

中华人民共和国国家标准

农业部 1486 号公告—10—2010

饲料中三唑仑的测定 气相色谱—质谱法

Determination of triazolam in feeds—
Gas chromatography/mass spectrometry method

2010-11-16 发布

2010-11-16 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准遵照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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(SAC/TC 76)归口。

本标准起草单位:农业部饲料质量监督检验测试中心(成都)。

本标准主要起草人:李云、张静、高庆军、李宏、甄阳光、林顺全、冯娅。

饲料中三唑仑的测定气相色谱—质谱法

1 范围

本标准规定了测定饲料中三唑仑含量的气相色谱—质谱法(GC—MS)。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料。

本标准的检测限为 0.03 mg/kg,定量限为 0.1 mg/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

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

用甲醇从饲料中提取三唑仑,离心,取上清液酸化后经阳离子固相萃取小柱净化,吹干,用合适的溶剂溶解,于气相色谱—质谱仪上测定。外标法计算其含量。

4 试剂和材料

除非另有说明,本标准所用试剂均为分析纯。

4.1 水:符合 GB/T 6682 一级用水的规定。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 1%乙酸溶液:取 1 mL 冰乙酸,用水稀释至 100 mL。

4.4 5%氨化甲醇:取 5 mL 氨水,用甲醇稀释至 100 mL。

4.5 阳离子固相萃取小柱(3 mL,60 mg)。

4.6 三唑仑标准溶液的配制。

4.6.1 标准储备液:准确称取 25.0 mg 三唑仑标准品,用甲醇溶解并定容至 100 mL。此储备液浓度为 250 $\mu\text{g/mL}$ 。置于 2℃~8℃冰箱中保存,有效期三个月。

4.6.2 标准中间液 I:将标准储备液(4.6.1)用甲醇稀释为 100 $\mu\text{g/mL}$,置于 2℃~8℃冰箱中保存,有效期一个月。

4.6.3 标准中间液 II:将标准储备液(4.6.1)用甲醇稀释为 10 $\mu\text{g/mL}$,置于 2℃~8℃冰箱中保存,有效期一个月。

4.6.4 标准工作液:分别移取标准中间液 II(4.6.3)1.0 mL、5.0 mL、10.0 mL 于 100 mL 容量瓶中,标准中间液 I(4.6.2)2.0 mL、5.0 mL 于 100 mL 容量瓶中,用甲醇稀释、定容,配制成浓度分别为 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液。置于 2℃~8℃冰箱中保存,有效期两周。

4.7 微孔滤膜(0.45 μm)。

5 仪器和设备

- 5.1 气相色谱—质谱仪。
- 5.2 实验室用样品粉碎机。
- 5.3 分析天平:感量 0.000 1 g。
- 5.4 天平:感量 0.01 g。
- 5.5 离心机。
- 5.6 超纯水器。
- 5.7 超声波清洗器。
- 5.8 涡旋混合器。
- 5.9 振荡机。
- 5.10 带盖塑料离心管:50 mL。
- 5.11 氮吹仪。
- 5.12 固相萃取装置。

6 采样和试样的制备

按 GB/T 14699.1 的规定采集试样后,按 GB/T 20195 的规定选取具有代表性的实验室样品 1 kg,四分法缩减分取 200 g 左右,粉碎过 1 mm 孔筛,混匀装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 提取

准确称取配合饲料、浓缩饲料或预混饲料 2 g(精确到 0.01 g),置于离心管(5.10)中,准确加入甲醇 10.0 mL(浓缩饲料和预混饲料采用 20.0 mL),加盖密封,振荡提取 15 min,5 000 r/min 离心 5 min。精密量取上清液 5.0 mL 置于具塞试管中,加入 1 mL 1%乙酸溶液(4.3),混匀,备用。

7.2 净化

将经酸化后的提取液通过用 3 mL 甲醇和 3 mL 水活化过的阳离子固相萃取小柱(4.5),过柱速度不超过 2 mL/min,依次用 3 mL 水和 3 mL 甲醇淋洗固相萃取柱,抽干。最后用 4 mL 5%氨化甲醇(4.4)洗脱,洗脱液于氮吹仪(5.11)40℃下吹干,准确加入甲醇 500 μ L,涡旋 30 s,过 0.45 μ m 微孔滤膜(4.7)后进行测定。

7.3 测定

7.3.1 GC/MS 测定参数

色谱柱:5%苯基甲基聚硅氧烷毛细管柱,长 30 m,内径 0.25 mm,膜厚 0.25 μ m,或相当者;

载气:氦气(纯度 99.999%);

流速:1.0 mL/min;

进样口温度:300℃;

进样量:1.0 μ L,不分流方式;

柱温程序:初始温度 150℃,保持 1 min,然后以 20℃/min 升至 310℃,保持 7 min;

EI 源电子轰击能量:70 eV;

离子源温度:230℃;

四极杆温度:150℃;

GC/MS 传输线温度:280℃;

EM 电压:高于调谐电压 200 V;

溶剂延迟:7 min;

质量扫描范围(m/z):40 amu~400 amu;

选择离子监测(m/z):137、238、313、342。定量离子:313。

7.3.2 定性定量方法

7.3.2.1 定性方法

样品与标准品保留时间的相对偏差不大于 1%。样品定性离子相对丰度与浓度相近的标准品离子相对丰度比较,偏差不超过表 1 的规定范围。

表 1 相对离子丰度的最大允许误差

相对离子丰度, %	>50	20~50	10~20
最大允许误差, %	±10	±15	±20

7.3.2.2 定量方法

采用选择离子监测(SIM)法,取适量样品溶液和相应的标准工作溶液进样,以定量离子峰面积为纵坐标,以三唑仑浓度为横坐标进行单点或多点校准定量。标准工作液和样品溶液中三唑仑的响应值均应在仪器线性范围以内。

8 结果计算

饲料中三唑仑的含量 X ,以质量分数(mg/kg)表示,按式(1)计算:

$$X = \frac{A_x \times C_s \times V_1 \times V_2}{A_s \times V_3 \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——饲料中三唑仑的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A_x ——样品溶液中三唑仑的峰面积;

A_s ——标准溶液中三唑仑的峰面积;

C_s ——标准溶液三唑仑的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V_1 ——提取液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——上机前定容体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——移取提取液上固相萃取小柱的体积,单位为毫升(mL);

m ——称取饲料的质量,单位为克(g)。

计算结果保留三位有效数字。

9 精密度

在同一实验室,由同一操作人员完成的两个平行测定结果,相对偏差不大于 20%;以两次平行测定结果的计算平均值为测定结果。

附 录 A
(资料性附录)
三唑仑标准图谱

A.1 三唑仑选择离子色谱图见图 A.1。

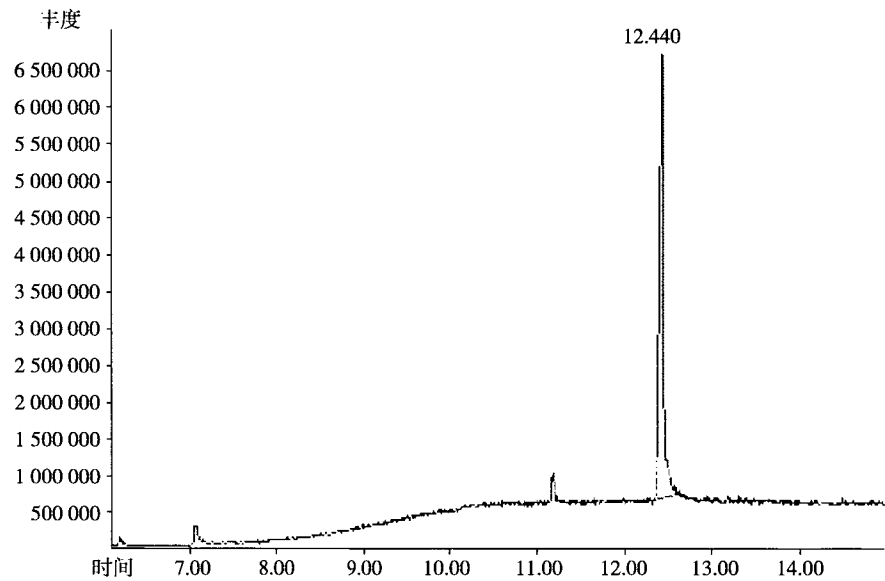


图 A.1 三唑仑选择离子色谱图

A.2 三唑仑选择离子质谱图见图 A.2。

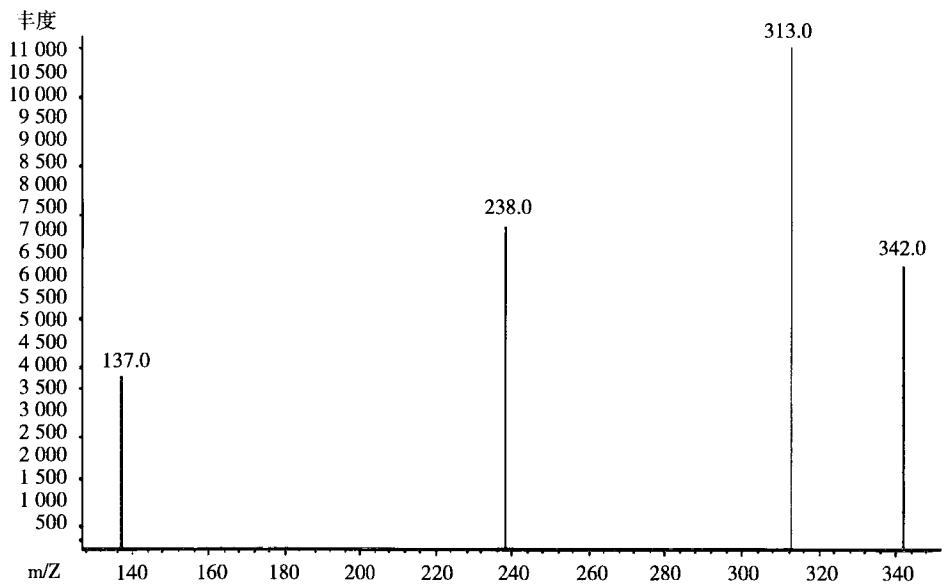


图 A.2 三唑仑选择离子质谱图