

中华人民共和国国家标准

农业农村部公告第 197 号—5—2019

饲料中可乐定等7种 α -受体激动剂的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of 7 alpha-agonists in feeds—
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2019-08-01 发布

2020-01-01 实施



中华人民共和国农业农村部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由农业农村部畜牧兽医局提出。

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:上海市动物疫病预防控制中心。

本标准主要起草人:黄士新、张婧、潘娟、严凤、吴剑平、李丹妮、张文刚、顾欣、黄家莺、贡松松。

饲料中可乐定等 7 种 α -受体激动剂的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了饲料中可乐定、替扎尼定、赛拉嗪、美托咪啶、胍那苳、利美尼定、胍法新 7 种 α -受体激动剂的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料及添加剂预混合饲料中可乐定、替扎尼定、赛拉嗪、美托咪啶、胍那苳、利美尼定、胍法新 7 种 α -受体激动剂的测定。

本标准方法的检出限为 0.01 mg/kg, 定量限为 0.05 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

试样经甲酸甲醇混合溶液提取, 混合型强阳离子交换柱净化, 洗脱液吹干后, 用试样稀释溶液溶解, 供液相色谱-串联质谱仪检测, 外标法定量。

4 试剂或材料

除非另有说明, 试剂均为分析纯。

4.1 水: GB/T 6682 规定的一级水。

4.2 乙腈: 色谱纯。

4.3 甲醇。

4.4 氨水甲醇溶液: 氨水+甲醇=5+95。

4.5 甲酸溶液: 准确移取 1 mL 甲酸, 用水稀释定容至 500 mL, 混匀。

4.6 试样提取溶液: 甲酸溶液(4.5)+ 甲醇(4.3)=1+9。

4.7 试样稀释溶液: 取甲酸溶液(4.5)+ 乙腈(4.2)=8+2。

4.8 α -受体激动剂标准储备溶液: 准确称取 α -受体激动剂对照品可乐定、替扎尼定、赛拉嗪、美托咪啶、胍那苳、利美尼定、胍法新(纯度 $\geq 98\%$)各 50.0 mg(精确至 0.01 mg)分别置于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释定容为 1 mg/mL 的 α -受体激动剂标准储备溶液。2℃~8℃条件下冷藏保存, 有效期为 6 个月。

4.9 α -受体激动剂混合标准中间溶液: 准确移取 α -受体激动剂标准储备溶液(4.8)100 μ L 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释定容, 摇匀。混合标准中间溶液中 7 种 α -受体激动剂的浓度均为 10 μ g/mL。2℃~8℃条件下冷藏保存, 有效期为 3 个月。

4.10 α -受体激动剂标准系列溶液: 准确移取 α -受体激动剂混合标准中间溶液(4.9)适量, 置于容量瓶中, 用试样稀释溶液(4.7)分别稀释成 7 种 α -受体激动剂浓度均为 0.5 μ g/L、1 μ g/L、5 μ g/L、10 μ g/L、20 μ g/L、50 μ g/L、100 μ g/L 的标准系列工作液。临用现配。

4.11 固相萃取小柱: 混合型强阳离子交换柱, 60 mg/3 mL。

4.12 尼龙滤膜: 0.22 μ m。

5 仪器设备

- 5.1 天平:感量为 0.01 mg 和 1 mg。
- 5.2 涡旋振荡器。
- 5.3 振荡仪。
- 5.4 离心机:转速不低于 8 000 r/min。
- 5.5 固相萃取装置。
- 5.6 氮吹仪。
- 5.7 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源。

6 样品

按 GB/T 14699.1 的规定采样。选取有代表性饲料样品至少 500 g,按 GB/T 20195 的规定制备试样,粉碎过 0.45 mm 孔径筛,充分混匀,装入磨口瓶中备用。

7 试验步骤

7.1 提取

平行做 2 份试验。准确称取 2 g(精确至 1 mg)试样于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 试样提取溶液(4.6),涡旋混匀,振荡提取 20 min,8 000 r/min 离心 10 min 后取上清液,作为试样提取溶液备用。

7.2 净化

用 3 mL 甲醇(4.3)、3 mL 固相萃取小柱(4.11),准确移取 2 mL 试样提取溶液(7.1)过柱,分别用 2 mL 水和 2 mL 甲醇(4.3)淋洗,用氨水甲醇溶液(4.4)5 mL 洗脱,收集洗脱液于氮吹仪 60℃ 吹干。用 1.0 mL 试样稀释溶液(4.7)溶解残余物,0.22 μm 滤膜过滤,作为试样溶液待测。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

色谱柱: C₁₈ 柱长 100 mm, 内径 3.0 mm, 粒度 1.8 μm, 或性能相当者。

柱温: 30℃。

进样量: 10 μL。

流动相 A: 乙腈(4.2); 流动相 B: 甲酸溶液(4.5), 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间, min	流速, mL/min	流动相 A, %	流动相 B, %
0.00	0.3	20	80
3.00	0.3	30	70
4.00	0.3	30	70
4.50	0.3	80	20
5.50	0.3	80	20
5.60	0.3	20	80
6.00	0.3	20	80

7.3.2 质谱参考条件

离子源: 电喷雾正离子源(ESI⁺)。

检测方式: 多反应监测(MRM)。

毛细管电压: 3.0 kV。

离子源温度:150℃。

脱溶剂温度:500℃。

脱溶剂气:氮气 800 L/h。

7 种 α -受体激动剂定性离子对、定量离子对及对应的锥孔电压和碰撞能量的参考值见表 2。

表 2 7 种 α -受体激动剂定性离子对、定量离子对及锥孔电压、碰撞能量的参考值

被测物名称	定性离子对, m/z	定量离子对, m/z	锥孔电压, V	碰撞能量, eV
可乐定	230.0>160.0	230.0>213.0	43	34
	230.0>213.0			24
赛拉嗪	221.1>90.0	221.1>90.0	30	22
	221.1>147.1			22
	221.1>164			26
美托咪啶	201.2>95.0	201.2>68.0	26	16
	201.2>68.0			30
胍那苳	231.0>172.0	231.0>172.0	28	24
	231.0>136.0			30
	231.0>85.0			16
利美尼定	181.2>67.0	181.2>67.0	20	20
	181.2>95.1			14
胍法新	246.0>60.0	246.0>60.0	26	16
	246.0>123.1			42
	246.0>159.0			26
替扎尼定	254.1>44.1	254.1>44.1	38	22
	254.1>210.0			30

7.3.3 标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取 α -受体激动剂标准系列溶液(4.10)和试样溶液(7.2)上机测定,标准曲线的线性相关系数不低于 0.98。

7.3.3.1 定性

每一被测组分按照表 2 选择定性离子对,在相同试验条件下,试样中待测物质的保留时间与 α -受体激动剂标准系列溶液(4.10)相应组分的保留时间的相对偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内,且试样中各组分定性离子的相对离子丰度与浓度接近的标准溶液中对应的定性离子的相对离子丰度进行比较,若偏差不超过表 3 规定的范围,则可判定为样品中存在对应的待测物。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为百分率

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

7.3.3.2 定量

α -受体激动剂标准系列溶液(4.10)和试样溶液(7.2)上机分析所得色谱峰面积的响应值作单点或多点校准,用外标法定量。试样溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。在上述色谱和质谱条件下,7 种 α -受体激动剂标准溶液的色谱图参见附录 A。

8 试验数据处理

试样中 α -受体激动剂的含量以质量分数计,按式(1)或式(2)计算。

单点校准:

$$\omega = \frac{C_s \times A \times V_1 \times V_2}{A_s \times m \times V_3 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- ω —— 试样中 α -受体激动剂的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- C_s —— 标准溶液中 α -受体激动剂的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
- A —— 试样溶液的峰面积;
- V_1 —— 试样中加入试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 —— 上机前试样稀释溶液的体积,单位为毫升(mL);
- A_s —— 标准溶液中 α -受体激动剂的峰面积;
- m —— 试样质量,单位为克(g);
- V_3 —— 提取液加入 SPE 小柱的体积,单位为毫升(mL)。

工作曲线校准:由 $A_s = aC_s + b$,求得 a 和 b ,则 $C = \frac{A-b}{a}$ 。

$$\omega = \frac{C \times V_1 \times V_2}{m \times V_3 \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

C —— 试液中 α -受体激动剂的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$)。

平行测定结果用算术平均值表示,结果保留 3 位有效数字。

9 精密度

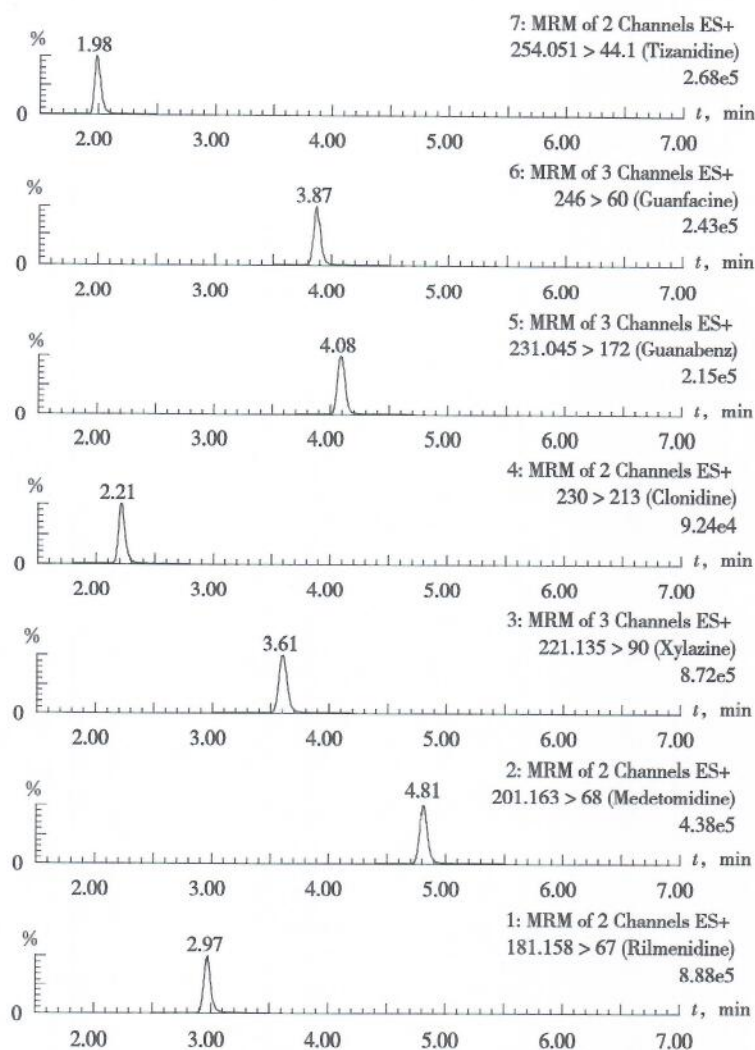
在重复性条件下,2 次独立测试结果与其算术平均值的绝对差值,不大于该平均值的 20%。

附录 A

(资料性附录)

7 种 α -受体激动剂标准溶液的色谱图

7 种 α -受体激动剂标准溶液的色谱图见图 A. 1。



注：自下而上依次为利美尼定(Rilmenidine)、美托咪啉(Medetomidine)、赛拉嗪(Xylazine)、可乐定(Clonidine)、胍那苳(Guanabenz)、胍法新(Guanfacine)、替扎尼定(Tizanidine)标准溶液的色谱图(浓度均为 50 $\mu\text{g/L}$)。

图 A. 1 7 种 α -受体激动剂标准溶液的色谱图

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
饲料中可乐定等 7 种 α -受体激动剂的测定
液相色谱-串联质谱法

农业农村部公告第 197 号—5—2019

* * *

中 国 农 业 出 版 社 出 版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)
(邮政编码: 100125 网址: www.ccap.ccm.cn)

北京印刷一厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

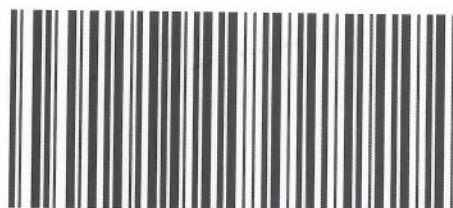
* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.75 字数 15 千字

2019 年 12 月第 1 版 2019 年 12 月北京第 1 次印刷

书号: 16109·4960

定价: 18.00 元



农业农村部公告第 197 号—5—2019

版权专有 侵权必究
举报电话: (010) 59194261