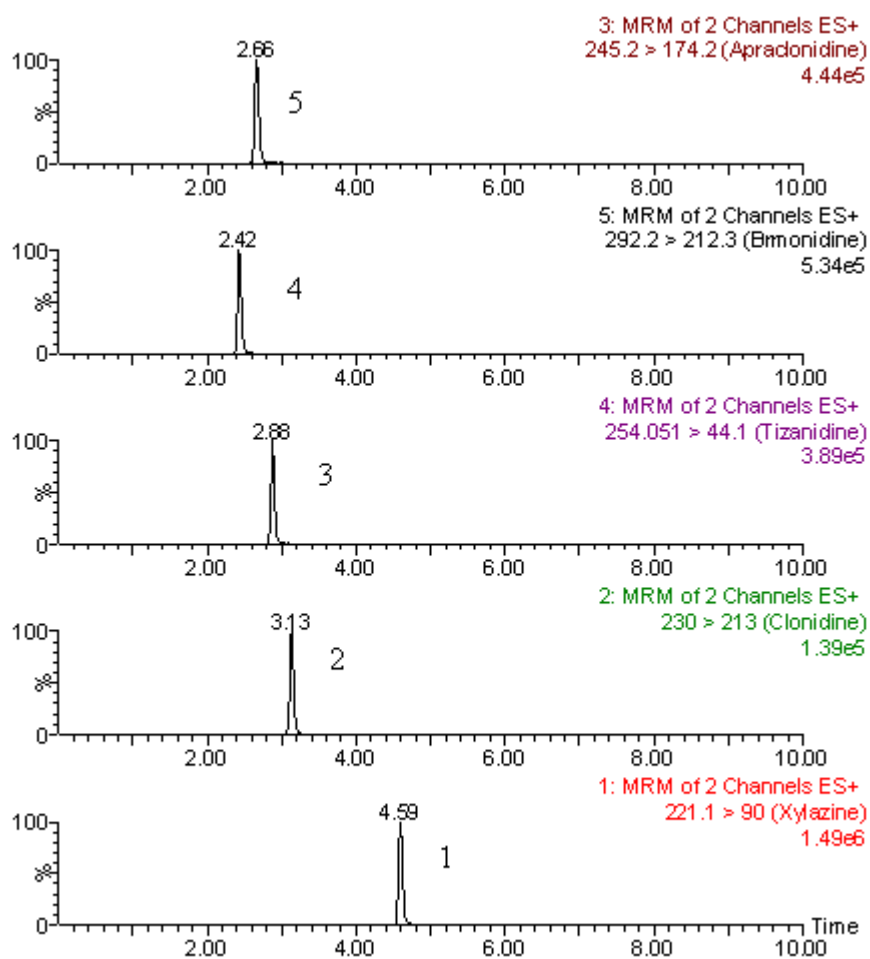


图 A.1 10  $\mu\text{g/L}$   $\alpha_2$ 受体激动剂类药物标准溶液特征离子质量色谱图

- 1-赛拉嗪特征离子质量色谱图 (221.1>90.0)
- 2-可乐定特征离子质量色谱图 (230.0>213.0)
- 3-替扎尼定特征离子质量色谱图 (254.1>44.1)
- 4-溴莫尼定特征离子质量色谱图 (292.2>212.3)
- 5-安普乐定特征离子质量色谱图 (245.2>174.2)