ICS 67.050
CCS X 04

中华人民共和国国家标准

GB 31658.37—2026

食品安全国家标准　动物性食品中氮哌酮及其代谢物残留量的测定　液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—Determination of azaperone and its metabolite residues in animal derived food—Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

2026-04-24 发布　　2026-10-01 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　发布
国家市场监督管理总局

纸质版与电子版为准
参考件

前　言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则　第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

印刷纸质文本为参考件
联系电话010-59194426

食品安全国家标准
动物性食品中氮哌酮及其代谢物残留量的测定
液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了动物性食品中氮哌酮及其代谢物氮哌醇残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于猪、牛的肌肉、肝脏、肾脏和脂肪中氮哌酮及其代谢物氮哌醇残留量的测定。其他畜禽产品的检测经验证后可参照执行。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中残留的氮哌酮和氮哌醇，经氨化乙腈提取，饱和氯化钠水溶液净化，正己烷除脂，液相色谱-串联质谱法测定，内标法定量。

5 试剂和材料

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。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇(CH_3OH)：色谱纯。

5.1.2 乙腈(CH_3CN)：色谱纯。

5.1.3 甲酸(HCOOH)：色谱纯。

5.1.4 正己烷(C_6H_{14})。

5.1.5 氨水($NH_3 \cdot H_2O$)：25%～28%。

5.1.6 氯化钠(NaCl)。

5.2 溶液配制

5.2.1 1%氨化乙腈溶液：取 1 mL 氨水，加乙腈稀释至 100 mL，混匀。

5.2.2 2%甲酸水溶液：取 2 mL 甲酸，加水稀释至 100 mL，混匀。

5.2.3 0.1%甲酸水溶液：取 1 mL 甲酸，加水稀释至 1 000 mL，混匀。

5.3 标准品

氮哌酮、氮哌醇、氮哌酮-D_4、氮哌醇-D_4 标准品，纯度均≥99%，见附录 A。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 标准储备溶液：取氮哌酮和氮哌醇标准品各适量(相当于各待测组分 10 mg)，精密称定，分别于

10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液，−18 ℃以下保存，有效期 6 个月。

5.4.2 内标储备溶液：取氮哌酮-D_4和氮哌醇-D_4标准品各适量（相当于各待测组分 10 mg），精密称定，分别于 100 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为 100 mg/L 的内标储备溶液，−18 ℃以下保存，有效期 6 个月。

5.4.3 混合标准工作溶液：准确移取氮哌酮和氮哌醇标准储备溶液（5.4.1）各 1 mL 于 100 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度为 10 μg/mL 的混合标准工作液，4 ℃以下保存，有效期 1 个月。

5.4.4 混合内标工作溶液：准确移取氮哌酮-D_4 和氮哌醇-D_4 内标储备溶液（5.4.2）各 0.2 mL 于 100 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度为 200 μg/L 的混合内标工作溶液，4 ℃以下保存，有效期 1 个月。

5.5 材料

微孔滤膜：0.22 μm 有机系尼龙滤膜。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

6.2 分析天平：感量为 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.3 氮吹仪。

6.4 超声波清洗仪。

6.5 恒温水浴振荡器。

6.6 涡旋混合器。

6.7 高速离心机：转速不低于 8 000 r/min。

6.8 组织匀浆机。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试样品，并使均质。

a） 取均质后的供试样品，作为供试试样；

b） 取均质后的空白样品，作为空白试样；

c） 取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

7.2 试样的保存

−18 ℃以下保存。

8 测定步骤

8.1 肌肉、肝脏和肾脏的提取

称取试料（5±0.05）g，置于 50 mL 离心管中，加入 50 μL 混合内标工作液和 10 mL 1%氨化乙腈溶液，涡旋混合 1 min，超声 10 min，8 000 r/min 离心 5 min，转移上清液至另一个 50 mL 离心管，残渣再用 10 mL 1%氨化乙腈溶液重新提取 1 次，合并上清液，备用。

8.2 脂肪的提取

称取试料（5±0.05）g 置于 50 mL 离心管中，加入 50 μL 混合内标工作液和 10 mL 1%氨化乙腈溶液，放置于 55 ℃水浴振荡 30 min，每隔 6 min 手摇 10 s，8 000 r/min 离心 5 min，转移上清液至另一个 50 mL 离心管，残渣再用 10 mL 1%氨化乙腈溶液重新提取 1 次，合并上清液，备用。

8.3 净化

在上清液中加 10 mL 水和 4 g NaCl，涡旋混合 1 min，振荡 10 min，4 500 r/min 离心 5 min，转移

4.0 mL 上层有机相至另一个 15 mL 离心管，于 40 ℃下氮气吹干。残渣加入 1.0 mL 2%甲酸水溶液和 2 mL 正己烷，超声 1 min，涡旋混合 1 min，4 500 r/min 离心 5 min，弃去上层有机相，下层溶液过 0.22 μm 滤膜，供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.4 标准工作曲线的制备

精密量取适量混合标准工作溶液及混合内标工作溶液，用 2%甲酸水溶液稀释配制成浓度为 1.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、50.0 μg/L、100.0 μg/L、200.0 μg/L 的系列标准工作液，同位素内标工作溶液浓度均为 2.0 μg/L，供液相色谱-串联质谱仪测定。以待测物与同位素内标物的特征离子质量色谱图面积比值为纵坐标、对应浓度为横坐标绘制标准曲线，求回归方程和相关系数。

8.5 测定

8.5.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱：C_{18}柱，柱长 100 mm，内径 2.1 mm，粒径 1.7 μm，或相当者；
b) 进样量：5.0 μL；
c) 流速：0.3 mL/min；
d) 柱温：35 ℃；
e) 流动相：A 为 0.1%甲酸水溶液，B 为甲醇，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
3.5	40	60
4.0	0	100
4.5	90	10
6.0	90	10

8.5.2 质谱参考条件

a) 电离方式：电喷雾电离(ESI)；
b) 扫描方式：正离子模式；
c) 检测方式：多反应监测(MRM)；
d) 离子源温度：150 ℃；
e) 电喷雾电压：3 000 V；
f) 雾化气流速：15 L/min(氮气)；
g) 雾化气压力：30 psi；
h) 鞘气温度：300 ℃；
i) 鞘气流速：12 L/min(氮气)；
j) 碰撞气体：氮气；
k) 定性离子对、定量子离子和碰撞能量见表 2。

表 2 化合物的定性离子对、定量离子对和碰撞能量

化合物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	碰撞能量 eV
氮哌酮	328.2>122.9 328.2>165	328.2>165	35 20
氮哌醇	330.1>121.1 330.1>312	330.1>312	30 15
氮哌酮-D_4	331.9>169 331.9>121	331.9>169	20 20
氮哌醇-D_4	334.1>121 334.1>316.5	334.1>121	30 15

8.5.3 测定法

8.5.3.1 定性测定

在相同测试条件下，试样溶液中待测物与其内标物的保留时间之比与标准溶液中待测物与其内标物的保留时间之比偏差在1%以内；且检测到的相对离子丰度，应与浓度相当的校正标准溶液相对离子丰度一致，其允许偏差为±40%。

8.5.3.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准溶液，作单点或多点校准，按内标法定量。试样溶液及标准溶液中待测物响应值均应在仪器检测的线性范围之内。当样品中待测物残留量超仪器线性范围的，在提取时根据药物浓度相应增加内标工作液添加量，使试样溶液稀释后待测物的响应在仪器线性范围内。在上述色谱-质谱条件下，待测物及其同位素内标溶液的特征离子质量色谱图见附录B。

8.6 空白试验

取空白试样，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中待测物的残留量按标准曲线或公式(1)计算。

$$\omega=\frac{A_i\times A'_{iS}\times\rho_S\times\rho_{iS}\times V_3\times V_1}{A_{iS}\times A_S\times\rho'_{iS}\times m\times V_2} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

ω ——供试试样中被测物残留量的数值，单位为微克每千克(μg/kg)；

A_i ——试样溶液中被测物峰面积；

A'_{iS} ——标准溶液中同位素内标物峰面积；

ρ_S ——标准溶液中被测物浓度的数值，单位为微克每升(μg/L)；

ρ_{iS} ——试样溶液中同位素内标物浓度的数值，单位为微克每升(μg/L)；

V_3 ——样品溶液定容体积的数值，单位为毫升(mL)；

V_1 ——提取溶剂总体积的数值，单位为毫升(mL)；

A_{iS} ——试样溶液中同位素内标峰面积；

A_S ——标准溶液中被测物峰面积；

ρ'_{iS} ——标准溶液中同位素内标物浓度的数值，单位为微克每升(μg/L)；

m ——供试试样质量的数值，单位为克(g)；

V_2 ——吸取出用于检测提取溶液体积的数值，单位为毫升(mL)。

注：计算结果保留3位有效数字。

10 灵敏度、正确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法在猪、牛的肌肉、脂肪、肾脏和肝脏组织中氮哌酮和氮哌醇的检出限均为1.0 μg/kg，定量限均为5.0 μg/kg。

10.2 正确度

本方法在猪、牛的肌肉、脂肪、肾脏和肝脏组织中氮哌酮和氮哌醇在5.0 μg/kg～100.0 μg/kg添加浓度水平的回收率为70%～120%。

10.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差≤15%，批间相对标准偏差≤20%。

附 录 A
（规范性）
氮哌酮和氮哌醇及其内标物信息

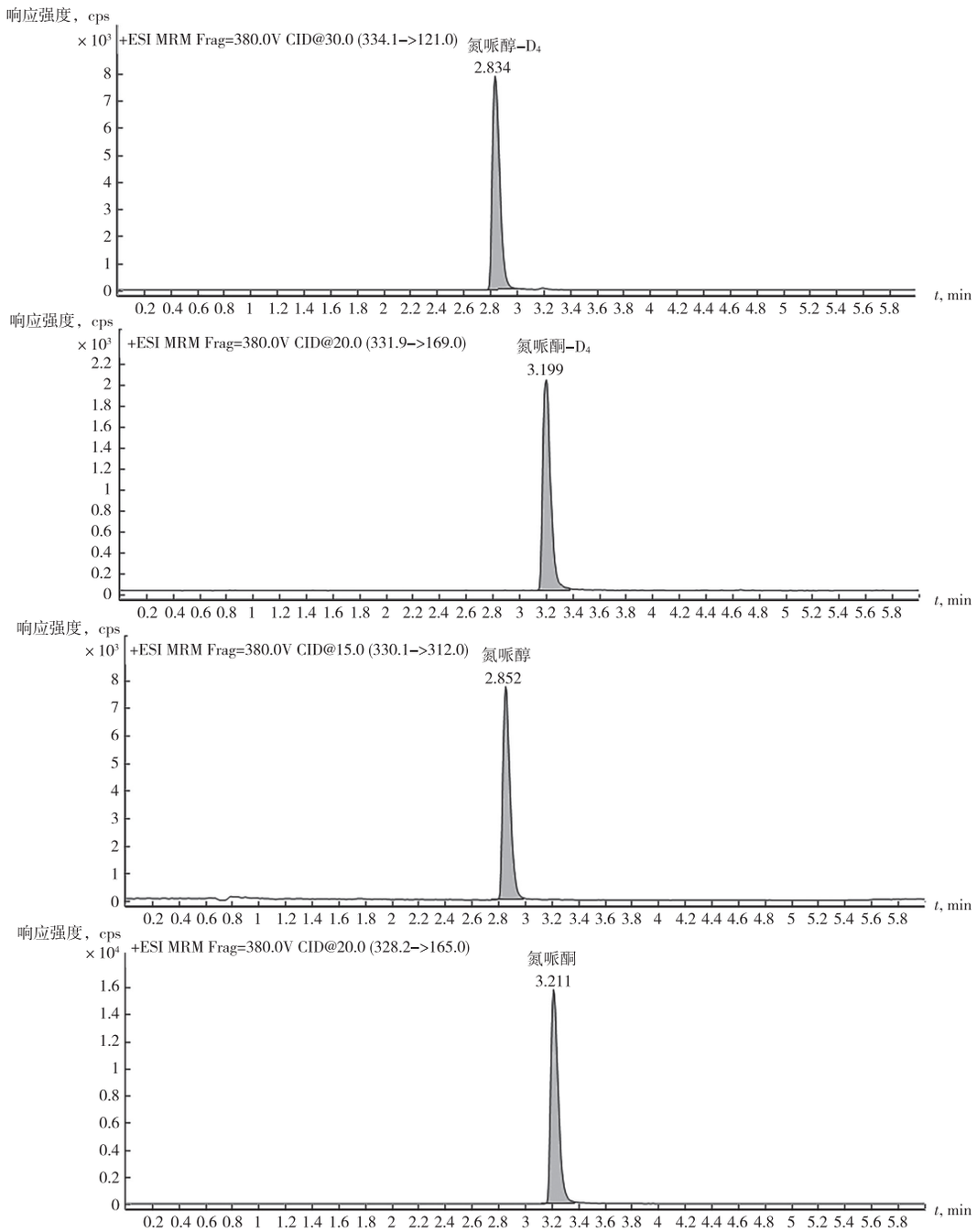
氮哌酮和氮哌醇及其内标物的中英文通用名称、CAS 号、化学分子式及相对分子质量见表 A.1。

表 A.1 氮哌酮和氮哌醇及其内标物信息

序号	中文通用名称	英文通用名称	CAS 号	化学分子式	相对分子质量
1	氮哌酮	Azaperone	1649-18-9	$C_{19}H_{22}FN_3O$	327.4
2	氮哌醇	Azaperol	2804-05-9	$C_{19}H_{24}FN_3O$	329.4
3	氮哌酮-D_4	Azaperone-D_4	1173021-72-1	$C_{19}H_{18}D_4FN_3O$	331.4
4	氮哌醇-D_4	Azaperol-D_4	—	$C_{19}H_{20}D_4FN_3O$	333.4

附　录　B
（资料性）
标准溶液特征离子质量色谱图

氮哌酮和氮哌醇及其内标物溶液特征离子质量色谱图见图 B.1。



注：氮哌酮和氮哌醇浓度均为 5.0 μg/L，氘代内标浓度均为 2.0 μg/L。

图 B.1　氮哌酮和氮哌醇及其内标物溶液特征离子质量色谱图