

中华人民共和国国家标准

农业部 1063 号公告—7—2008

饲料中8种 β -受体激动剂的检测 气相色谱—质谱法

Simultaneous determination of 8 kinds of β -adrenergic agonists in feedstuffs
Gas chromatography-mass spectrometry

2008-07-15 发布

2008-07-15 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部畜牧业司提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：农业部饲料效价与安全监督检验测试中心（北京）、国家饲料质量监督检验中心（北京）、北京市饲料监察所。

本标准主要起草人：张丽英、王宗义、尚彬如、范理、丁美方、贺平丽、杨文军、苏晓鸥、苏淑清。

饲料中 8 种 β -受体激动剂的检测 气相色谱—质谱法

1 范围

本标准规定了测定饲料中 8 种 β -受体激动剂的气相色谱—质谱法(GC-MS)。

本标准适用于配合饲料中氯丙那林、马布特罗、特布他林、盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、齐帕特罗、班布特罗、莱克多巴胺的测定。本方法的定量限和检出限：莱克多巴胺为 0.5 mg/kg 和 0.1 mg/kg，其他 7 种类药物分别为 0.05 mg/kg 和 0.01 mg/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。凡是注明日期的引用文件，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 6682 分析实验室用水规格和实验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 方法原理

试样经乙酸钠缓冲溶液提取，提取液过固相萃取柱(SPE)净化，吹干，经衍生后，直接在气相色谱—质谱联用仪上测定。

4 试剂和溶液

除特殊注明外，本标准所用试剂均为分析纯。水符合 GB/T 6682 二级用水规定。

- 4.1 氨水。
- 4.2 冰乙酸。
- 4.3 三水合乙酸钠。
- 4.4 衍生剂：双三甲基三氟乙酰胺(BSTFA)+三甲基氯硅烷(TMCS)= 99+1。
- 4.5 甲苯：色谱纯。
- 4.6 甲醇：色谱纯。
- 4.7 标准品：纯度 $>98.5\%$ 。
- 4.8 氮气：普通氮气。
- 4.9 氦气：纯度 99.999%。
- 4.10 混合型阳离子固相萃取柱：3 mL/60mg。
- 4.11 乙酸钠缓冲液：称取 31.63 g 三水合乙酸钠(4.3)溶于水，加入 11.6 mL 冰乙酸(4.2)，pH 约为 4.8，用水稀释至 1 L。
- 4.12 1 mol/L 乙酸溶液：移取 5.7 mL 冰乙酸(4.2)于 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。
- 4.13 洗脱液：取 3.5 mL 氨水(4.1)于 100 mL 容量瓶中，用乙酸乙酯定容至刻度，摇匀。
- 4.14 标准溶液的配制

4.14.1 标准贮备液:200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,称取氯丙那林、马布特罗、特布他林、盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、齐帕特罗、班布特罗、莱克多巴胺标准品各 5 mg(精确至 0.000 01 g),分别溶解于甲醇中,并定容至 25 mL。于冰箱中 4℃保存,保存期 1 个月。

4.14.2 标准工作液:移取标准贮备液(4.13.1)于 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,配制成 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准系列。

5 仪器、设备

5.1 天平:感量 0.01 g 和感量 0.000 01 g 各一台。

5.2 振荡器。

5.3 固相萃取净化装置。

5.4 氮吹装置。

5.5 电热恒温鼓风干燥箱。

5.6 气相色谱—质谱联用仪。

6 试样制备

按照 GB/T 14699.1 规定方法采样,采取样品量至少 500 g,按 GB/T 20195 制备样品,样品以四分法缩减至 200 g,粉碎过 0.42 mm 孔径筛,充分混匀,装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 试样提取

准确称取试样 5 g,准确至 0.01 g,置于 250 mL 三角瓶中,准确加入乙酸钠缓冲液(4.11)50 mL,振荡使之全部浸湿,盖紧塞子,放在旋转振荡器上,振荡 25 min 取下,溶液通过定性滤纸过滤,收集 30 mL 备用。

7.2 净化

将固相萃取柱(4.10)固定于 SPE 净化装置(5.3)上,依次用 3 mL 甲醇和 3 mL 水活化、平衡。然后,精确吸取 2 mL 试样溶液(7.1)全部加到小柱上,控制过柱速度不超过 1 mL/min,分别用 2 mL 乙酸溶液(4.12)和 3 mL 甲醇淋洗一次,最后用 3 mL 洗脱液(4.13)洗脱于 5 mL 衍生瓶中,洗脱速度不超过 1 mL/min。将洗脱液置于 40℃水浴条件下,用氮气吹干。同时取标准溶液 2 mL 于 5 mL 衍生瓶中,加 1 mL 洗脱液(4.13),40℃水浴条件下氮气吹干。

7.3 衍生

在衍生瓶中加入甲苯(4.5)100 μL ,衍生剂(4.4)100 μL ,充分涡旋混合后,置 70℃烘箱中,反应 1 h。冷却至室温后上机测定。

7.4 测定

7.4.1 色谱条件

- 色谱柱:AB-5MS (DB-5MS):长 30 m,内径 0.25 mm,液膜厚 0.25 μm ;
- 载气:氮气(纯度 99.999%),流速 1 mL/min;
- 进样口温度:250℃;
- 进样量:1 μL ,不分流,分流阀关闭时间 1.0 min;
- 柱温程序:100℃保持 1 min,10℃/min 升温至 280℃保持 4 min。

7.4.2 质谱条件

- EI 源电子轰击能:70 eV;
- 源温度:230℃;

- c) 转接口温度:280℃;
 d) 四极杆温度:150℃;
 e) 溶剂延迟:9 min。
 f) 8 种 β -受体激动剂三甲基硅烷衍生物选择离子监测见表 1。

表 1 8 种 β -受体激动剂三甲基硅烷衍生物的监测离子

β -受体激动剂	监测离子 m/z
氯丙那林	270, 72, 104, 180
马布特罗	277, 204, 296, 311
特布他林	356, 280, 336, 426
克伦特罗	262, 212, 243, 277
沙丁胺醇	369, 72, 116, 203
齐帕特罗	308, 218, 291, 405
班布特罗	354, 282, 309, 439
莱克多巴胺	267, 179, 250, 502

7.4.3 定性定量方法

7.4.3.1 定性方法:样品与标准品保留时间的相对偏差不大于 0.5%。特征离子基峰百分数与标准品相差不大于 20%。

7.4.3.2 定量方法:选择离子监测(SIM)法计算峰面积,标准工作液和样品溶液中响应值均应在仪器的线性范围内。如果浓度过高,需要适当稀释。外标法定量。

8 分析结果的计算

试样中 β -受体激动剂含量(X)以质量分数表示($\mu\text{g/g}$),可用公式(1)计算:

$$X = \frac{A_x}{A_s \times m} \times n \times P_s \dots\dots\dots (1)$$

式中:

A_x —— 试样溶液峰峰面积响应值;

A_s —— 标准溶液色谱峰响应值;

P_s —— 标准溶液浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

m —— 试样质量,单位为克(g);

n —— 稀释倍数。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

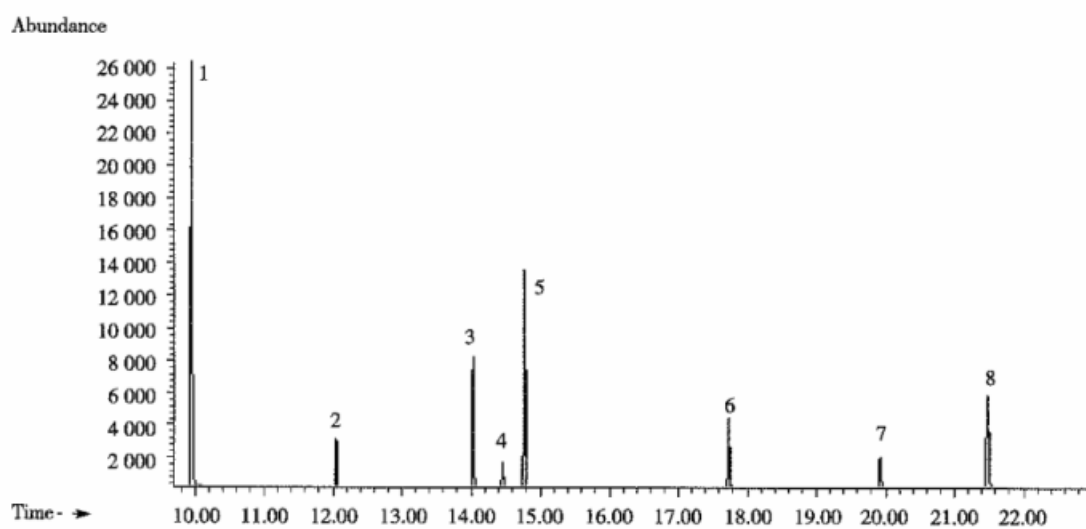
9 重复性

同一实验室同一操作人员完成的两个平行测定的相对偏差不大于 20%。

附 录 A

(资料性附录)

饲料中 8 种 β -受体激动剂气相色谱—质谱总离子流色谱图



1——氯丙那林;

2——马布特罗;

3——特布他林;

4——克伦特罗;

5——沙丁胺醇;

6——齐帕特罗;

7——班布特罗;

8——莱克多巴胺。

图 A. 1 饲料中 8 种 β -受体激动剂气相色谱—质谱总离子流色谱图