

ICS 67.050
X 04



中华人民共和国国家标准

GB/T 22978—2008

牛奶和奶粉中地塞米松残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of dexamethasone residues in milk and milk powder—
LC-MS-MS method

2008-12-31 发布

2009-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的附录 A、附录 B 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局、中华人民共和国河北出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：马育松、葛娜、郭春海、段文仲、陈瑞春、吕红英、窦彩云、贾海涛、庞国芳。

牛奶和奶粉中地塞米松残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了牛奶和奶粉中地塞米松残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于牛奶和奶粉中地塞米松残留量的测定和确证。

本标准的方法检出限：牛奶为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，奶粉为 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6379.1 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第1部分：总则与定义（GB/T 6379.1—2004, ISO 5725-1:1994, IDT）

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第2部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法（GB/T 6379.2—2004, ISO 5725-2:1994, IDT）

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法（GB/T 6682—2008, ISO 3696:1987, MOD）

3 原理

牛奶和奶粉样品用乙腈提取试样， C_{18} 固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

4 试剂和材料

水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲醇：色谱纯。

4.2 乙腈：色谱纯。

4.3 甲酸：优级纯。

4.4 0.1%甲酸溶液：移取 1 mL 甲酸（4.3）于装有约 800 mL 水的 1 L 容量瓶中，用水定容至刻度并混匀。

4.5 地塞米松标准物质（CAS:50-05-2）：纯度大于等于 99%。

4.6 地塞米松标准储备溶液：准确称取 100 mg 地塞米松标准物质（4.5），用甲醇溶解并定容至 100 mL，配成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液。该溶液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

4.7 地塞米松标准工作溶液：吸取适量的地塞米松标准储备溶液（4.6），用甲醇配成 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 两种浓度的标准工作溶液。该溶液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

4.8 地塞米松基质标准工作溶液：根据需要吸取适量的地塞米松标准工作溶液（4.7），用空白样品提取液稀释成适当浓度的基质标准工作溶液，临用前配制。

4.9 C_{18} 固相萃取柱：500 mg, 3 mL。使用前分别用 3 mL 乙腈和 3 mL 水预处理，保持柱体湿润。

4.10 滤膜：0.22 μm 。

5 仪器与设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪：配有大气压化学电离源（APCI）。

- 5.2 分析天平:感量 0.1 mg 和 0.01 g。
- 5.3 涡旋混匀器。
- 5.4 固相萃取装置。
- 5.5 具塞塑料离心管:50 mL。
- 5.6 真空泵:真空度应达到 80 kPa。
- 5.7 离心机。
- 5.8 旋转蒸发器。
- 5.9 氮气吹干仪。
- 5.10 样品管:10 mL。
- 5.11 梨形瓶:150 mL。

6 试样的制备与保存

6.1 牛奶

取均匀样品约 250 g 装入洁净容器作为试样,密封置 4 ℃ 下保存,并标明标记。

6.2 奶粉

取均匀样品约 250 g 装入洁净容器作为试样,密封,并标明标记。

7 测定步骤

7.1 提取

7.1.1 牛奶样品

称取 10 g 试样(精确到 0.01 g)置于 50 mL 具塞塑料离心管中,加入 20 mL 乙腈,涡旋混匀 1 min,以 5 000 r/min 离心 10 min,取上清液至梨形瓶中。用旋转蒸发器于 45 ℃ 水浴上减压蒸发,将提取液浓缩至体积小于 5 mL。

7.1.2 奶粉样品

称取 2 g 试样(精确到 0.01 g)置于 50 mL 具塞塑料离心管中,加入 10 mL 水涡旋 30 s 混匀,以下操作同牛奶样品。

7.2 净化

将提取液移至经预处理的 C_{18} 固相萃取柱中,用 5 mL 水洗涤梨形瓶和萃取柱,弃去全部流出液。在 65 kPa 的负压下,减压抽干 1 min,用 5 mL 乙腈以小于等于 3 mL/min 流速洗脱,收集洗脱液于 10 mL 样品管中,在 45 ℃ 水浴中用氮气吹干,用 0.50 mL 流动相溶解残渣,经 0.22 μ m 滤膜过滤后供液相色谱-串联质谱仪测定。

7.3 测定条件

7.3.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:Inertsil ODS-3 C_{18} , 5 μ m, 150 mm $\times$ 2.1 mm(内径)或相当者;
- b) 流动相:乙腈+0.1 %甲酸溶液(1+1);
- c) 流速:200 μ L/min;
- d) 柱温:40 ℃;
- e) 进样量:20 μ L。

7.3.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- a) 离子源:大气压化学电离源(APCI);
- b) 扫描方式:正离子扫描;

- c) 定性离子对(m/z):393.2/373.2,393.2/355.2;
- d) 定量离子对(m/z):393.2/373.2;
- e) 喷雾压力: 1.14×10^5 Pa;
- f) 干燥气体流量:5 L/min;
- g) 干燥气体温度:250 ℃;
- h) 大气压化学电离源蒸发温度:250 ℃;
- i) 电晕电流:4 000 nA;
- j) 毛细管电压:1 500 V。

7.3.3 液相色谱-串联质谱测定

7.3.3.1 定性测定

样品谱图中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的混合基质标准校准溶液谱图中对应的定性离子的相对丰度进行比较,偏差不得超过表 1 规定的范围,则可判定为样品中存在对应的待测物。

表 1 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差 %

相对离子丰度 K	$K>50$	$20<K<50$	$10<K<20$	$K\leq 10$
允许最大偏差	± 20	± 25	± 30	± 50

7.3.3.2 定量测定

在上述色谱条件下,用 6 个不同浓度的地塞米松基质标准工作溶液分别进样,以基质标准工作溶液浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。用标准工作曲线对样品进行定量,样品溶液中地塞米松的响应值应在仪器测定的线性范围内。在上述色谱条件和质谱条件下,地塞米松的参考保留时间为 3.4 min。地塞米松的选择离子流图参见附录 A 中的图 A.1。

本方法的添加回收率数据参见附录 B 中的表 B.1。

7.4 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。

7.5 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤同时完成空白试验。

8 结果计算

地塞米松残留量利用数据处理系统计算或按式(1)计算:

$$X = c \times \frac{V}{m} \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X ——试样中地塞米松残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g/kg}$);
- c ——从标准工作曲线得到的试样溶液中被测组分的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V ——试样溶液定容体积,单位为毫升(mL);
- m ——最终试样溶液所代表的试样质量,单位为克(g)。

计算结果应扣除空白值。

9 精密度

9.1 一般规定

本标准的精密度数据是按照 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 的规定确定的,重复性和再现性的值以 95%的可信度来计算。

9.2 重复性

在重复性测定条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限(r),牛奶和奶粉中地塞米松添加浓度范围及重复性方程见表 2。

表 2 添加浓度范围及重复性和再现性方程 单位为毫克每千克

样品基质	添加浓度范围	重复性限 r	再现性限 R
牛奶	0.2~10	$r=0.103\ 0m+0.016\ 1$	$R=0.268\ 1m+0.018\ 0$
奶粉	1.0~10	$\lg r=0.265\ 5\ \lg m-0.613\ 5$	$\lg R=0.846\ 0\ \lg m-0.361\ 3$
注: m 为两次测定结果的算术平均值。			

如果差值超过重复性限,应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

9.3 再现性

在再现性测定条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限(R),牛奶和奶粉中地塞米松的添加浓度范围及再现性方程见表 2。

附录 A

(资料性附录)

地塞米松标准物质选择离子流图

地塞米松标准物质选择离子流图,见图 A.1。

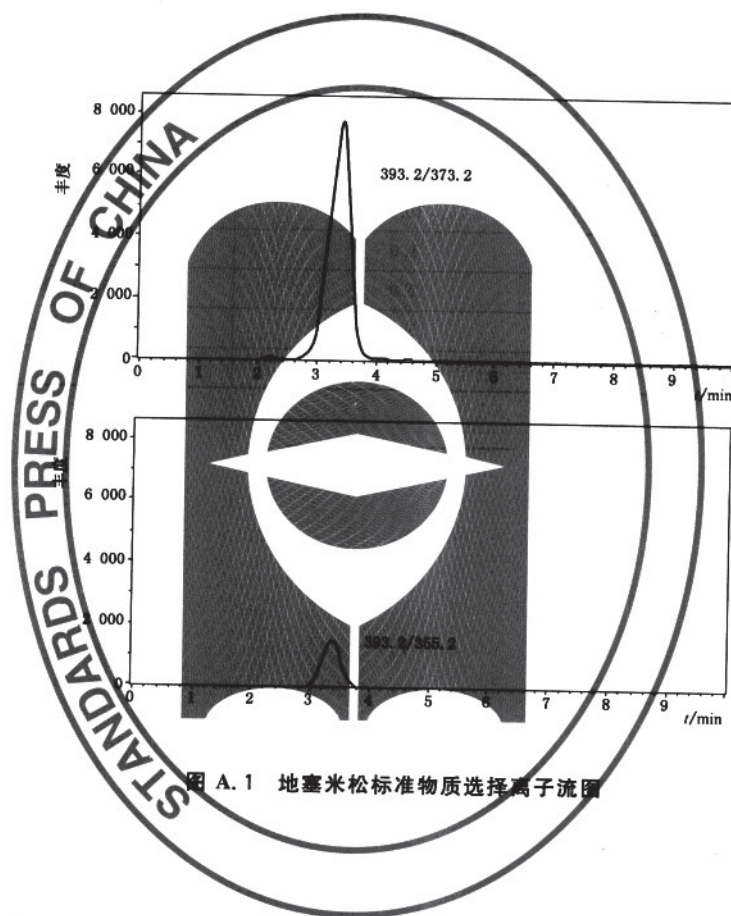


图 A.1 地塞米松标准物质选择离子流图

附 录 B
(资料性附录)
回 收 率

本方法中地塞米松添加浓度及其回收率范围的试验数据,见表 B.1。

表 B.1 地塞米松添加浓度及其回收率范围的试验数据

样品基质	添加浓度/($\mu\text{g/kg}$)	回收率范围/%
牛奶	0.2	70.0~110.0
	0.5	75.0~105.0
	1.0	78.0~99.0
	10.0	80.3~104.0
奶粉	1.0	65.0~95.0
	2.0	65.0~95.0
	5.0	75.0~100.0
	10.0	78.0~97.0