

动物性食品中 α -群勃龙和 β -群勃龙残留量的测定 GB-31658.14-2021

1、适用范围

适用于猪、牛、羊、鸡的肌肉、脂肪、肝脏和肾脏组织及兔肉、鸡蛋、牛奶和羊奶中 α -群勃龙和 β -群勃龙残留量的测定。（本实验样品采用猪肉）

参考标准：《GB-31658.14-2021 食品安全国家标准 动物性食品中 α -群勃龙和 β -群勃龙残留量的测定 液相色谱—串联质谱法》

2、溶液的配制

- 1) 标准储备液：准确称取标准品各适量，于 10mL 容量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度均为 1mg/mL 的标准储备液。-18℃以下保存，有效期 6 个月。
- 2) 混合标准中间液：准确移取 1mg/mL 的标准储备液各 1mL，于 10mL 容量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，得到 100 μ g/mL 的混合标准工作液。-18℃以下保存，有效期 3 个月。
- 3) 混合标准工作液：准确移取混合标准中间液 0.1mL，用甲醇稀释至 10mL，得到 1 μ g/mL 的混合标准工作液。-18℃以下保存，有效期 1 个月。
- 4) 0.04mol/L 乙酸钠溶液：取乙酸钠 3.28g，用水溶解并定容至 1000mL。
- 5) 80%甲醇水溶液：取甲醇 80mL，用水稀释至 100mL。
- 6) 10%甲醇水溶液：取甲醇 10mL，用水稀释至 100mL。
- 7) 2%氨水溶液：取氨水 8mL，用水稀释至 100mL。
- 8) 甲醇-2%氨水溶液（5:95）：取甲醇 5mL，加 2%氨水溶液 95mL，混匀。



9) 甲醇-2%氨水溶液（40:60）：取甲醇 40mL，加 2%氨水溶液 60mL，混匀。

10) 丙酮-甲醇溶液（80:20）：取丙酮 80mL，加甲醇 20mL，混匀。

3、提取步骤

酶解：

取试料 5g（准确至 $\pm 0.02\text{g}$ ），于 50mL 聚丙烯离心管中，加 0.04mol/L 乙酸钠溶液 10mL，涡旋混合，用冰乙酸调 pH 至 4.3~4.8。加 β -葡萄糖苷酸酶/芳基硫酸酯酶 20 μL ，涡旋混合，于恒温水浴摇床，37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡 14h 以上。

提取：

酶解液冷却至室温，加叔丁基甲醚 10mL（牛奶、羊奶试料先加入乙腈 5mL），涡旋混合，振荡 10min，5000r/min 离心 10min，取上层液于另一离心管中。下层液用叔丁基甲醚 10mL 重复提取一次，合并 2 次上层液，于 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹干。加入 80%甲醇水溶液 4mL，超声 2min，溶解残余物，加正己烷 5mL（脂肪试料加 10mL），振荡 5min，5000r/min 离心 10min，弃上层正己烷。再加入正己烷 5mL（脂肪试料加 10mL）重复上述操作。取下层水相，50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹至约 0.5mL，加入 10%甲醇水溶液 3mL，超声 5min，溶解残余物备用。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom® BRP，规格：200mg/3mL；SPE 柱：月旭 Welchrom® NH2，规格：500mg/6mL

活化：3mL 甲醇、3mL 水，弃去；

上样：取备用液过柱，弃去；

淋洗：3mL 甲醇-2%氨水溶液（5:95），3mL 甲醇-2%氨水溶液（40:60），3mL 水，抽干；



洗脱：取用 5mL 丙酮-甲醇溶液（80:20）活化的 NH₂ 固相萃取柱串联在 BRP 固相萃取柱下方，用 5mL 丙酮-甲醇溶液（80:20）洗脱，收集洗脱液；

复溶：将收集液体于 50°C 水浴氮气吹干，加 80% 甲醇溶液至 1.0mL 溶解残余物，超声 5min，涡旋 1min，过 0.22μm 滤膜，供液相色谱-串联质谱仪测定。

5、注意事项

加标水平：5.0g 样中加入 5μL 1μg/mL 标准工作液，因此加标水平为 1μg/kg，最终机度数为 5ng/mL。

本实验标准品溶液用空白基质溶液进行配置。

6、色谱条件

6.1 UPLC 条件

色谱柱：Ultimate UHPLC XB-C18, 1.8μm, 2.1×100mm

流动相：A: 水；B: 乙腈

柱温：40°C；流速：0.3mL/min；进样体积：2μL

梯度洗脱程序：见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.0	70	30
3.0	10	90
4.0	10	90
4.1	70	30

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add: 上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add: 浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel: 400-810-6969

邮编：201600

邮编：321000

E-mail: lingyuyu@welchmat.com



5.0	70	30
-----	----	----

6.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI）；

扫描方式：正离子扫描；

检测方式：多反应监测（MRM）模式；

离子喷雾电压：5500 V；离子源温度：500°C；

气帘气（CUR）10 psi；雾化气（GS1）55 psi；辅助气（GS2）50 psi。

其他质谱参数见表 2

液质仪器型号：AB Sciex TRIPLE QUAD 4500

表 2 多反应监测模式（MRM）参数

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能 CE/V
α-群勃龙	271.2	199.1*	23
		253.2	20
β-群勃龙	271.2	199.1*	23
		253.2	20

7、色谱图或者加标回收率结果



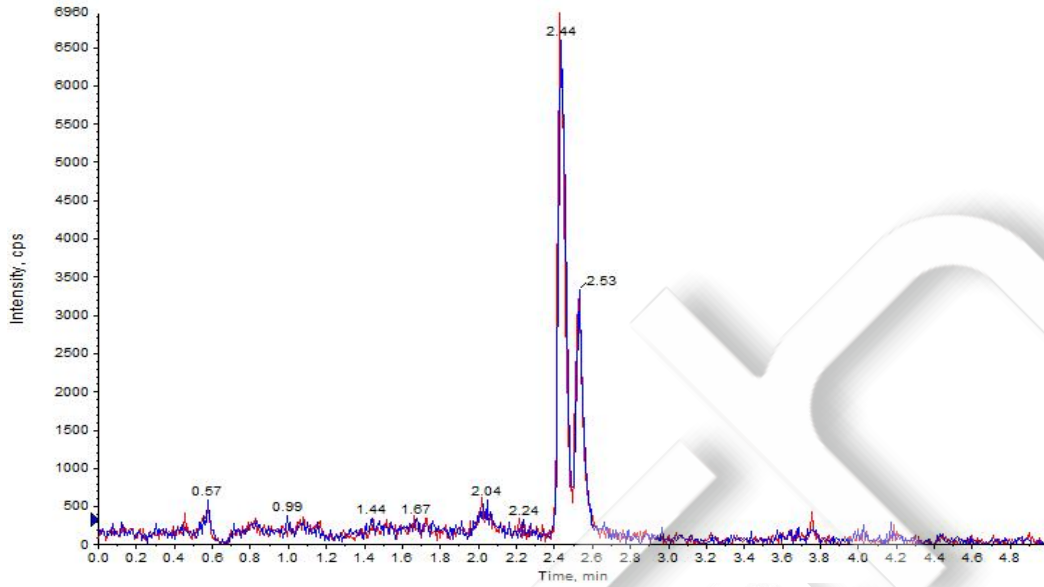


图 1. 基质混合对照溶液 5ng/mL 图谱

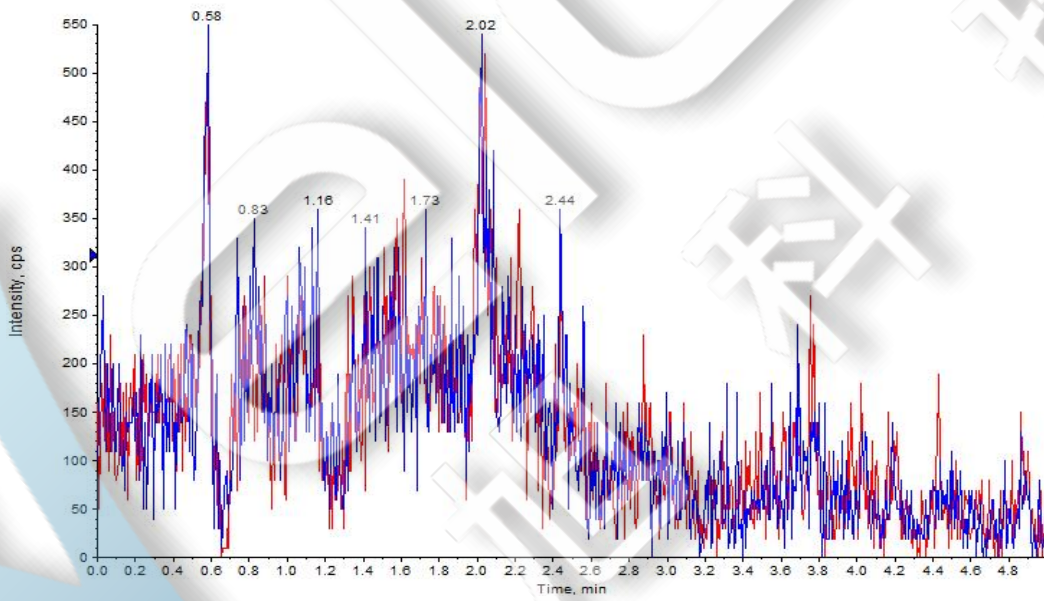


图 2. 猪肉样品空白图谱



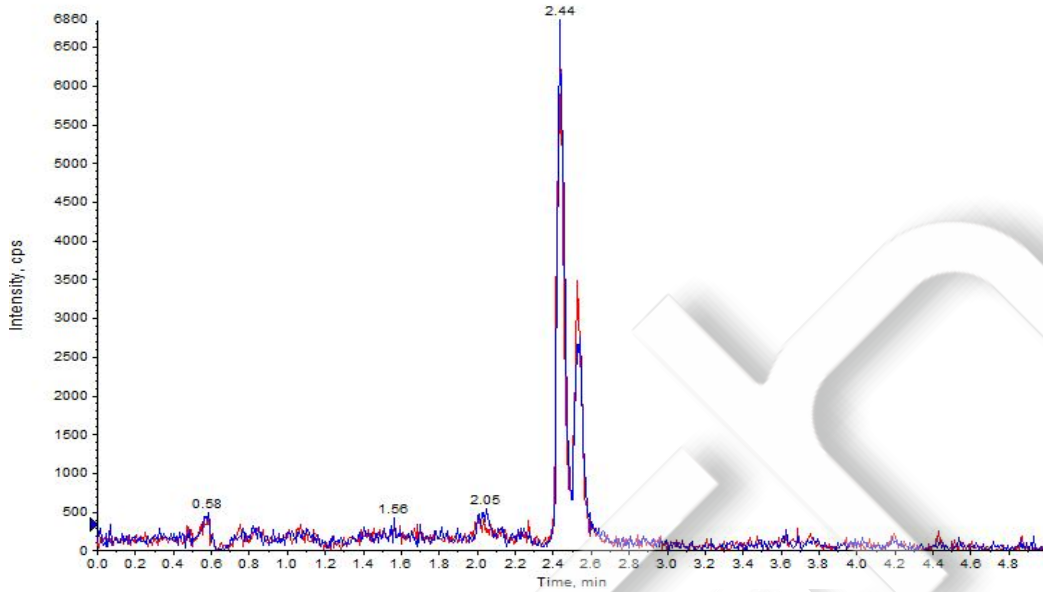


图 3. 猪肉样品加标 1µg/kg 图谱

表 3. 加标回收率表

峰号	化合物	加标水平 (1µg/kg)	
		平均回收率	RSD 值
1	α-群勃龙	104.91%	1.17%
2	β-群勃龙	98.89%	2.25%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00522-20004	Welchrom SPE 柱	BRP,200mg/3ml,50/pk
00509-11006	Welchrom SPE 柱	NH2,500mg/6ml,30/pk
00837-05006	50mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌,50mL,50/包
00837-05002	15mL 螺口尖底离心管	离心管 一次性离心管,平盖,锥形底,RCF12000xg,袋装,未灭菌,15mL,50/包



00821-32291	盖子+垫片	预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫，9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-11012	UHPLC 色谱柱	Ultimate UHPLC XB-C18, 1.8 μ m, 2.1 \times 100mm
00802-02201	针头式过滤器	进口 NY,13mm*0.22 μ m,100pk

