

中华人民共和国国家标准

农业农村部公告第 316 号 — 1 — 2020

饲料中甲丙氨酯的测定 液相色谱-串联质谱法

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

2020-07-17 发布

2020-11-01 实施



中华人民共和国农业农村部 发布



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：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量监督检验中心(北京)]。

本标准主要起草人：宋荣、索德成、魏书林、赵根龙、王石、姚婷。

饲料中甲丙氨酯的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了饲料中甲丙氨酯的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和添加剂预混合饲料中甲丙氨酯的测定。

本标准的检出限为 0.02 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 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

试样中的甲丙氨酯经酸性提取液提取, 混合型阳离子交换固相萃取柱净化后, 用液相色谱-串联质谱仪检测, 基质匹配标准溶液校准, 外标法定量。

4 试剂或材料

除另有规定外, 仅使用分析纯试剂。

- 4.1 水: GB/T 6682, 一级。
- 4.2 甲醇: 色谱纯。
- 4.3 乙腈: 色谱纯。
- 4.4 甲酸: 色谱纯。
- 4.5 0.1 mol/L 磷酸溶液: 量取 6.85 mL 磷酸, 用水稀释定容至 1 L。
- 4.6 提取溶液: 0.1 mol/L 磷酸溶液(4.5)+甲醇=9+1, 将 900 mL 磷酸溶液加入 100 mL 甲醇中。
- 4.7 0.1% 硫化钠溶液: 称取 0.1 g 硫化钠, 用水溶解定容至 100 mL。
- 4.8 0.1 mol/L 盐酸溶液: 量取 8.33 mL 盐酸, 用水稀释定容至 1 L。
- 4.9 淋洗液: 0.1 mol/L 盐酸溶液(4.8)+甲醇(4.2)=9+1, 将 900 mL 盐酸溶液加入 100 mL 甲醇中。
- 4.10 洗脱液: 5% 氨化甲醇, 5 mL 氨水用甲醇(4.2)稀释定容至 100 mL。临用现配。
- 4.11 0.1% 甲酸溶液: 1 mL 甲酸(4.4)用水稀释定容至 1 L。
- 4.12 试样稀释液: 0.1% 甲酸溶液(4.11)+乙腈(4.3)=8+2, 将 800 mL 甲酸溶液加入 200 mL 乙腈中。
- 4.13 甲丙氨酯(Meprobamate, CAS 号: 57-53-4), 纯度 $\geq$ 98.0%。
- 4.14 甲丙氨酯标准储备溶液(1 mg/mL): 称取 10 mg 甲丙氨酯(精确至 0.000 01 g)于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇(4.2)溶解定容。于-20℃以下保存, 有效期为 12 个月。
- 4.15 甲丙氨酯标准中间溶液 I (10 μ g/mL): 准确量取 1 mL 甲丙氨酯标准储备溶液(4.14)于 100 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇(4.2)稀释定容。于-20℃以下保存, 有效期为 6 个月。
- 4.16 甲丙氨酯标准中间溶液 II (1 μ g/mL): 准确量取 10 mL 甲丙氨酯标准中间溶液 I (4.15)于 100 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇(4.2)稀释定容。于-20℃以下保存, 有效期为 6 个月。
- 4.17 甲丙氨酯标准系列工作溶液: 分别准确量取 0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL、10.0 mL

甲丙氨酯标准中间溶液Ⅱ(4.16)于 100 mL 棕色容量瓶中,用试样稀释液(4.12)配制标准系列工作溶液,浓度分别为 2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL。临用现配。

4.18 固相萃取柱:混合型阳离子交换柱,60 mg/3 mL,或性能相当者。

4.19 微孔滤膜:0.22 μm ,有机系。

5 仪器设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源。

5.2 分析天平:感量 0.000 1 g 和 0.000 01 g。

5.3 涡旋混合器。

5.4 超声波清洗器。

5.5 离心机:转速不低于 10 000 r/min。

5.6 固相萃取装置。

5.7 氮吹仪:带加热装置,温度可控制在 $(50\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 。

6 样品

按 GB/T 20195 制备样品,至少 200 g,粉碎使其全部通过 0.42 mm 孔径的分析筛,充分混匀,装入磨口瓶中,备用。选取类型相同、均匀一致且在待测物保留时间处仪器响应值小于方法定量限 30%的饲料样品,作为空白样品。

7 试验步骤

7.1 提取

平行做 2 份试验。称取配合饲料、浓缩饲料或精料补充料 2 g~3 g,添加剂预混合饲料 1 g~2 g,精确至 0.000 1 g,置于 50 mL 离心管中。准确加入 20 mL 提取溶液(4.6),涡旋 1 min,超声提取 30 min,期间振摇数次。于 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,备用。

对于添加剂预混合饲料,移取 1 mL 上清液,加入 0.1 mL 硫化钠溶液(4.7),混匀,沉淀重金属,于 10 000 r/min 离心 5 min,取上清液,备用。

7.2 净化

固相萃取柱(4.18)依次用甲醇、水、盐酸溶液(4.8)各 3 mL 预淋洗,准确移取 1 mL 上清液(7.1)过柱(对于添加剂预混合饲料,将沉淀重金属后所得上清液全部过柱),依次用水和淋洗液(4.9)各 3 mL 淋洗,抽干,用 4 mL 洗脱液(4.10)洗脱,收集洗脱液,在 50 $^{\circ}\text{C}$ 下用氮气吹至近干。准确加入 1 mL 试样稀释液(4.12)溶解,涡旋混匀,用 0.22 μm 滤膜(4.19)过滤备用。

7.3 基质匹配标准系列工作溶液的制备

取空白样品,按 7.1 和 7.2 处理,在净化后吹至近干的空白基质样品中,准确加入甲丙氨酯标准系列工作溶液(4.17)各 1 mL,配制成浓度为 2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 的甲丙氨酯基质匹配标准系列工作溶液,或配制成与试样溶液中甲丙氨酯浓度相近的基质匹配单标工作溶液。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱参考条件

色谱柱: C_{18} 柱,柱长 150 mm,内径 2.1 mm,粒度 3.5 μm ,或性能相当者。

柱温:30 $^{\circ}\text{C}$ 。

流速:0.2 mL/min。

进样量:20 μL 。

流动相: A 为乙腈(4.3), B 为 0.1%甲酸溶液(4.11),梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间, min	A, %	B, %
0	20	80
2.0	20	80
7.0	90	10
8.0	90	10
8.1	20	80
10.0	20	80

7.4.2 质谱参考条件

电离模式:电喷雾电离,正离子模式(ESI^+)。
检测方式:多反应监测(MRM)。
毛细管电压:4.5 kV。
毛细管温度:300℃。
保留时间、多反应监测(MRM)离子及碰撞能量见表 2。

表 2 甲丙氨酯保留时间、多反应监测(MRM)离子对及碰撞能量的参考值

被测物名称	保留时间,min	监测离子对, m/z	碰撞能量,eV
甲丙氨酯	7.0	219.0>158.0 ^a	10
		219.0>97.0	25
^a 为定量离子。			

7.4.3 基质匹配标准系列工作溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取基质匹配标准系列工作溶液(7.3)和试样溶液(7.2)上机测定。甲丙氨酯标准溶液定量离子色谱图参见附录 A。

7.4.4 定性

在相同试验条件下,试样溶液与基质匹配标准系列工作溶液中待测物的保留时间相对偏差应在±2.5%之内。根据表 2 选择的定性离子对,比较试样色谱图中待测物定性离子的相对离子丰度与浓度接近的基质匹配标准系列工作溶液中对应的定性离子的相对离子丰度,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 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为百分号

相对离子丰度	>50	>20~50	>10~20	≤10
最大允许偏差	±20	±25	±30	±50

7.4.5 定量

以甲丙氨酯的浓度为横坐标、以色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,标准曲线的相关系数应不低于 0.99。试样溶液与标准溶液中待测物的响应值均应在仪器检测的线性范围内,如超出线性范围,应重新试验或将试样溶液和基质匹配标准工作溶液作相应稀释后重新测定。单点校准定量时,试样溶液中待测物的浓度与标准溶液浓度相差不超过 30%。

8 试验数据处理

试样中甲丙氨酯的含量以质量分数 ω 计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示,多点校准按式(1)计算,单点校准按式(2)计算。

$$\omega = \frac{C \times V \times V_2 \times n}{V_1 \times m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

C ——由基质匹配标准曲线得到的试样溶液中甲丙氨酯的浓度,单位纳克每毫升(ng/mL);

V ——试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_1 ——净化时所用试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——氮气吹干后复溶液的体积,单位为毫升(mL);

n ——稀释倍数;

m ——试样质量,单位为克(g)。

$$\omega = \frac{A \times C_s \times V \times V_2 \times n}{A_s \times V_1 \times m \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

A ——试样溶液中甲丙氨酯的色谱峰面积;

A_s ——基质匹配标准溶液中甲丙氨酯的色谱峰面积;

C_s ——基质匹配标准溶液中甲丙氨酯的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL)。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

9 精密度

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



附 录 A

(资料性附录)

甲丙氨酯标准溶液定量离子色谱图

甲丙氨酯标准溶液定量离子色谱图见图 A. 1。

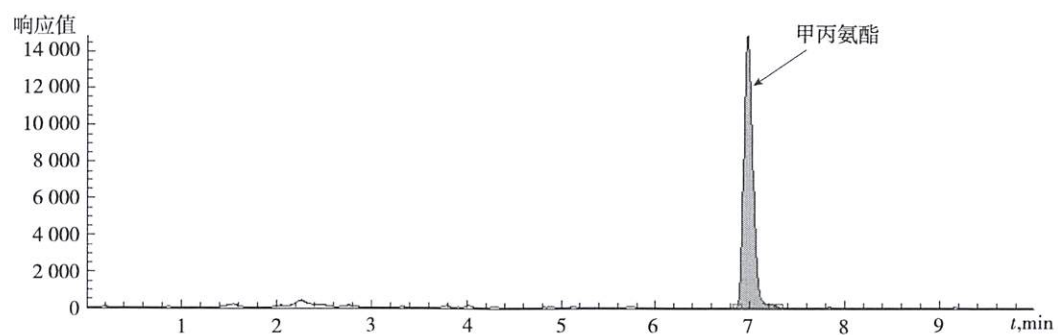


图 A. 1 甲丙氨酯标准溶液(10 ng/mL)定量离子色谱图



中华人民共和国
国家标准
饲料中甲丙氨酯的测定
液相色谱-串联质谱法

农业农村部公告第316号—1—2020

* * *

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

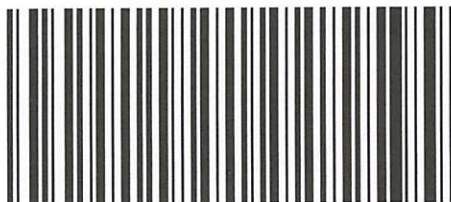
2020年10月第1版 2020年10月北京第1次印刷

书号: 16109·8150

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316号—1—2020