



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

食品安全国家标准

动物尿液中 23 种 β -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 23 beta-agonists residues in animal urine

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

本文件按照GB/T 1.1-2020和GB/T 20001.4-2015颁布的规则起草。本文件代替农业部第1063号公告-3-2008《动物尿液中11种 β -受体激动剂的检测 液相色谱-串联质谱法》。

与农业部1063号公告-3-2008标准相比,主要变化如下:

- 文件文本格式修改为食品安全国家标准文本格式;
- 增加了 β -受体激动剂种类,由11种增加到23种;
- 原理中“氢氧化钠调节pH”改为“盐酸溶液调节pH”,“内标法定量”改为“外标法定量”;
- 删除了“同位素内标,同位素内标储备液和同位素内标工作液”。

本文件所代替文件的历次版本发布情况为:

- 农业部1063号公告-3-2008。

食品安全国家标准

动物尿液中 23 种 β -受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了动物尿液中23种 β -受体激动剂残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于猪尿、牛尿、羊尿中氯丙那林、西马特罗、特布他林、妥布特罗、西布特罗、沙丁胺醇、克伦普罗、克伦特罗、利托君、喷布特罗、异克舒令、莱克多巴胺、非诺特罗、马布特罗、克伦赛罗、马喷特罗、拉贝特罗、福莫特罗、苯乙醇胺A、溴布特罗、班布特罗、沙美特罗、齐帕特罗23种 β -受体激动剂残留量的测定。

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

试样中残留的药物经盐酸溶液调节pH，酸解后离心，直接通过混合型阳离子交换柱富集净化，洗脱液浓缩后，用酸化的甲酸水-乙腈混合溶液溶解，供液相色谱-串联质谱仪检测，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 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

5.1.2 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

5.1.3 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。

5.1.4 乙酸铵（ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ）：色谱纯。

5.1.5 盐酸（ HCl ）。

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

5.2 溶液的配制

5.2.1 5 mol/L 盐酸溶液：准确量取 42 mL 盐酸，加水定容至 100 mL，混匀。

5.2.2 0.2%的甲酸-水/甲醇 (95+5) 溶液：准确量取 25 mL 甲醇和 1 mL 甲酸，用水稀释定容至 500 mL，混匀。

5.2.3 5%氨水-甲醇溶液：准确量取 5 mL 氨水，用甲醇稀释定容至 100 mL，混匀。

5.2.4 0.2%的甲酸-水/乙腈 (80+20) 溶液：准确量取 20 mL 乙腈和 0.2 mL 甲酸，用水定容至 100 mL，混匀。

5.2.5 5 mmol/L 乙酸铵-0.2%甲酸溶液：准确量取 2 mL 甲酸和称取 385 mg 乙酸铵，用水定容至 1000 mL，混匀。

5.3 标准品

氯丙那林、西马特罗、特布他林、妥布特罗、西布特罗、沙丁胺醇、克伦普罗、克伦特罗、利托君、喷布特罗、异克舒令、莱克多巴胺、非诺特罗、马布特罗、克伦赛罗、马喷特罗、拉贝特罗、福莫特罗、苯乙醇胺 A、溴布特罗、班布特罗、沙美特罗、齐帕特罗，含量均 $\geq 95\%$ ，具体内容见附录 A。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液：称取 β -受体激动剂标准品各适量（相当于活性成分 10.0 mg，精确至 0.0001 g），分别采用甲醇溶解并定容于 10 mL 棕色容量瓶中，配制成浓度 1.0 mg/mL 的 β -受体激动剂标准储备液。-18 $^{\circ}\text{C}$ 条件下冷冻保存，有效期为 12 个月。

5.4.2 混合标准中间溶液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)：准确量取 β -受体激动剂标准储备溶液各 100 μL ，用甲醇稀释并定容于 10 mL 棕色容量瓶中，摇匀。混合标准中间溶液中 23 种 β -受体激动剂的浓度均为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。-18 $^{\circ}\text{C}$ 条件下冷冻保存，有效期为 3 个月。

5.4.3 混合标准工作液 (100 $\mu\text{g}/\text{L}$)：准确量取 β -受体激动剂混合标准中间溶液 100 μL ，用 0.2%的甲酸-水/乙腈 (80+20) 溶液稀释并定容于 10 mL 棕色容量瓶中，配成浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 β -受体激动剂混合标准工作液。临用现配。

5.5 材料

5.5.1 混合型阳离子固相萃取小柱：60 mg/3 mL，或性能相当者。

5.5.2 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 仪器与设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾电离源。

6.2 分析天平：感量 0.00001 g。

6.3 涡旋振荡器。

6.4 离心机：转速不低于 5000 r/min。

- 6.5 超声波震荡仪。
- 6.6 固相萃取装置。
- 6.7 氮吹仪。
- 6.8 pH计或精密pH试纸。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试样品，使用前恢复室温，混匀，如有混浊，离心后取上清液备用。

- a) 取备用的供试样品，作为供试试样。
- b) 取备用的空白样品，作为空白试样。
- c) 取备用的空白样品，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

供试试样或空白试样应尽快置于-18℃以下冷冻保存。

8 测定步骤

8.1 提取

取试样（ 5 ± 0.05 ）mL，于15 mL离心管中，用5 mol/L盐酸溶液调节pH至2.0~3.0，辅以加热超声30 min（温度 45 ± 2 ℃），5000 r/min离心5 min，取上清液备用。

8.2 净化

取混合型阳离子固相萃取小柱，依次用3 mL甲醇、3 mL水活化。取备用液全部过柱，用2 mL 0.2%的甲酸-水/甲醇（95+5）溶液淋洗，抽干2 min，用5%氨水甲醇溶液5 mL洗脱，收集洗脱液，于50℃水浴氮气吹干，用0.2%的甲酸-水/乙腈（80+20）溶液1.0 mL溶解，涡旋振动1 min，超声震动2 min，经0.22 μm滤膜过滤后进样测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

取空白试样5.0 mL于15 mL离心管中，按8.1与8.2中步骤操作后获得空白试样的基质溶液。精密量取混合标准中间溶液或标准工作液适量，用空白试样基质溶液配制成浓度为0.2 μg/L，0.5 μg/L，1 μg/L，2 μg/L，5 μg/L，10 μg/L，25 μg/L的系列标准工作液，上机测定。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。若需使用单点校准，则必须配制在此标准曲线进样浓度范围（0.2 μg/L~25 μg/L）内的与样品溶液进样浓度最接近的基质匹配对照品溶液进行校准，标准曲线的线性相关系数应不低于0.99。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C₁₈色谱柱（100 mm×3.0 mm，2.7 μm），或相当者；

- b) 流动相: A: 5 mmol/L乙酸胺-0.2%甲酸溶液, B: 乙腈, 梯度洗脱条件见表1;
- c) 流速: 0.4 mL/min;
- d) 柱温: 30 °C;
- e) 进样量: 5 μ L。

表1 流动相梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	95	5
1.0	95	5
3.0	70	30
4.0	60	40
7.0	5	95
8.0	5	95
8.5	95	5
10.0	95	5

8.4.2 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) 脱溶剂气、锥孔气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适气体, 使用前各气体流量应调节至质谱灵敏度达到检测要求;
- e) 毛细管电压、锥孔电压、碰撞能量等值应优化至最佳灵敏度;
- f) 定性离子对、定量离子对及对应的锥孔电压和碰撞能量见表2。

表2 23种 β -受体激动剂定性、定量离子对、锥孔电压及碰撞能量的参考值

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
氯丙那林	214.1>118.7	214.1>154.1	52	26
	214.1>154.1			16
西马特罗	220.1>143.0	220.1>143.0	30	24
	220.1>160.1			15
特布他林	226.1>152.0	226.1>170.0	30	16
	226.1>170.0			12
妥布特罗	228.1>154.0	228.1>154.0	30	15
	228.1>172.0			12
西布特罗	234.2>143.1	234.2>160.1	30	25
	234.2>160.1			15

沙丁胺醇	240.2>148.1	240.2>148.1	30	20
	240.2>222.1			12
克伦普罗	263.1>203.0	263.1>245.0	25	20
	263.1>245.0			14
克伦特罗	277.1>132.0	277.1>203.0	30	28
	277.1>203.0			15
利托君	288.3>120.9	288.3>120.9	25	21
	288.3>150.0			16
喷布特罗	292.1>74.1	292.1>236.2	62	22
	292.1>236.2			14
异克舒令	302.0>107.0	302.0>150.0	25	30
	302.0>150.0			25
莱克多巴胺	302.0>164.1	302.0>164.1	30	15
	302.0>284.2			12
非诺特罗	304.2>107.0	304.2>135.1	30	18
	304.2>135.1			20
马布特罗	311.1>217.1	311.1>237.1	25	25
	311.1>237.1			15
克仑赛罗	319.1>203.0	319.1>301.0	25	20
	319.1>301.0			14
马喷特罗	325.1>237.0	325.1>237.0	25	15
	325.1>307.1			12
拉贝特罗	329.0>207.0	329.0>207.0	25	25
	329.0>311.0			20
福莫特罗	345.0>120.9	345.0>149.0	25	20
	345.0>149.0			30
苯乙醇胺 A	345.0>150.0	345.0>327.0	30	25
	345.0>327.0			20
溴布特罗	367.0>293.0	367.0>293.0	25	18
	367.0>349.0			12
班布特罗	368.0>72.0	368.0>72.0	25	30
	368.0>294.0			20
沙美特罗	416.3>380.0	416.3>398.3	25	18
	416.3>398.3			15
齐帕特罗	262.2>202.1	262.2>185.1	25	18
	262.2>185.1			22

8.5 测定法

8.5.1 定性测定

在相同测试条件下，试样溶液中待测物质的保留时间与基质标准溶液中 β -受体激动剂相应组分的保留时间的偏差在 ± 0.1 min 以内，且检测到的相对离子丰度，应当与浓度相当的基质标准溶液相对丰度一致，其允许偏差为 $\pm 40\%$ 。

8.5.2 定量测定

取试样溶液和基质匹配标准溶液，作单点或多点校准，以色谱峰面积定量，按外标法计算。标准溶液和试样溶液中待测物的响应值均应在仪器检测的线性范围内，如超出线性范围，应用0.2%的甲酸-水/乙腈（80+20）溶液稀释后，重新测定。23种β-受体激动剂标准溶液的液相色谱-串联质谱特征离子质量色谱图参见附录B。

8.6 空白试验

取空白试料，除不加标准溶液外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中β-受体激动剂残留量按标准曲线或公式（1）计算。

$$X_i = \frac{C_{Si} \times A_i \times V_{2i}}{A_{Si} \times V_{1i}} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X_i —试样中 β-受体激动剂残留量的数值，单位为微克每升（μg/L）；

C_{Si} —基质匹配标准溶液中 β-受体激动剂浓度的数值，单位为微克每升（μg/L）；

A_{Si} —基质匹配标准溶液中 β-受体激动剂的峰面积；

A_i —试样溶液中β-受体激动剂的峰面积；

V_{1i} —试样体积的数值，单位毫升（mL）；

V_{2i} —定容体积的数值，单位毫升（mL）；

测定结果以平行测定的算术平均值表示。

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 1μg/kg 的保留 3 位有效数字，1μg/kg 以下保留至小数点后 2 位。

10 检测方法的灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法在猪尿、牛尿、羊尿中23种β-受体激动剂的检出限为0.1 μg/L，定量限为0.2 μg/L。

10.2 准确度

本方法23种β-受体激动剂在0.2 μg/L~2 μg/L的添加浓度水平的回收率为60%~120%。

10.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差≤15%，批间相对标准偏差≤20%。

附录 A

(资料性)

23种 β -受体激动剂中英文通用名称、化学分子式和CAS号23种 β -受体激动剂中英文名称、化学分子式和CAS号见表A.1表 A.1 23种 β -受体激动剂中英文名称、化学分子式和CAS号

中文通用名称	英文名称	化学分子式	CAS号
氯丙那林	Clorprenaline	$C_{11}H_{16}ClNO$	3811-25-4
西马特罗	Cimaterol	$C_{12}H_{17}N_3O$	54239-37-1
特布他林硫酸盐	Terbutaline hemisulfate salt	$C_{24}H_{40}N_2O_{10}S$	23031-32-5
妥布特罗	Tulobuterol	$C_{12}H_{18}ClNO$	41570-61-0
西布特罗	Cimbuterol	$C_{13}H_{19}N_3O$	54239-39-3
沙丁胺醇硫酸盐	Salbutamol hemisulfate salt	$C_{13}H_{23}NO_7S$	51022-70-9
克伦普罗盐酸盐	Clenproperol hydrochloride	$C_{11}H_{17}Cl_3N_2O$	75136-83-3
盐酸克伦特罗	Clenbuterol hydrochloride	$C_{12}H_{19}Cl_3N_2O$	21898-19-1
盐酸利托君	Ritodrine hydrochloride	$C_{17}H_{22}ClNO_3$	23239-51-2
喷布特罗盐酸盐	Penbutolol hydrochloride	$C_{18}H_{30}ClNO_2$	28163-36-2
盐酸异克舒令	Isoxsuprine hydrochloride	$C_{18}H_{24}ClNO_3$	579-56-6
莱克多巴胺盐酸盐	Ractopamine hydrochloride	$C_{18}H_{24}ClNO_3$	90274-24-1
非诺特罗	Fenoterol	$C_{17}H_{21}NO_4$	13392-18-2
马布特罗盐酸盐	Mabuterol hydrochloride	$C_{13}H_{18}ClF_3N_2O$	56341-08-3
克伦赛罗	Clencyclohexerol	$C_{14}H_{20}Cl_2N_2O_2$	157877-79-7
马喷特罗盐酸盐	Mapenterol hydrochloride	$C_{14}H_{21}Cl_2F_3N_2O$	54238-51-6
拉贝洛尔盐酸盐	Labetalol Hydrochloride	$C_{19}H_{25}ClN_2O_3$	32780-64-6
福莫特罗富马酸盐	Formoterol fumarate dihydrate	$2(C_{19}H_{24}N_2O_4) \cdot C_4H_4O_4 \cdot 2(H_2O)$	183814-30-4
苯乙醇胺 A	Penylethanolamine A	$C_{19}H_{24}N_2O_4$	1346746-81-3
溴布特罗	Brombuterol	$C_{12}H_{18}Br_2N_2O$	41937-02-4
班布特罗盐酸盐	Bambuterol hydrochloride	$C_{18}H_{30}ClN_3O_5$	81732-46-9
沙美特罗	Salmeterol	$C_{25}H_{37}NO_4$	89365-50-4
齐帕特罗	Zilpaterol	$C_{14}H_{19}N_3O_2$	117827-79-9

附录 B
(资料性)
特征离子质量色谱图

23 种 β -受体激动剂标准溶液的液相色谱-串联质谱特征离子质量色谱图见图 B.1。

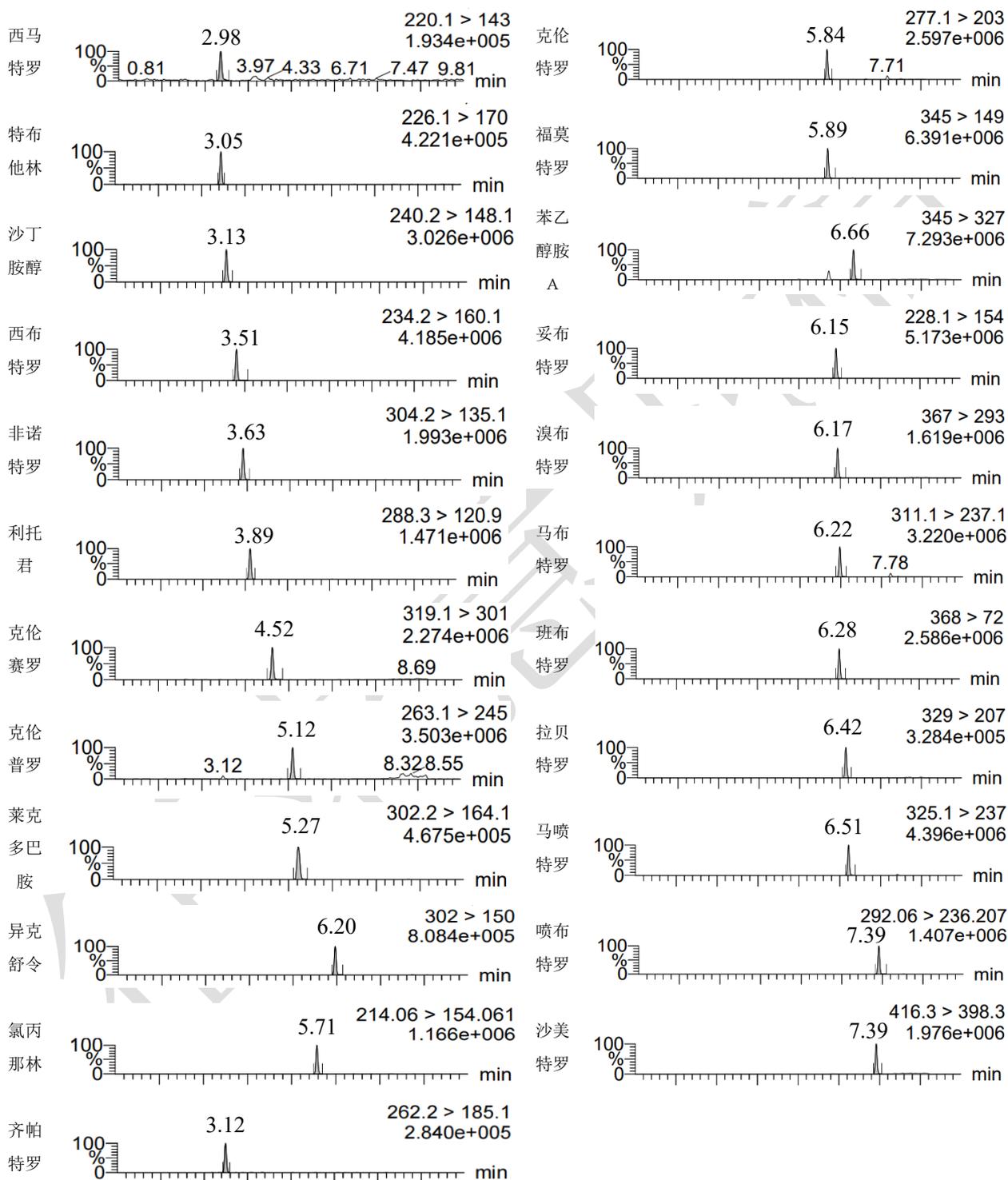


图 B.1 23 种 β -受体激动剂标准溶液的液相色谱-串联质谱特征离子质量色谱图 (注: 福莫特罗与苯乙醇胺 A 为同分异构体)

征求意见稿