

中华人民共和国国家标准

农业部 1862 号公告—5—2012

饲料中地克珠利的测定 液相色谱—串联质谱法

Determination of diclazuril in feeds—
Liquid chromatography–tandem mass spectrometry

2012-12-03 发布

2012-12-03 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1 给出的规则起草。

本标准由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(SAC/TC 76)归口。

本标准起草单位:中国农业大学。

本标准主要起草人:沈建忠、张素霞、程林丽、王战辉、温凯、史为民、吴聪明、江海洋。

饲料中地克珠利的测定 液相色谱—串联质谱法

1 范围

本标准规定了配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中地克珠利的液相色谱—串联质谱分析方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中地克珠利含量的测定。

本标准地克珠利的定量限为 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

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 方法原理

饲料中的药物经乙腈提取, C_{18} 固相萃取柱净化, 用液相色谱—串联质谱法测定, 外标法定量。

4 试剂和材料

以下所用试剂, 除特殊注明外均为分析纯试剂, 水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

- 4.1 标准品纯度: 地克珠利(Diclazuril, DIC) $\geq 99.7\%$ 。
- 4.2 甲醇: 色谱纯。
- 4.3 乙腈: 色谱纯。
- 4.4 N,N-二甲基甲酰胺。
- 4.5 C_{18} 固相萃取柱, 200 mg/3 mL。
- 4.6 甲醇—水(20/80): 甲醇、纯水按体积比 1:4 混匀。
- 4.7 地克珠利标准液(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确称取适量的地克珠利, 用 N,N-二甲基甲酰胺溶解配成 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液。4℃保存, 有效期 12 个月。
- 4.8 地克珠利标准液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确量取适量的 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液, 用乙腈稀释成 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液。4℃保存, 有效期 6 个月。
- 4.9 地克珠利标准液(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确量取适量的 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液, 用乙腈稀释成 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液。4℃保存, 有效期 6 个月。
- 4.10 地克珠利标准工作液: 量取适量 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 地克珠利标准溶液, 用 0.1% 甲酸乙腈依次稀释成浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的标准工作液。现配现用。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱—串联质谱仪: 配有电喷雾离子源。
- 5.2 水平摇床。
- 5.3 涡动仪。

- 5.4 旋转蒸发仪。
- 5.5 离心机。
- 5.6 天平:感量 0.01 g。
- 5.7 分析天平:感量 0.000 1 g。
- 5.8 氮吹仪。
- 5.9 固相萃取装置。
- 5.10 移液器:10 μ L, 200 μ L, 1 000 μ L。
- 5.11 一次性注射器:1 mL。
- 5.12 0.22 μ m 有机滤膜。

6 试样制备

取 500 g 样品,四分法缩减取约 50 g。经粉碎,全部过 40 目孔筛,混匀装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 提取

称取试样 2 g(精确到 0.01 g)于 50 mL 离心管中,加 10 mL 乙腈,300 r/min 振荡 30 min,8 000 r/min 离心 10 min,取上清液至鸡心瓶。残渣用 5 mL 乙腈重复提取一次,合并两次上清液。50℃旋蒸至干,加入 4 mL 甲醇涡动 1 min,40℃超声 20 min 充分溶解残渣,加入纯水 7 mL。涡动 1 min 混匀备用。

7.2 净化

取 C_{18} 固相萃取柱,先后加入 3 mL 甲醇、3 mL 纯水预洗,将备用液过柱,加甲醇—水(20/80)3 mL 洗涤,抽干,加甲醇 3 mL 洗脱,收集洗脱液,50℃下氮气吹干,0.1%甲酸乙腈 1 mL 溶解残渣,过 0.2 μ m 滤膜后液相色谱—串联质谱测定。

注:固相萃取上述样液、洗涤液和洗脱液流速均不超过 1 mL/min。

7.3 基质添加标准曲线

称取空白试样按照 7.1 和 7.2 处理,待 C_{18} 固相萃取柱净化后再加入 10 μ g/mL 标准溶液适量,氮气吹干、0.1%甲酸乙腈溶解残渣,配制成不同浓度的基质添加标准工作液,过 0.22 μ m 有机滤膜后液相色谱—串联质谱检测。以药物浓度为横坐标、药物定量离子的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。以此曲线作为地克珠利的定量曲线。

7.4 测定

7.4.1 UPLC 色谱参考条件

色谱柱: C_{18} 柱,50 mm $\times$ 1.7 mm (i. d.),粒径 3.5 μ m;或相当者。

柱温:室温。

流动相:乙腈—0.1%甲酸(65+35)。

流速:0.2 mL/min。

进样体积:5.0 μ L。

7.4.2 质谱参考条件

电离源:电喷雾离子源(ESI)。

扫描方式:负离子扫描。

检测方式:多反应监测(MRM)。

电喷雾毛细管电压:2.8 kV。

离子源温度:120℃。

去溶剂温度:300℃。

倍增器电压:650 V。
二级碰撞气:氦气。
脱溶剂气流速:600 L/h。
喷雾气流速:27 L/h。
其他质谱条件参见表 1。

表 1 地克珠利测定的质谱分析条件

母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
405	334*	50	15
407	336	50	15
* 定量离子。			

7.4.3 定性测定

根据试样溶液中药物的含量,选择峰面积相近的标准工作液和样品溶液等体积参插进样。通过色谱保留时间与质谱选择离子共同定性。样品中待测药物与标准物质的保留时间相对偏差不大于 5%,而且其选择离子的相对丰度的偏差不大于 20%。

7.4.4 定量测定

分别取适量试样溶液和相应浓度的标准工作液,作单点校准或多点校准,以色谱峰面积积分值定量。标准工作液及试样液中药物的响应值均应在仪器检测的线性范围内,试样液进样过程中应参插标准工作液,以便准确定量。相关谱图参见图 A.1。

8 结果计算和表示

8.1 结果计算

试样中地克珠利含量 *X*,以质量分数微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$)表示,按式(1)计算:

$$X=\frac{C\times V}{m}\times n\cdots\cdots\cdots (1)$$

式中:
C——试样液中对应的地克珠利的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);
V——溶解残留物所用溶液的体积,单位为毫升(mL);
m——试样质量,单位为克(g);
n——稀释倍数。

8.2 结果表示

测定结果用平行测定后的算术平均值表示,保留三位有效数字。

9 重复性

在重复性条件下完成的两个平行测定结果的相对偏差不大于 15%。

附 录 A

(资料性附录)

地克珠利基质匹配标准溶液质量色谱图

地克珠利基质匹配标准溶液色谱图见图 A. 1。

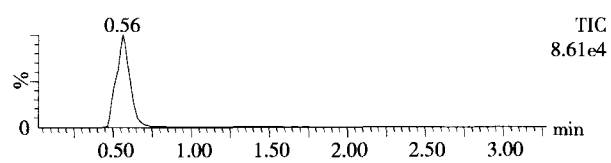


图 A. 1 基质匹配标准溶液色谱图