

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2160—2008

动物源食品中氢化泼尼松残留量检测方法 气相色谱-质谱/质谱法

Determination of prednisolone residues in animal food—
GC-MS/MS method

2008-09-04 发布

2009-03-16 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准由中国检验检疫科学研究院负责起草。

本标准主要起草人：仲维科、丁罡斗、李翔、李礼、刘汉霞、张垚、孙毅之。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

动物源食品中氢化泼尼松残留量检测方法

气相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了动物源食品中氢化泼尼松残留量的检测方法。

本标准适用于动物源食品中氢化泼尼松残留量的检测。

2 测定方法

2.1 方法提要

样品用乙腈提取,经 C₁₈ 固相萃取柱净化,净化后的氢化泼尼松在酸性条件下用 K₂Cr₂O₇ 快速氧化衍生,气相色谱-二级质谱法(GC-MS²)检测,外标法定量。

2.2 试剂与材料

2.2.1 甲醇(色谱纯)。

2.2.2 乙腈(色谱纯)。

2.2.3 丙酮(色谱纯)。

2.2.4 正己烷(色谱纯)。

2.2.5 二氯甲烷(色谱纯)。

2.2.6 乙酸乙酯(色谱纯)。

2.2.7 乙醇(色谱纯)。

2.2.8 氢化泼尼松标准品(prednisolone,CAS#:50-24-8,分子式 C₂₁H₂₈O₅):纯度≥99%。

2.2.9 氢化泼尼松标准储备溶液:10 mg/L 无水甲醇。

2.2.10 乙酸-乙酸钠缓冲溶液(pH4.6,在 158 mL 乙酸钠溶液中加入 42 mL 乙酸)。

2.2.11 酸性 K₂Cr₂O₇ 溶液(取 18 mL 水,加入 2 mL 浓硫酸,再加 1.0 gK₂Cr₂O₇)。

2.2.12 酶解汁(含 β-葡萄糖醛苷酶和磺酯酶,大于≥10 000 000 μ/g)。

2.2.13 C₁₈ 固相萃取柱(3 mL,500 mg)。

2.2.14 碳酸氢钠溶液(10%)。

2.3 仪器和设备

2.3.1 气相色谱-离子质谱(EI 源)。

2.3.2 氮吹仪。

2.3.3 高速离心机。

2.3.4 振荡器。

2.3.5 涡旋振荡器。

2.3.6 固相萃取装置。

2.3.7 超声清洗器。

2.4 测定步骤

2.4.1 提取

称取 10.00 g 组织样品(猪肉、猪肝和猪肾)于组织捣碎器中粉碎成浆状,置于 50 mL 离心管内,加入 15 mL pH4.6 的乙酸-乙酸钠缓冲溶液,再加入 200 μL 酶解汁,振荡 10 min、超声 15 min 后于 60 °C 水浴中加热 2 h。冷却后加入 20 mL 乙腈并振荡 30 min,以 7 500 r/min 离心分离 20 min,将上层乙腈

转移至另一离心管内,加入 8 mL 正己烷、2 mL 二氯甲烷后振荡,再以 4 500 r/min 离心 5 min,然后移取中间层至比色管内并在 50 °C 条件下氮气吹干。将吹干后的残渣用 1 mL 乙醇涡旋溶解,再加入 9 mL 水混匀,备过 C₁₈ 柱。

2.4.2 净化

C₁₈ 小柱分别用 5 mL 甲醇和 5 mL 水活化,5 mL 乙醇-水(体积比 1:9)平衡,加入上述乙醇上样溶液后,依次用 5 mL 水、5 mL 丙酮-水(体积比 1:9)、3 mL 甲醇-水(体积比 4:6)淋洗并抽干,再用 5 mL 正己烷淋洗,最后用 2 mL 乙酸乙酯洗脱,收集洗脱液并用氮气吹干。

2.4.3 衍生化

将上述残渣用 100 μL 乙腈复溶,加 100 μL 酸性 K₂Cr₂O₇ 氧化液并混匀,于 60 °C 水浴中加热 18 min,冷却后依次加入 200 μL 10% 碳酸钠溶液、1 mL 去离子水、3 mL 二氯甲烷,超声提取 10 min 后于 4 500 r/min 离心 5 min。将下层有机相转移、氮气吹干,加乙酸乙酯定容至 1 mL,用于 GC-MS/MS 测定。

2.4.4 测定

2.4.4.1 仪器条件

- a) 色谱柱:DB-5 或其他性能相当的柱子(30 m×0.25 mm×0.25 μm);
- b) 色谱柱温度:70 °C(保持 1 min),以 25 °C/min 升温至 270 °C(保持 0 min),再以 15 °C/min 升温至 310 °C(保持 2 min);
- c) 进样口温度:280 °C;
- d) 离子源温度:250 °C;
- e) 传输线温度:280 °C;
- f) 离子源:电子轰击电离源;
- g) 测定方式:二级质谱监测模式检测(MS/MS);
- h) 监测离子:氢化泼尼松母离子 m/z 160,子离子 m/z 131、145;
- i) 载气:高纯 He,纯度≥99.999%;
- j) 进样方式:不分流进样;
- k) 进样量:1 μL;
- l) 电离能量:70 eV;
- m) 载气流量:1.0 mL/min;
- n) 碰撞诱导解离(CID)电压为:1.0 V。

2.4.4.2 色谱-质谱确证和测定

在上述仪器条件下(2.4.4.1)经氧化衍生的氢化泼尼松保留时间约为 12.37 min。气相色谱-二级质谱监测模式检测的总离子流图见附录 A 图 A.1,采用氢化泼尼松的二级碎片离子为定量离子,其 m/z 为 145。符合下列条件,即可确定样品中含有氢化泼尼松:在保留时间 12.37 min 附近有峰出现,选定的质谱碎片离子在样品的二级质谱监测图中都能出现,样品峰的质谱图中母离子与子离子丰度比 5%~20% 之间。气相色谱-质谱图参见附录 A 图 A.2 和图 A.3。

2.4.5 空白试验

除不加试样外,按上述测定步骤进行。

2.5 结果计算

计算见式(1):

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

式中:

X——试样中氢化泼尼松残留含量,单位为微克每克(μg/g);

A ——样液中氢化泼尼松的峰面积；

A_s ——标准工作溶液中氢化泼尼松的峰面积；

c ——标准工作溶液中氢化泼尼松浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$)；

V ——样液最终定容体积,单位为毫升(mL)；

m ——试样的质量,单位为克(g)。

注: 计算结果需将空白值扣除。

3 检出限、线性范围、精密度及回收率

3.1 检出限

本标准检出限为: $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

3.2 线性范围

氢化泼尼松标准品浓度在 $1 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时线性相关系数大于 0.99。

3.3 精密度和回收率

氢化泼尼松添加浓度在 $1 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 200 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时,相对标准偏差为 $8\% \sim 18\%$,平均回收率为 $56\% \sim 85\%$ (见表 1)。

表 1 回收率和精密度试验结果($n=8$)

添加浓度/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	猪 肝		猪 肾		猪 肉	
	回收率均 值/%	相对标准 偏差/%	回收率均 值/%	相对标准 偏差/%	回收率均 值/%	相对标准 偏差/%
1	81	12	81	8	73	11
10	79	11	75	13	68	9
50	76	9	72	9	66	12
100	79	13	85	11	75	16
200	71	12	69	12	56	18

附录 A
(资料性附录)
标准物衍生化后的气相色谱-质谱图

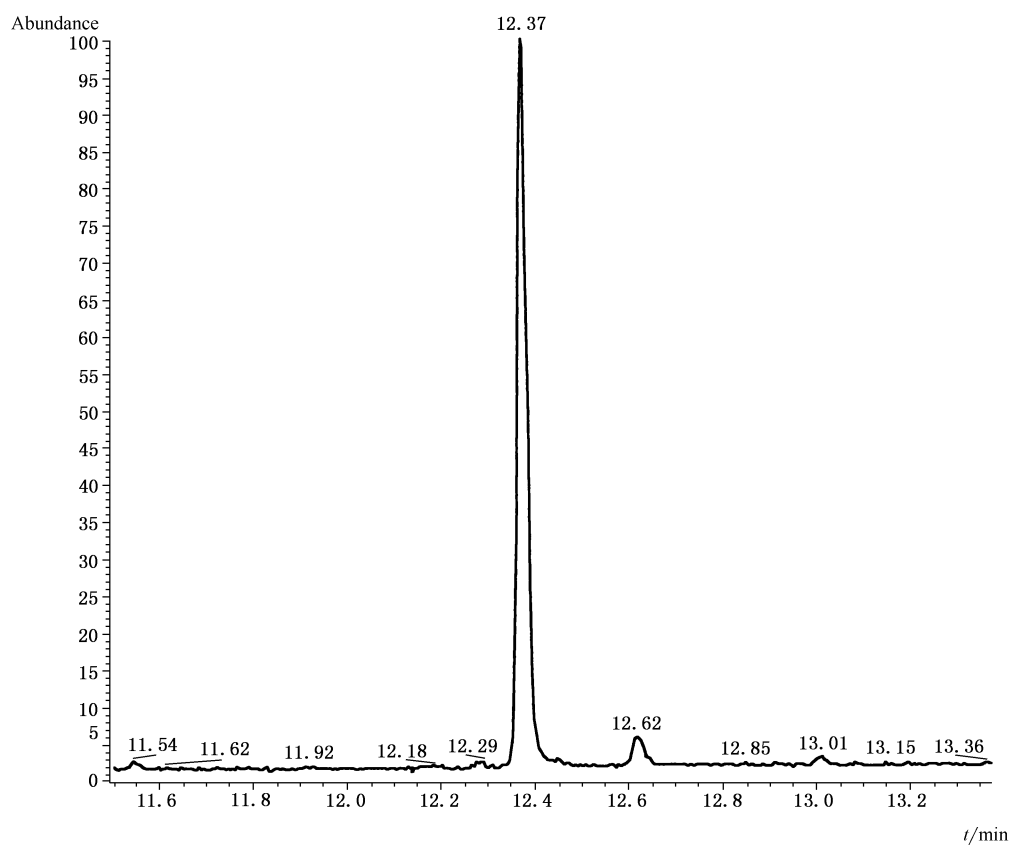


图 A.1 氢化泼尼松标准品衍生物气相色谱-二级质谱监测模式的总离子流图

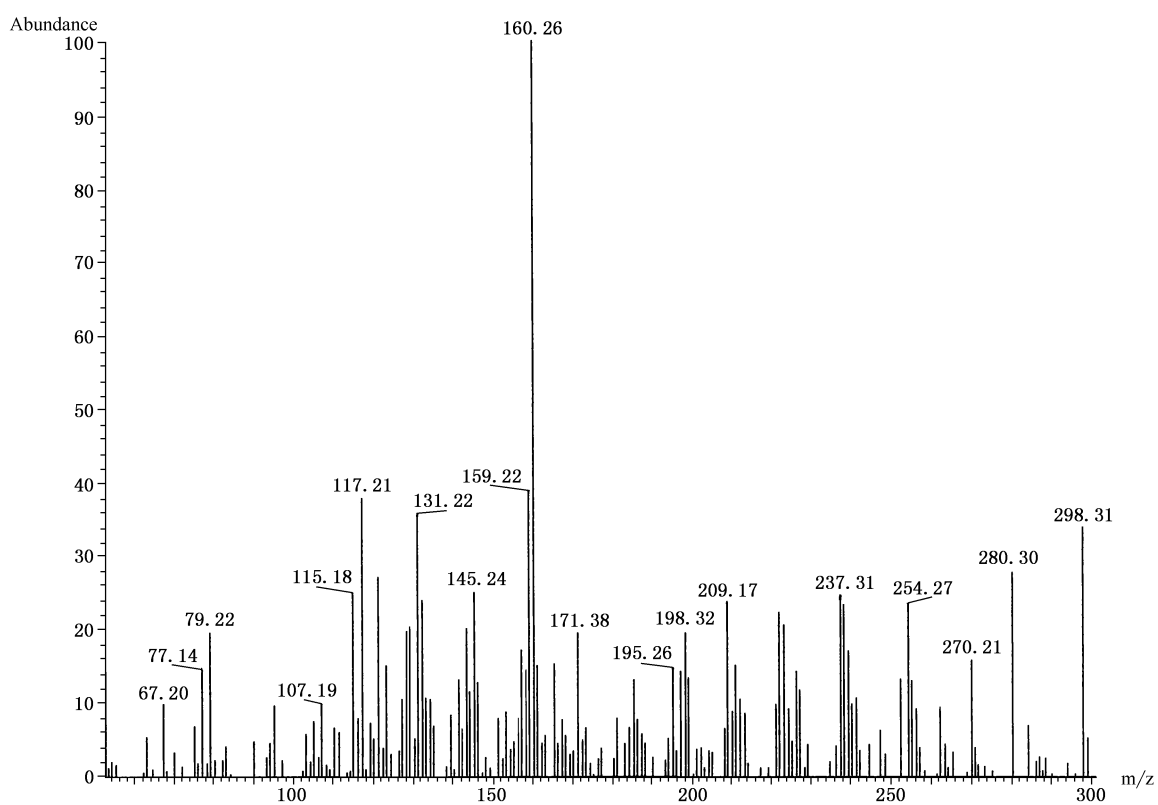


图 A.2 氢化泼尼松标准品衍生物气相色谱-全扫描质谱图

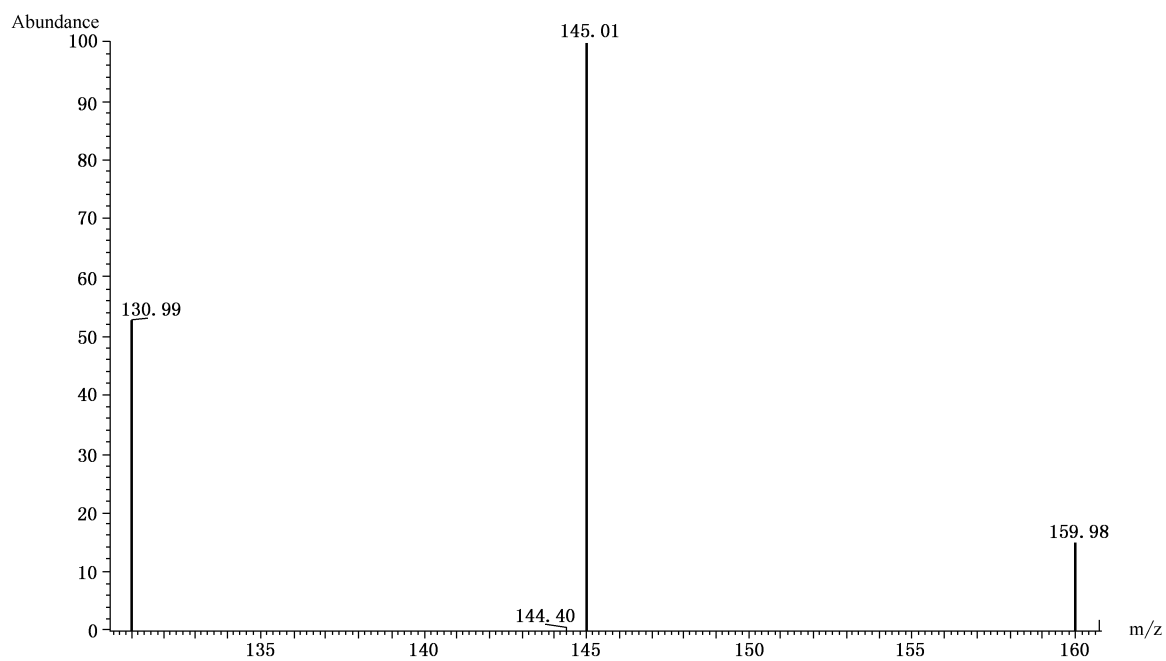


图 A.3 氢化泼尼松标准品衍生物气相色谱-二级质谱监测模式的质谱图 (MS/MS)

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
动物源食品中氢化泼尼松残留量检测方法
气相色谱-质谱/质谱法
SN/T 2160—2008

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn
电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 25 千字
2008年11月第一版 2008年11月第一次印刷
印数 1—2 000

*

书号: 155066·2-19270 定价 12.00 元



SN/T 2160-2008