

SZDB/Z

深圳市标准化指导性技术文件

SZDB/Z 347—2019

乳及乳制品中舒巴坦的测定 高效液相色谱 串联质谱法

Determination of sulbactam in milk and dairy products by HPLC-MS/MS Method

2019-01-28 发布

2019-03-01 实施

深圳市市场和质量监督管理委员会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 原理	1
4 试剂和材料	1
4.1 试剂及试剂的配制	1
4.2 标准品及标准溶液的配制	1
5 仪器和设备	2
6 分析步骤	2
6.1 样品提取与净化	2
6.2 空白试验	2
6.3 仪器参考条件	2
6.4 测定	3
7 结果计算	3
8 精密度	4
9 方法检出限	4
附录 A（资料性附录）参考质谱条件	5
附录 B（资料性附录）添加回收率	6
附录 C（资料性附录）舒巴坦液相色谱串联质谱多反应检测（MRM）色谱图	7
附录 D（资料性附录）实验室内重复性要求	8

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本文件由深圳市食品药品监督管理局归口。

本文件起草单位：深圳市计量质量检测研究院。

本文件起草人：梁茉刚、刘奕雄、杜业刚、李超、陶喜生、黄磊、孙林、唐俗、王维茜、朱雨田。

乳及乳制品中舒巴坦的测定 高效液相色谱串联质谱法

1 范围

本文件规定了乳及乳制品中舒巴坦的测定方法。

本文件适用于乳及乳制品中舒巴坦的测定。

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。

GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测

3 原理

乳及乳制品用酸性溶液超声提取，经高速离心，取上清液经 HLB 固相萃取小柱净化，用液相色谱-串联质谱法测定和确证，外标法定量。

4 试剂和材料

4.1 试剂及试剂的配制

4.1.1 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

4.1.2 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

4.1.3 乙酸（ CH_3COOH ）：色谱纯。

4.1.4 0.2%乙酸溶液：移取 2 mL 乙酸加入到水中，定容至 1000 mL。

4.2 标准品及标准溶液的配制

4.2.1 标准物质：舒巴坦（CAS：68373-14-8）纯度大于 98.0%。

4.2.2 标准品的配制：准确称取适量标准物质，用水配制成 100 mg/L 储备液，储备液在 -18 °C 以下储备于棕色瓶中。

4.2.3 标准品的中间储备溶液（1.00 mg/L）：将标准储备液（4.2.2）逐级稀释成 1.00 mg/L 标准中间溶液，在 -18 °C 以下储备于棕色瓶中。

如无特别说明，所用的试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱串联质谱仪：带电喷雾离子源（ESI）。
- 5.2 氮吹浓缩仪。
- 5.3 电子天平（感量 0.01 g）。
- 5.4 电子天平（感量 0.0001 g）。
- 5.5 固相萃取装置。
- 5.6 高速离心机：转速不低于 9800 r/min。
- 5.7 旋涡振荡器。
- 5.8 固相萃取小柱（HLB）。
- 5.9 微量可调移液器：（10~100） μL 。
- 5.10 微量可调移液器：（100~1000） μL 。

6 分析步骤

6.1 样品提取与净化

6.1.1 试样制备

取新鲜或冷藏的空白或供试乳及乳制品，混合均匀。

—— 取均质后的供试样品，作为供试试料。

—— 取均质后的空白样品，作为空白试料。

—— 取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试料。

6.1.2 样液提取

称取试样 5 g（精确至 0.01 g），加入 15 mL 0.2 % 乙酸溶液，涡旋 30 s，超声提取 20 min，用 0.2 % 乙酸水溶液定容至 25 mL，涡旋混匀后，9800 r/min 离心 10 min，取上清液待净化。

6.1.3 净化样品

柱子预处理：HLB 固相萃取小柱，使用时先用 5 mL 甲醇、5 mL 0.2 % 乙酸溶液进行活化。

样品净化：取上清液 10 mL 自然流过小柱，用 5 mL 0.2 % 乙酸水溶液淋洗小柱，将小柱抽干，加 5 mL 甲醇进行洗脱，收集洗脱液，洗脱液用氮气吹干，用 2.00 mL 水溶解，涡旋混合 10 s，经 0.22 μm 滤膜过滤，用液相色谱-串联质谱测定。

6.2 空白试验

称取不含目标物的样品，以下实验步骤与样品操作相同（6.1）。

6.3 仪器参考条件

6.3.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱: Hilic 3.0 mm×100 mm, 2.7 μm 或相当者;
- b) 流动相: A: 5 mmol/L 乙酸铵溶液 B: 乙腈;
- c) 流速: 300 μL/min;
- e) 柱温: 40℃;
- f) 进样量: 4 μL。

表 1 舒巴坦梯度洗脱程序

时间/min	乙腈%	乙酸铵溶液%
0	20	80
1.00	20	80
2.50	80	20
3.00	20	80
5.00	20	80

6.3.2 质谱操作条件

- a) 电离模式: 电喷雾离子源 (ESI)。
- b) 质谱扫描方式: 多反应离子监测 (MRM)。
- c) 详细质谱条件参见附录 A。

6.4 测定

6.4.1 标准工作曲线制备

取空白样品按照6.1步骤制备空白基质溶液, 将标准工作液用空白基质溶液逐级稀释1.0 ng/mL~50.0 ng/mL标准系列溶液

6.4.2 定性测定

每种被测组分选择 1 个母离子, 2 个以上子离子, 在相同实验条件下, 样品中待测物和内标物的相对保留时间, 与标准溶液中对应的相对保留时间偏差在±2.5 %之内; 且样品中各组分定性离子的相对丰度与浓度相近的标准溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较, 若偏差不超过表 1 规定的范围, 则可判断样品中存在对应的待测物。

表 1 定性确证相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	>20%~50%	>10%~20%	≤10%
允许的最大偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

6.4.3 定量测定

按照外标法进行定量计算。

7 结果计算

该方法中标准工作溶液和样液中药物残留的响应值均应在仪器的检测线性范围内。

按下列公式计算出乳及乳制品中的舒巴坦的含量：

$$X = \frac{A \times C_s \times V}{A_s \times m}$$

式中：

- X ——试样中待测组分的含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)；
- A ——测定液中待测组分的峰面积；
- C_s ——标准溶液中待测组分的浓度 ($\mu\text{g}/\text{L}$)；
- V ——定容体积 (mL)；
- A_s ——标准溶液中待测组分的峰面积；
- m ——试样的质量 (g)。

计算结果扣除空白，结果保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值与算术平均值的比值（百分率），应符合附录 D 的要求

9 方法检出限

乳及乳制品中舒巴坦的检出限 $0.30 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

附录 A
(资料性附录)
参考色谱条件

A.1 舒巴坦质谱条件

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：负离子扫描；
- c) 电喷雾电压 (IS)：-2500 V；
- d) 气帘气 (CUR)：40 psi；
- e) 雾化气 (GS1)：65 psi；
- f) 辅助气 (GS2)：65 psi
- g) 离子源温度 (TEM)：550 °C；
- h) 其他质谱参数见表 A.1。

表 A.1 舒巴坦的质谱参数

待测化合物名称	Q1 (m/z)	Q2(m/z)	碰撞能量(v)
舒巴坦	232.2	64.0	-52
	232.2	140.0*	-17
*定量离子			

附录 B
(资料性附录)
添加回收率

表 B.1 本方法添加浓度范围及回收率 (n=6)

药品名称	样品种类	检出限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加水平/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/%
舒巴坦	牛奶	0.30	5.00	76.4~90.4
			10.0	80.9~93.5
			20.0	84.6~97.6
	羊奶	0.30	5.00	83.0~97.4
			10.0	80.9~95.4
			20.0	84.2~99.6
	酸乳	0.30	5.00	77.8~92.6
			10.0	82.1~97.4
			20.0	84.2~93.2
	奶粉	0.30	5.00	72.6~91.8
			10.0	83.2~98.7
			20.0	81.3~103

附录 C

(资料性附录)

舒巴坦液相色谱串联质谱多反应检测 (MRM) 色谱图

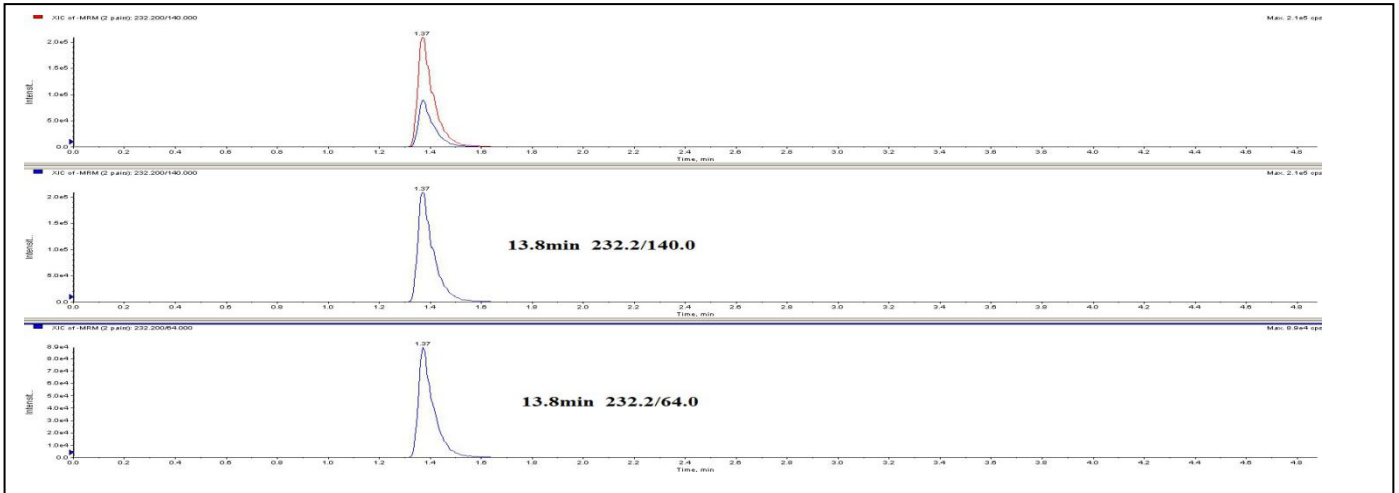


图 C.1 舒巴坦液相色谱串联质谱多反应检测 (MRM) 色谱图

附录 D
(资料性附录)
实验室内重复性要求

表 D.1 实验室内重复性要求

被测组分含量 mg/kg	精密度 %
≤ 0.001	36
$> 0.001 \leq 0.01$	32
$> 0.01 \leq 0.1$	22
$> 0.01 \leq 1$	18
> 1	14