

中华人民共和国国家标准

农业农村部公告第 197 号—7—2019

饲料中福莫特罗、阿福特罗的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of N-[2-Hydroxy-5-[1-hydroxy-2-[1-(4-methoxyphenyl)
propan-2-ylamino]ethyl]phenyl]formamide 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。

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:四川省饲料工作总站[农业农村部饲料质量监督检验测试中心(成都)]。

本标准主要起草人:赵立军、张静、文畅、魏敏、王宇萍、林顺全、程传民。

饲料中福莫特罗、阿福特罗的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了饲料中福莫特罗、阿福特罗的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料和精料补充料中福莫特罗、阿福特罗的测定。

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

试样中的福莫特罗、阿福特罗经盐酸甲醇混合液提取, 混合型阳离子交换柱净化后用高效液相色谱-串联质谱仪测定, 内标法定量。

4 试剂和材料

除特别注明外, 所有试剂均为分析纯, 水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲醇: 色谱纯。

4.2 甲酸: 色谱纯。

4.3 浓盐酸。

4.4 氨水: 质量分数约为 25%。

4.5 醋酸铅。

4.6 0.1 mol/L 盐酸: 量取 8.3 mL 浓盐酸, 用水定容至 1 L。

4.7 盐酸-甲醇提取液: 取 0.1 mol/L 盐酸 80 mL, 加入甲醇 20 mL, 混匀。

4.8 饱和醋酸铅溶液: 在 50 mL 水中加入一定量的醋酸铅, 超声 5 min, 直至固体不再溶解。

4.9 5% 氨水甲醇溶液: 量取 5 mL 氨水, 用甲醇稀释至 100 mL。

4.10 0.2% 甲酸水溶液: 取甲酸 1 mL, 加水定容至 500 mL。

4.11 福莫特罗、阿福特罗标准品: 纯度 $\geq 98\%$ 。

4.12 福莫特罗-D₆标准品: 纯度 $\geq 98\%$ 。

4.13 福莫特罗、阿福特罗标准储备液: 精密称取福莫特罗、阿福特罗标准品适量, 用甲醇配制成浓度约为 1.00 mg/mL 的标准储备液, 于 2℃~8℃冷藏保存, 有效期为 6 个月。

4.14 福莫特罗-D₆内标储备液: 精密称取福莫特罗-D₆内标标准品适量, 用甲醇配制成浓度约为 1.00 mg/mL 的标准储备液, 于 2℃~8℃冷藏保存, 有效期为 6 个月。

4.15 福莫特罗、阿福特罗标准工作液: 准确量取适量福莫特罗、阿福特罗标准储备液, 用 0.2% 甲酸水溶液稀释成浓度为 1.00 μg/mL 的标准工作液, 于 2℃~8℃冷藏保存, 有效期为 1 个月。

4.16 福莫特罗-D₆内标工作液: 准确量取适量福莫特罗-D₆内标储备液, 用 0.2% 甲酸水溶液稀释成浓度

为 1.00 $\mu\text{g/mL}$ 的内标工作液,于 2℃~8℃冷藏保存,有效期为 1 个月。

4.17 固相萃取小柱:混合型阳离子交换柱,3 mL/60 mg,或性能相当的萃取柱。

4.18 0.22 μm 水系微孔滤膜。

4.19 密封盖塑料离心管:50 mL。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱-串联质谱仪(配电喷雾离子源)。

5.2 旋转蒸发仪或者氮吹仪。

5.3 离心机:转速大于 7 000 r/min。

5.4 粉碎机。

5.5 涡旋振荡器。

5.6 固相萃取装置(配备真空泵)。

5.7 分析天平:感量为 0.000 1 g 和 0.01 g 各一台。

6 采样和试样制备

按照 GB/T 14699.1 的规定,抽取有代表性的饲料样品,用四分法缩减取样。按 GB/T 20195 的规定制备试样,全部通过 0.28 mm 孔筛,充分混匀,装入密闭容器中,避光低温保存,备用。

7 测定步骤

7.1 提取

称取 2 g(精确至 0.01 g)试样于 50 mL 离心管中,分别准确加入福莫特罗- D_6 内标工作液(4.16)100 μL 、19 mL 盐酸甲醇提取液(4.7)和 1 mL 饱和醋酸铅溶液(4.8),摇匀,充分振荡 20 min,于 7 000 r/min 离心 10 min,取上清液作为备用液。

7.2 净化

将固相萃取小柱依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化,准确移取 5 mL 备用液(7.1)过柱,依次用 2 mL 水、2 mL 甲醇淋洗,真空抽干 2 min,用 5%氨水甲醇溶液(4.9)5 mL 洗脱,收集洗脱液,40℃条件下旋转蒸发至干或 50℃氮吹至干,用 1.0 mL 0.2%甲酸水溶液(4.10)溶解,过 0.22 μm 滤膜后上机测定。若试样液中含有的待测物浓度超出线性范围,进样前可用一定体积的 0.2%甲酸水溶液(4.10)稀释,使稀释后其浓度在线性范围内。

7.3 标准曲线的制备

精密量取适量福莫特罗、阿福特罗标准工作液(4.15),用 0.2%甲酸水溶液(4.10)稀释定容,制得浓度分别为 2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100 ng/mL 各系列标准溶液(内标浓度均为 25.0 ng/mL),供高效液相色谱-串联质谱测定。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱参考条件

色谱柱: C_{18} 柱,柱长 100 mm,内径 2.1 mm,填料粒径 2.4 μm ,或性能相当的分析柱。

流动相:A相:甲醇;B相:0.2%甲酸水溶液,梯度洗脱条件见表 1。

流速:0.3 mL/min。

柱温:30℃。

进样量:4 μL 。

表 1 流动相梯度洗脱参考条件

时间, min	A 相, %	B 相, %	流速, mL/min
0	20.0	80.0	0.30

表 1(续)

时间,min	A 相,%	B 相,%	流速,mL/min
3.00	80.0	20.0	0.30
5.50	80.0	20.0	0.30
5.60	20.0	80.0	0.30
10.00	20.0	80.0	0.30

7.4.2 质谱参考条件

离子源:电喷雾离子源。
扫描方式:正离子扫描。
检测方式:多反应监测。
毛细管电压、碰撞能量等参数应优化至最佳灵敏度。
定性离子对、定量离子对等参数见表 2。

表 2 福莫特罗、阿福特罗的定性、定量离子对及碰撞能量参考值

名称	定性离子对,m/z	定量离子对,m/z	碰撞能量,V
福莫特罗、阿福特罗	345.2/148.9	345.2/148.9	20
	345.2/327.1		12
福莫特罗-D ₆	351.2/155.0	351.2/155.0	17

7.4.3 定性测定

在相同试验条件下,试样中待测物的保留时间与标准工作液的保留时间偏差在±2.5%以内,且试样谱图中各组分定性离子的相对离子丰度与浓度接近的标准工作溶液中对应的定性离子相对离子丰度进行比较,若偏差不得超过表 3 规定的范围,则可判定为试样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

7.4.4 定量测定

在仪器最佳工作条件下,依次测定标准溶液和试样溶液,以标准溶液中被测组分的峰面积与内标物峰面积的比值为纵坐标、标准溶液中被测组分的浓度为横坐标,做单点或多点校准,计算试样中的待测物含量。标准溶液及试样溶液中福莫特罗及内标物福莫特罗-D₆的峰面积均应在仪器检测的线性范围之内。当待测物浓度超出线性范围时,应适当调整稀释倍数后测定。在上述色谱和质谱条件下,标准溶液特征离子色谱图见附录 A 中图 A.1。

8 试验数据处理

单点校准:

$$C_i = \frac{A_i A'_{is} C_s C_{is}}{A_{is} A_s C'_{is}} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

C_i ——试样溶液中相应福莫特罗、阿福特罗的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

C_{is} ——试样溶液中相应福莫特罗内标的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

C_s ——标准溶液中相应福莫特罗、阿福特罗的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

C'_{is} ——标准溶液中相应福莫特罗内标的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

A_i ——试样溶液中相应福莫特罗、阿福特罗的峰面积;

A_{is} —— 试样溶液中相应福莫特罗内标的峰面积；

A_s —— 标准溶液中相应福莫特罗、阿福特罗的峰面积；

A'_{is} —— 标准溶液中相应福莫特罗内标的峰面积。

或标准曲线校准:则
$$\frac{A_s}{A'_{is}} = a \frac{C_s}{C_{is}} + b \dots\dots\dots (2)$$

求得 a 和 b , 则:
$$C_i = \frac{C_{is}}{a} \left(\frac{A_i}{A_{is}} - b \right) \dots\dots\dots (3)$$

按式(4)计算试样中福莫特罗、阿福特罗残留量:

$$X = \frac{C_i \times V' \times n}{m \times 1000} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

X —— 试样中相应福莫特罗、阿福特罗的残留量,单位为毫克每千克(mg/kg);

V' —— 溶解残余物所得试样溶液体积,单位为毫升(mL);

n —— 试样稀释因子;

m —— 试样的质量,单位为克(g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,结果保留 3 位有效数字。

9 重复性

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不大于算术平均值的 20%。



附 录 A
(资料性附录)

福莫特罗、阿福特罗标准溶液(20.0 ng/mL)特征离子色谱图

福莫特罗、阿福特罗标准溶液(20.0 ng/mL)特征离子色谱图见图 A. 1。

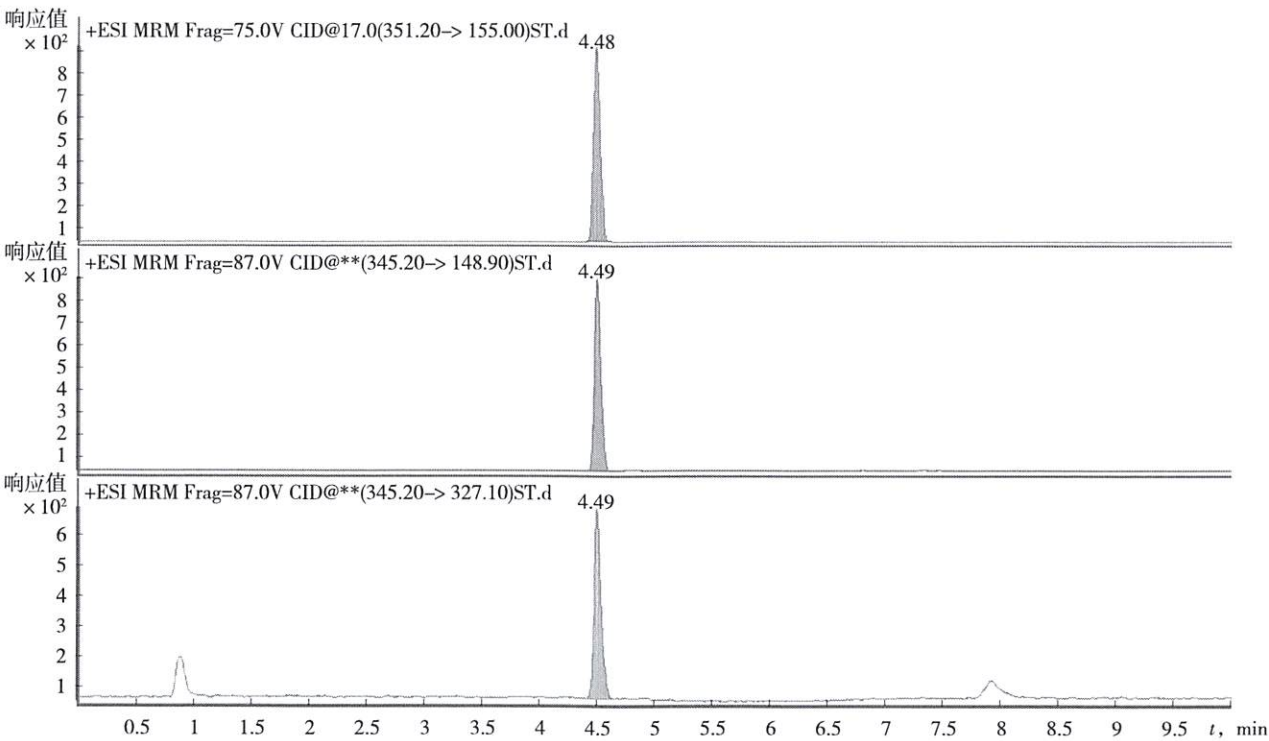


图 A. 1 福莫特罗、阿福特罗标准溶液(20.0 ng/mL)特征离子色谱图

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
饲料中福莫特罗、阿福特罗的测定
液相色谱-串联质谱法

农业农村部公告第197号—7—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.com.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: 16109·4834

定价: 18.00 元

版权专有 侵权必究
举报电话: (010) 59194261



农业农村部公告第197号—7—2019