

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1924—2011  
代替 SN/T 1924—2007

---

### 进出口动物源食品中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of clenbuterol, ractopamine, salbutamol and terbutalin  
residues in foodstuffs of animal origin for import and export—  
HPLC-MS/MS Method

2011-02-25 发布

2011-07-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 SN/T 1924—2007《进出口动物源食品中克伦特罗、莱可多巴胺、沙丁胺醇、特布他林残留量的检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》。

本标准与 SN/T 1924—2007 相比,主要技术变化如下:

——适用范围增加了动物源食品牛骨汤精、牛奶及奶粉;

——样品前处理中增加了正己烷脱脂步骤;

——固相萃取柱由 C<sub>18</sub> 和阳离子交换柱修改为混合型阳离子交换柱;

——样液溶剂由乙腈+水(1+9)修改为 0.1%甲酸;

——克伦特罗监控离子对由 277. 3/203. 0、277. 3/259. 2 修改为 277. 0/203. 0、277. 0/132. 0、277. 0/168. 0;

——经实验验证,克伦特罗测定低限由 0.5 μg/kg 修改为 0.05 μg/kg。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国山东出入境检验检疫局、中华人民共和国上海出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人:王凤美、牛增元、蔡发、邓晓军、汤志旭、张峰、张罡、罗忻、陈世山、张鸿伟、庞士平。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——SN/T 1924—2007。

# 进出口动物源食品中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林残留量的测定

## 液相色谱-质谱/质谱法

### 1 范围

本标准规定了进出口动物源食品中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林残留量的液相色谱-质谱/质谱(HPLC-MS/MS)测定与确证方法。

本标准适用于进出口动物源食品肌肉、内脏、牛骨汤精以及牛奶、奶粉中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林残留量的测定及确证。

### 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 方法提要

试样中的克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林残留采用 $\beta$ -葡萄糖醛甙酶/芳基硫酸酯酶酶解,乙酸铵缓冲溶液提取,正己烷脱脂,水相溶液经混合型阳离子交换固相萃取柱净化,HPLC-MS/MS测定,内标法定量。

### 4 试剂和材料

除另有说明外,所用试剂均为分析纯,水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈:色谱级。

4.2 甲醇:色谱级。

4.3 正己烷:色谱级。

4.4 乙酸乙酯:色谱级。

4.5 甲酸:色谱级。

4.6 乙酸铵:色谱级。

4.7 浓盐酸:含量为 36%~38%。

4.8 氨水:含量为 25%~28%。

4.9  $\beta$ -葡萄糖醛甙酶/芳基硫酸酯酶溶液:含 $\beta$ -葡萄糖醛甙酶 111 000 U/mL;芳基硫酸酯酶 1 079 U/mL。

4.10 乙酸铵缓冲溶液(2 mol/L):称取乙酸铵(4.6)77.0 g,用水稀释并定容至 500 mL,混匀,并用乙酸调节 pH 为 5.2。

4.11 0.1%甲酸溶液:移取 1.0 mL 甲酸(4.5),用水稀释并定容至 1 000 mL,混匀。

4.12 0.1 mol/L 盐酸溶液:取 9 mL 浓盐酸(4.7),加水稀释至 1 000 mL,混匀。

- 4.13 50%甲醇溶液:50 mL 甲醇(4.2)与50 mL 水混匀。
- 4.14 洗脱溶液:50 mL 乙酸乙酯(4.4)、45 mL 甲醇(4.2)与5 mL 氨水(4.8)混匀。
- 4.15 固相萃取(SPE)柱:混合型阳离子交换固相萃取柱,基质为苯磺酸化的聚苯乙烯-二乙烯基苯高聚物,60 mg,3 mL,或相当者。使用前依次用3 mL 甲醇(4.2)、3 mL 水和3 mL 盐酸溶液(4.12)对柱子进行活化。
- 4.16 氮气:纯度 $\geq 99.999\%$ 。
- 4.17 标准品:盐酸克伦特罗(Clenbuterol hydrochloride),CAS 编号:21898-19-1,纯度 $\geq 98.5\%$ ;盐酸莱克多巴胺(Ractopamine hydrochloride),CAS 编号:90274-24-1,纯度 $\geq 99.0\%$ ;硫酸沙丁胺醇(Salbutamol sulfate),CAS 编号:51022-70-9,纯度 $\geq 99.0\%$ ;特布他林半硫酸盐(Terbutalin hemisulfate salt),CAS 编号:23031-32-5,纯度 $\geq 98\%$ 。
- 4.18 标准储备液(1 000 mg/L):准确称取盐酸克伦特罗、盐酸莱克多巴胺、硫酸沙丁胺醇、特布他林半硫酸盐标准品(折合成目标化合物 10.0 mg),分别用适量甲醇溶解,并用甲醇定容至 10 mL,混匀。 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存,有效期为 12 个月。
- 4.19 标准中间液:用甲醇分别稀释克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林标准储备液(4.18)至 10 mg/L, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存,有效期为 6 个月。
- 4.20 混合标准工作液:临用前用 0.1%甲酸配制,其中内标浓度分别为克伦特罗-D9 0.5 ng/mL,莱克多巴胺-D3、沙丁胺醇-D3 均为 2.5 ng/mL。
- 4.21 同位素内标物:盐酸莱克多巴胺内标物(Ractopamine-D3-HCl),纯度 $\geq 98.6\%$ ;克伦特罗内标溶液(Clenbuterol-D9),浓度为 100 mg/L,溶剂为丙酮;沙丁胺醇内标溶液(Salbutamol-D3),浓度为 100 mg/L,溶剂为丙酮。
- 4.22 莱克多巴胺内标储备液(100 mg/L):准确称取盐酸莱克多巴胺-D3 标准品(折合成目标化合物 10.0 mg),用甲醇溶解并定容至 100 mL,混匀。 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存,有效期为 12 个月。
- 4.23 同位素内标中间液:用甲醇分别稀释克伦特罗-D9 溶液(4.21)、沙丁胺醇-D3 溶液(4.21)以及莱克多巴胺-D3 储备液(4.22)至 10 mg/L, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存,有效期为 6 个月。
- 4.24 同位素内标工作液:根据需要移取适量同位素内标中间液(4.23),用 0.1%甲酸稀释,配制克伦特罗-D9、莱克多巴胺-D3、沙丁胺醇-D3 浓度分别为 10  $\mu\text{g/L}$ 、50  $\mu\text{g/L}$ 、50  $\mu\text{g/L}$  的同位素内标工作液,该溶液临用前配制。

## 5 仪器与设备

- 5.1 液相色谱-串联四极杆质谱仪:带电喷雾离子源(ESI)。
- 5.2 分析天平:感量为 0.01 g 和 0.1 mg。
- 5.3 旋涡混合器。
- 5.4 冷冻离心机:转速 $\geq 8\ 000\ \text{r/min}$ 。
- 5.5 固相萃取装置。
- 5.6 组织捣碎机。
- 5.7 均质器。
- 5.8 氮吹浓缩仪。

## 6 样品制备与保存

### 6.1 制样要求

制样操作过程中应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

## 6.2 肌肉、内脏样品

从所取全部样品中取出有代表性样品可食部分约 500 g,用组织捣碎机充分捣碎均匀,均分成两份,分别装入洁净容器中,密封,并标明标记,于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下冷冻存放。

## 6.3 牛奶、奶粉、牛骨汤精样品

从所取全部样品中取出有代表性样品约 500 g,充分混匀,均分成两份,分别装入洁净容器中,密封,并标明标记。牛奶样品于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存;奶粉样品于常温下避光保存;牛骨汤精于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下冷冻存放。

## 7 测定步骤

### 7.1 提取

#### 7.1.1 肌肉、内脏

称取 5 g(精确至 0.01 g)试样,置于 50 mL 具螺旋盖的聚丙烯离心管中,添加 50  $\mu\text{L}$  同位素内标工作液(4.24),加入 20 mL 乙酸铵缓冲溶液(4.10),均质提取 1 min,然后加入 40  $\mu\text{L}$   $\beta$ -葡萄糖醛甙酶/芳基硫酸酯酶(4.9),充分振荡混匀,37  $^{\circ}\text{C}$  酶解 16 h。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下 8 000 r/min 离心 5 min,收集上清液于具螺旋盖的聚丙烯离心管中,加入 20 mL 正己烷,振荡混匀。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下 12 000 r/min 离心 5 min,弃去正己烷层,水相溶液立即经滤纸过滤,并用 2 mL 乙酸铵缓冲溶液(4.10)洗涤滤纸,收集全部滤液,待净化。

注:若只测克伦特罗,可省去酶解步骤,但建议均质提取后充分振荡,以利于基质分散。

#### 7.1.2 牛奶、奶粉、牛骨汤精

称取 5 g(精确至 0.01 g)试样,置于 50 mL 具螺旋盖的聚丙烯离心管中,添加 50  $\mu\text{L}$  同位素内标工作液(4.24),加入 20 mL 乙酸铵缓冲溶液(4.10),旋涡混合 1 min,然后加入 40  $\mu\text{L}$   $\beta$ -葡萄糖醛甙酶/芳基硫酸酯酶(4.9),充分振荡混匀,37  $^{\circ}\text{C}$  酶解 16 h。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下 8 000 r/min 离心 5 min,收集上清液于具螺旋盖的聚丙烯离心管中,加入 20 mL 正己烷,振荡混匀。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下 12 000 r/min 离心 5 min,弃去正己烷层,水相溶液立即经滤纸过滤,并用 2 mL 乙酸铵缓冲溶液(4.10)洗涤滤纸,收集全部滤液,待净化。

注:若只测克伦特罗,可省去酶解步骤;但建议涡旋混合提取后充分振荡,以利于基质分散。

### 7.2 净化

将 7.1.1 或 7.1.2 所得滤液以低于 1.0 mL/min 的流速加载在固相萃取小柱(4.15)上,再依次用 3 mL 盐酸溶液(4.12)、3 mL 水、3 mL 50%甲醇(4.13)和 3 mL 正己烷(4.3)淋洗小柱,弃去淋洗液;真空抽干 2 min,用 3 mL 洗脱液(4.14)进行洗脱,收集洗脱液。洗脱液在 45  $^{\circ}\text{C}$  下氮气流吹干,加入 1 mL 0.1%甲酸溶液溶解残渣,样液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜后,供 HPLC-MS/MS 测定。

### 7.3 测定

#### 7.3.1 液相色谱条件

7.3.1.1 色谱柱: $\text{C}_{18}$ 柱,150 mm(柱长) $\times$ 2.1 mm(内径),粒度 5  $\mu\text{m}$ 。

7.3.1.2 流动相:乙腈-0.1%甲酸溶液,梯度洗脱条件见表 1。

表 1 液相色谱的梯度洗脱条件

时间 min	流速 $\mu\text{L}/\text{min}$	0.1%甲酸溶液 %	乙腈 %
0.00	300	90	10
5.00	300	10	90
8.00	300	10	90
8.01	300	90	10
14.00	300	90	10

7.3.1.3 流速:300  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

7.3.1.4 柱温:35  $^{\circ}\text{C}$ 。

7.3.1.5 进样量:20  $\mu\text{L}$ 。

### 7.3.2 质谱条件

7.3.2.1 离子化模式:电喷雾电离(ESI)正离子模式。

7.3.2.2 质谱扫描方式:多反应监测(MRM)。

7.3.2.3 分辨率:单位质量分辨率。

7.3.2.4 其他质谱条件参见附录 A。

### 7.3.3 定性测定

按照液相色谱-串联质谱条件测定样液和标准工作溶液,如果检测的质量色谱峰保留时间与标准品一致,定性离子对的相对丰度,是用相对于最强离子丰度的强度百分比表示,应当与浓度相当标准工作溶液的相对丰度一致,相对丰度允许偏差不得超过表 2 规定的范围,则可判断样品中存在对应的待分析物。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20 至 50	>10 至 20	$\leq 10$
允许的相对偏差/%	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

### 7.3.4 定量测定

在仪器最佳工作条件下,对样液及标准工作溶液(参考线性浓度范围克伦特罗为:0.1  $\text{ng}/\text{mL}$ ~5.0  $\text{ng}/\text{mL}$ ;莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林均为:1.0  $\text{ng}/\text{mL}$ ~50  $\text{ng}/\text{mL}$ )进样。内标法定量,样液中待分析物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。各目标化合物测定低限浓度的标准溶液多重反应监测(MRM)色谱图参见附录 B。

### 7.4 空白试验

除不加试样外,均按上述操作步骤进行。

## 8 结果计算与表述

按式(1)计算克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林残留量。计算结果需扣除空白值。

$$X = \frac{c \times c_i \times A \times A_{si} \times V}{c_{si} \times A_i \times A_s \times m} \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- $X$  ——样品中待分析物的残留量,单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );  
 $c$  ——标准工作溶液中待分析物的浓度,单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );  
 $c_i$  ——样品中内标物的浓度,单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );  
 $A$  ——样品中待分析物的峰面积;  
 $A_{si}$  ——标准工作溶液中内标物的峰面积;  
 $V$  ——样品定容体积,单位为毫升( $\text{mL}$ );  
 $c_{si}$  ——标准工作溶液中内标物的浓度,单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );  
 $A_i$  ——样品溶液中内标物的峰面积;  
 $A_s$  ——标准工作溶液中待分析物的峰面积;  
 $m$  ——样品称样量,单位为克( $\text{g}$ ).

注:特布他林采用沙丁胺醇同位素内标定量。

## 9 测定低限、回收率和精密度

### 9.1 测定低限

本方法对克伦特罗的测定低限为  $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}$ ;对莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林的测定低限均为  $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 9.2 回收率和精密度

猪肉、猪肝、牛肉、牛骨汤精、牛奶及奶粉中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林的回收率试验数据见表3。

表3 克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林残留的添加回收率试验数据

物质种类	添加浓度 $\mu\text{g}/\text{kg}$	回收率范围 %					
		猪肉	猪肝	牛肉	牛骨汤精	牛奶	奶粉
克伦特罗	0.05	98.0~106.0	94.0~116.0	94.0~114.0	94.0~106.0	94.0~114.0	96.0~106.0
	0.075	98.7~104.0	98.7~104.0	96.0~104.0	100.0~102.7	97.3~104.0	98.7~104.0
	0.1	95.0~107.0	95.0~108.0	98.0~114.0	93.0~118.0	98.0~110.0	93.0~111.0
	0.5	92.9~109.9	98.8~108.2	92.7~101.2	97.0~111.9	98.7~109.3	93.4~106.8
莱克多巴胺	0.5	97.4~103.6	98.0~104.8	98.4~103.2	95.8~104.4	98.0~103.8	98.4~104.2
	0.75	99.5~104.0	99.6~102.8	99.3~102.3	99.9~103.5	99.5~101.7	99.6~101.6
	1.0	99.2~107.2	98.1~103.6	98.4~104.7	98.6~107.8	98.2~105.7	98.7~107.8
沙丁胺醇	0.5	101.4~108.4	103.4~110.8	100.4~114.2	103.2~109.0	100.2~103.8	101.2~106.2
	0.75	99.6~104.1	99.7~104.1	100.1~103.2	99.9~103.3	99.1~103.1	100.4~102.3
	1.0	98.6~114.5	98.8~115.4	99.2~113.7	98.9~115.3	98.7~108.7	99.6~108.4
特布他林	0.5	74.4~87.2	73.6~83.6	74.2~82.4	73.6~85.4	72.2~78.6	72.4~77.6
	0.75	85.1~91.9	88.3~92.7	85.5~90.9	86.8~91.5	85.6~91.5	86.3~92.1
	1.0	91.1~97.2	90.8~94.5	90.5~95.1	92.7~95.8	91.3~92.5	90.7~93.6

附 录 A  
(资料性附录)  
参考质谱条件<sup>1)</sup>

- A.1 毛细管电压:4 500 V。  
A.2 干燥气温度:350 ℃。  
A.3 干燥气流量:11 L/min。  
A.4 雾化器压力:241 325 kPa(35 psi)。  
A.5 碰撞气:氮气。  
A.6 其他质谱参数见表 A.1。

表 A.1 主要参考质谱参数

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	驻留时间 ms	裂解电压 V	碰撞能量 V
克伦特罗	277.0	203.0*	100	100	10
		132.0	100	100	25
		168.0	100	100	25
莱克多巴胺	302.0	163.9*	100	120	10
		284.1	100	120	5
沙丁胺醇	240.0	148.0*	200	100	15
		222.0	200	100	5
特布他林	226.0	152.1*	100	100	15
		125.0	100	100	20
克伦特罗-D9	286.2	204.0	100	100	10
莱克多巴胺-D3	305.2	167.2	100	120	10
沙丁胺醇-D3	243.3	151.1	200	100	15
注:对于不同质谱仪器,仪器参数可能存在差异,测定前应将质谱参数优化到最佳。					
* 定量离子。					

1) 非商业性声明:附录 A 所列参考质谱条件是在 Agilent 6410 型液质联用仪上完成的,此处列出试验用仪器型号仅为提供参考,并不涉及商业目的,鼓励标准使用者尝试不同厂家或型号的仪器。



附录 B  
 (资料性附录)  
 标准品多重反应监测(MRM)色谱图

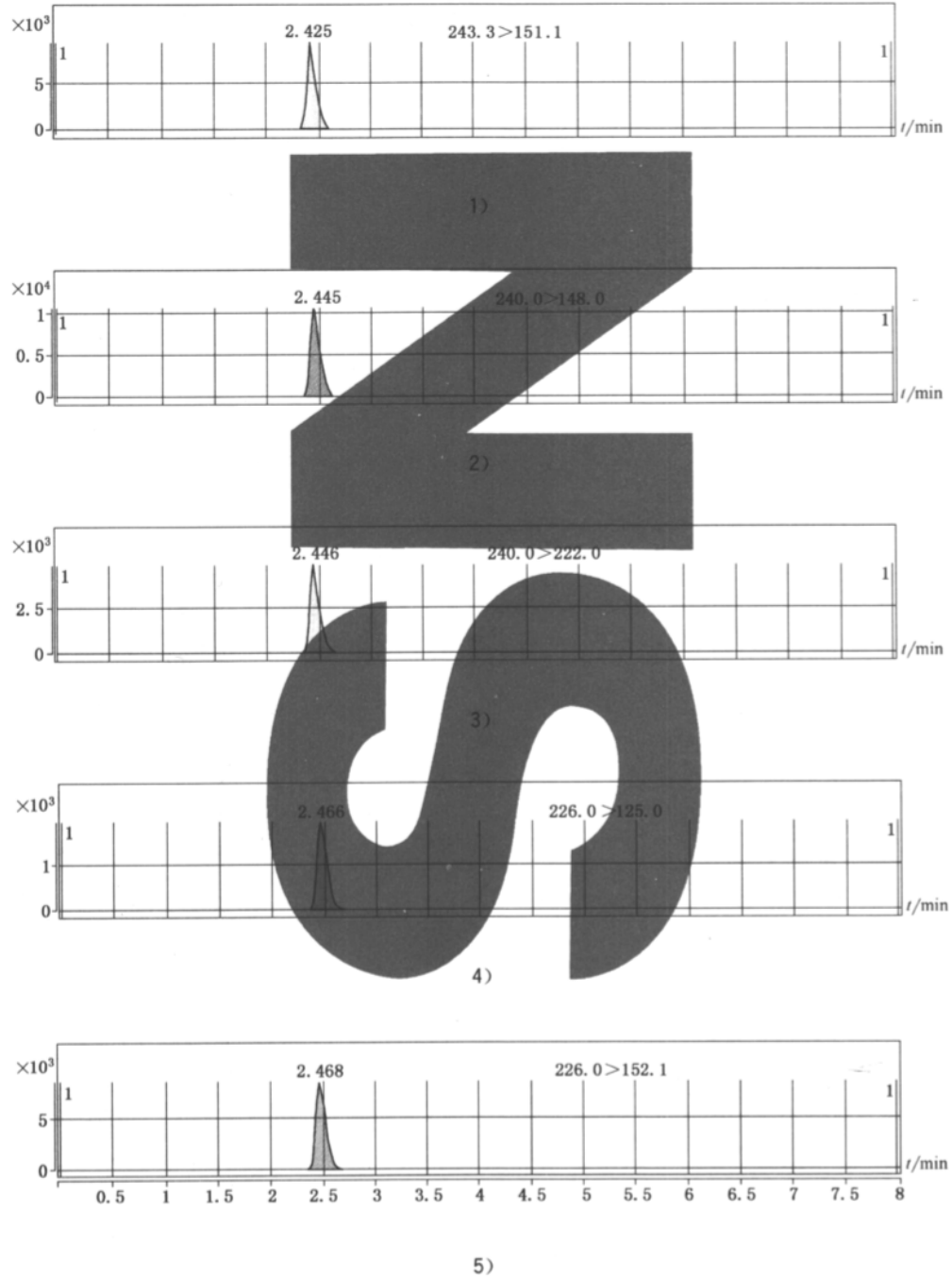


图 B.1 沙丁胺醇(0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、特布他林(0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、莱克多巴胺(0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )和  
 克伦特罗(0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )的 MRM 色谱图

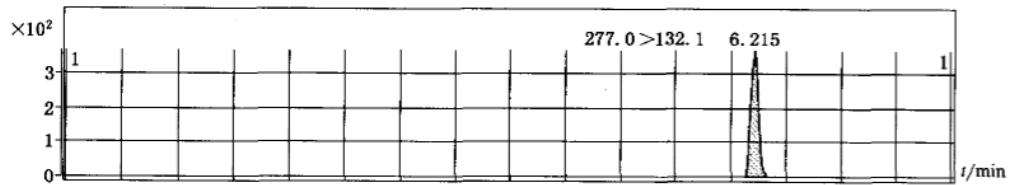
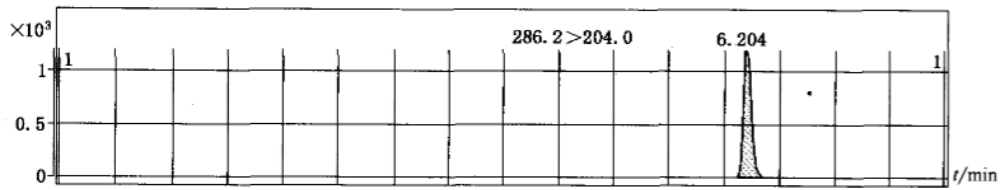
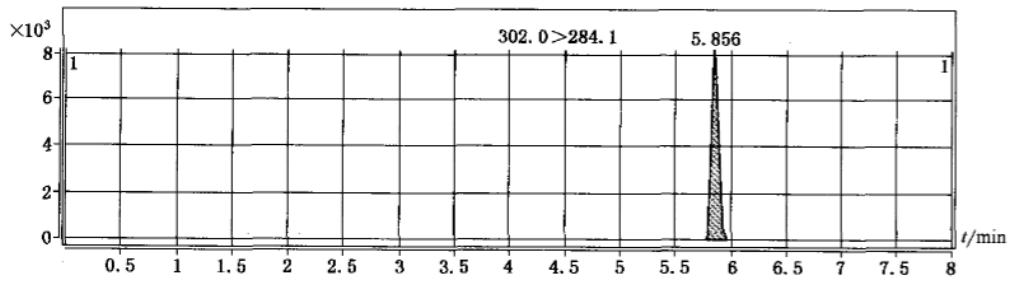
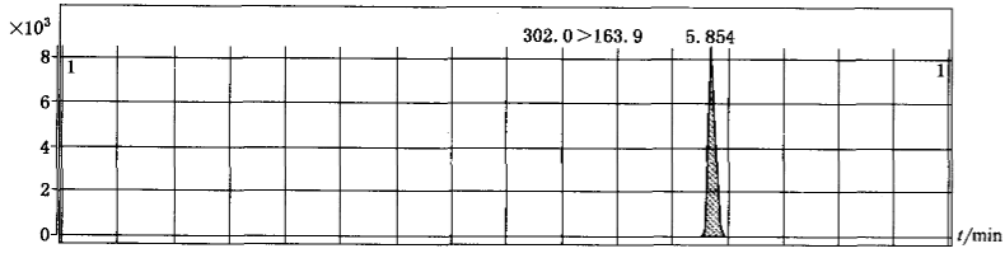
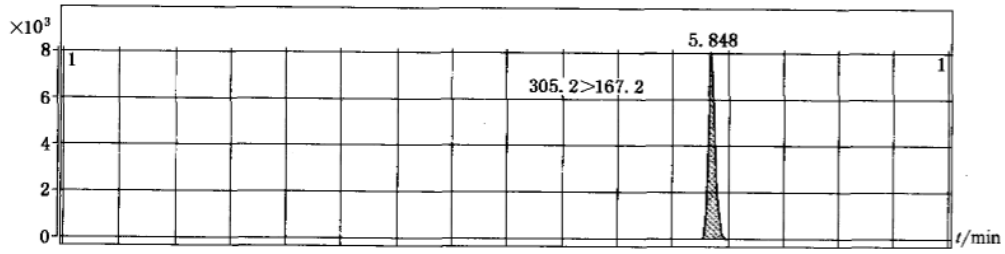
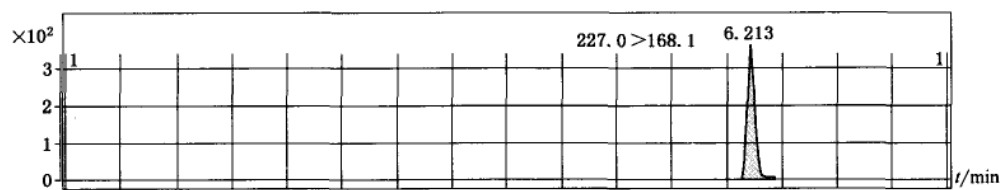
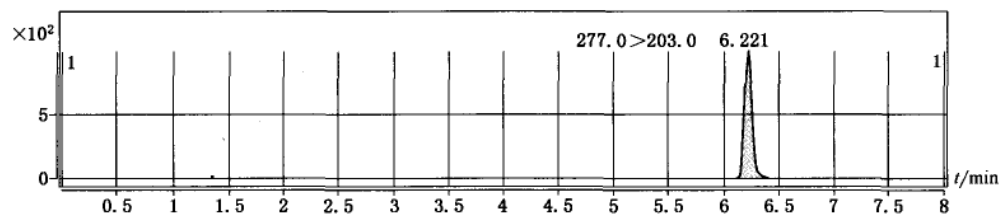


图 B. 1 (续)



11)



12)

保留时间:沙丁胺醇 2.44 min;特布他林 2.47 min;莱克多巴胺 5.85 min;克伦特罗 6.22 min。

图 B.1 (续)