

中华人民共和国国家标准

GB 31660.5—2019

食品安全国家标准 动物性食品中金刚烷胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-

Determination of amantadine residue in animal derived food by liquid
chromatography-tandem mass spectrometric 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

动物性食品中金刚烷胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了动物性食品中金刚烷胺残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于猪、鸡和鸭的可食性组织（肌肉、肝脏和肾脏）及禽蛋中金刚烷胺残留量的检测。

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

试样中金刚烷胺的残留用1%乙酸乙腈溶液提取，正己烷液液分配去脂，基质固相分散净化，液相色谱-串联质谱正离子模式测定，内标法定量。

4 试剂和材料

4.1 试剂

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。

4.1.1 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

4.1.2 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

4.1.3 正己烷（ C_6H_{14} ）：色谱纯。

4.1.4 冰乙酸（ CH_3COOH ）。

4.1.5 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。

4.1.6 无水硫酸钠（ Na_2SO_4 ）。

4.2 溶液配制

4.2.1 1%乙酸乙腈溶液：取冰乙酸 10 mL，用乙腈稀释至 1000 mL。

4.2.2 50%乙腈水溶液：取 50 mL 乙腈，用水稀释至 100 mL。

4.2.3 0.1%甲酸水溶液：取 1 mL 甲酸，用水稀释至 1000 mL。

4.3 标准品

金刚烷胺 (Amantadine, $C_{10}H_{17}N$, CAS:768-94-5), 含量 $\geq 98.0\%$; D_{15} -金刚烷胺 (Amantadine- D_{15} , $C_{10}H_2D_{15}N$, CAS:33830-10-3), 含量 $\geq 99.0\%$ 。

4.4 标准溶液的制备

4.4.1 标准贮备液: 取金刚烷胺标准品、 D_{15} -金刚烷胺标准品各约 10mg, 精密称定, 分别于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配制成浓度为 1 mg/mL 的金刚烷胺和 D_{15} -金刚烷胺标准贮备液。-20℃以下保存, 有效期 3 个月。

4.4.2 标准工作液: 分别精密量取上述标准贮备液 0.1 mL, 分别于 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 配制成金刚烷胺、 D_{15} -金刚烷胺浓度为 1 μ g/mL 的标准工作液。2~8℃保存, 有效期 2 周。

4.5 材料

4.5.1 净化吸附剂: PSA (乙二胺-N-丙基硅烷), 粒度 40 μ m。

4.5.2 滤膜: 0.22 μ m。

4.5.3 针式过滤器: 内填有 50mg 的 PSA 净化吸附剂, 滤膜孔径 0.22 μ m。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪: 配有电喷雾离子源 (ESI)。

5.2 分析天平: 感量 0.00001 g 和 0.01 g。

5.3 均质机。

5.4 涡旋混合器。

5.5 旋转蒸发器。

5.6 离心机: 转速 3 000 r/min。

5.7 高速离心机: 转速 10 000 r/min。

5.8 氮吹仪。

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。

取适量新鲜或冷藏的空白或供试禽蛋, 去壳后混合均匀。

——取匀浆后的供试样品, 作为供试试料。

——取匀浆后的空白样品, 作为空白试料。

——取匀浆后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试剂。

6.2 试剂的保存

-20℃以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试剂 2g(准确至±20mg)，于 50 mL 离心管中，加 D₁₅-金刚烷胺标准工作液 20 μL，加 1%乙酸乙腈溶液 10 mL，漩涡 2 min，3000 r/min 离心 5 min，上清液转入另一 50 mL 离心管中，重复提取一次，合并两次上清液，备用。

7.2 净化

取备用液，加无水硫酸钠 3 g、正己烷 10 mL，漩涡 1 min，3000 r/min 离心 5 min，弃去正己烷层，剩余溶液转至 100 mL 鸡心瓶中，40℃ 水浴下旋转蒸干，用 1.0 mL 甲醇溶解残渣。(1) 加入 PSA 50mg，漩涡 30s，取上清液过滤膜至 1.5 mL 试管中；或者 (2) 直接匀速通过针式过滤器，呈滴状流入 1.5 mL 试管中。量取滤液 0.5 mL 于离心管中，40℃ 氮气吹干，加入 50% 乙腈水溶液 0.5 mL，漩涡 30s，10000 r/min 离心 5 min，取上清液供上机测定。

7.3 标准曲线的制备

溶剂标准溶液：准确量取金刚烷胺和 D₁₅-金刚烷胺标准工作液适量，用 50% 乙腈水溶液稀释配制成金刚烷胺浓度为 2、4、10、20、100、200 μg/L，D₁₅-金刚烷胺浓度均为 20 μg/L 的金刚烷胺系列标准溶液，供液相色谱-串联质谱测定。

基质匹配标准溶液：取各自空白组织试剂，除不加 D₁₅-金刚烷胺标准工作液外，均按上述方法处理分别制得其空白基质溶液，准确量取金刚烷胺和 D₁₅-金刚烷胺标准工作液适量，分别用空白基质溶液稀释，配制成金刚烷胺浓度为 2、4、10、20、100、200 μg/L，D₁₅-金刚烷胺浓度均为 20 μg/L 的系列基质匹配标准溶液，临用现配，供液相色谱-串联质谱测定。

7.4 测定

7.4.1 色谱条件

- a) 色谱柱：C₁₈ (150×2.1 mm, 3.5 μm)，或相当者；
- b) 流动相：A: 0.1% 甲酸水溶液，B: 甲醇；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 进样量：10 μL；
- e) 预平衡时间：2 min；

f) 流动相梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间, min	A, %	B, %
0	90	10
1.5	90	10
2	10	90
5	10	90
5.1	90	10
10	90	10

7.4.2 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：多反应离子监测（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；
- e) 喷雾电压、碰撞能等参数应优化至最优灵敏度；
- f) 监测离子参数情况见表 2。

表 2 金刚烷胺和D₁₅-金刚烷胺特征离子参考质谱条件

化合物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	去簇电压, V	碰撞能, eV
金刚烷胺	152.0>135.0	152.0>135.0	50	18
	152.0>93.0		48	40
D ₁₅ -金刚烷胺	167.3>150.3	167.3>150.3	48	35

7.4.3 定性测定

通过试样色谱图的保留时间与相应标准品的保留时间、各色谱峰的特征离子与相应浓度标准溶液各色谱峰的特征离子相对照定性。试样与标准品保留时间的相对偏差不大于5%；试样特征离子的相对丰度与浓度相当标准溶液的相对丰度一致，相对丰度偏差不超过表3的规定，则可判断试样中存在金刚烷胺残留。

表3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为百分率

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

7.4.4 定量测定

取试样溶液、溶剂标准溶液或基质匹配标准溶液，作单点或多点校准，按内标法以峰面积比定量，标准溶液及试样溶液中金刚烷胺和D₁₅-金刚烷胺峰面积比均应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱-质谱条件下，金刚烷胺标准溶液特征离子质量色谱图分别见附录A。

7.5 空白试验

除不加试料外，采用完全相同的测定步骤进行测定。

8 结果计算和表述

试料中金刚烷胺的残留量按式（1）计算：

$$X = \frac{C_s \times C_{is} \times A_i \times A'_{is} \times V}{C'_{is} \times A_s \times A_{is} \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X—供试试样中金刚烷胺残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

C_{is} —试样溶液中D₁₅-金刚烷胺浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；

C_s —标准溶液中金刚烷胺浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；

C'_{is} —标准溶液中D₁₅-金刚烷胺浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；

A_i —试样溶液中金刚烷胺峰面积；

A_{is} —试样溶液中D₁₅-金刚烷胺峰面积；

A_s —标准溶液中金刚烷胺峰面积；

A'_{is} —标准溶液中D₁₅-金刚烷胺峰面积；

V—溶解残渣的甲醇体积，单位为毫升（mL）；

m—供试试样的质量，单位为克（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，保留三位有效数字。

9 检测方法的灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法的检测限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法在 $2 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $70\% \sim 120\%$ 。

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

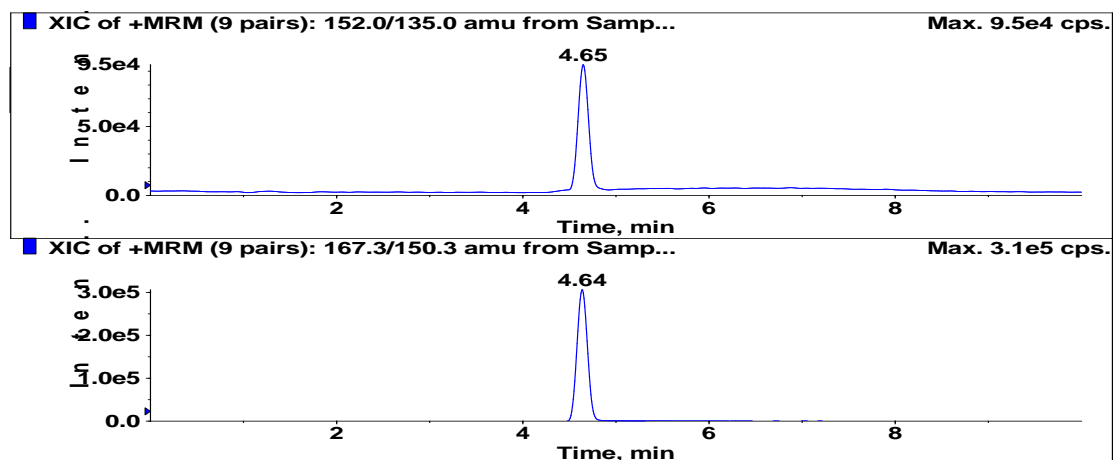


图 A.1 金刚烷胺标准溶液特征离子质量色谱图 (4 µg/L)