

中华人民共和国国家标准

农业农村部公告第 316 号—7—2020

饲料中赛地卡霉素的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of sedecamycin 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

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：中国农业科学院农业质量与标准检测技术研究所、北京大北农科技集团股份有限公司。

本标准主要起草人：陈刚、王安如、贾曼、朱丹、李强强、王凯强。

饲料中赛地卡霉素的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了饲料中赛地卡霉素的液相色谱-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赛地卡霉素的测定。

本标准检出限为 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 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

试样中的赛地卡霉素经乙腈提取,硅胶固相萃取柱净化后,用液相色谱-串联质谱测定,基质匹配曲线校准,外标法定量。

4 试剂或材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

- 4.1 水:GB/T 6682,一级。
- 4.2 乙腈:色谱纯。
- 4.3 甲酸:色谱纯。
- 4.4 0.1%甲酸溶液:准确移取 1 mL 甲酸,用水稀释并定容至 1 000 mL。
- 4.5 正己烷(乙腈饱和):100 mL 正己烷中加入 10 mL 乙腈(4.2),充分混匀,静置。分层后取上层正己烷使用。
- 4.6 赛地卡霉素标准储备溶液(5 mg/mL):准确称取赛地卡霉素标准品(CAS号:23477-98-7,纯度不低于 99%)50 mg(精确至 0.04 mg),用乙腈(4.2)溶解并定容至 10 mL。 -20°C 以下避光保存,有效期为 3 个月。
- 4.7 赛地卡霉素标准中间溶液 I (100 $\mu\text{g/mL}$):准确移取赛地卡霉素标准储备溶液 0.1 mL,用乙腈(4.2)定容至 5 mL,摇匀。 -20°C 以下避光保存,有效期 1 个月。
- 4.8 赛地卡霉素标准中间溶液 II (1 $\mu\text{g/mL}$):准确移取赛地卡霉素标准中间溶液 I (4.7)0.05 mL,用乙腈(4.2)定容至 5 mL,摇匀。 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光保存,临用现配。
- 4.9 赛地卡霉素标准系列工作溶液:准确移取赛地卡霉素标准中间溶液 I (4.7)或赛地卡霉素标准中间溶液 II (4.8)适量,用乙腈(4.2)配制成赛地卡霉素浓度分别为 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列溶液, $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光保存。临用现配。
- 4.10 硅胶固相萃取柱(SI):500 mg/3 mL,或性能相当者。
- 4.11 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,配电喷雾离子源(ESI)。
- 5.2 分析天平:感量 0.000 01 g 和 0.01 g。

- 5.3 涡旋混合器。
- 5.4 振荡器。
- 5.5 高速离心机:转速不低于 10 000 r/min。
- 5.6 固相萃取装置。
- 5.7 氮吹仪。
- 5.8 超声波清洗器。

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。选取与待测样品类型相同、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。称取试样 5 g(精确至 0.01 g),置于 50 mL 离心管中,准确加入 15 mL 乙腈(4.2),涡旋混匀,振荡提取 10 min,超声提取 5 min,于 10 000 r/min 离心 10 min,转移上清液至另一离心管中。再向残渣中准确加入 10 mL 乙腈(4.2)重复提取一次,合并提取液,混匀备用。

7.2 净化

硅胶固相萃取柱(4.10)用 3 mL 乙腈(4.2)活化。准确移取备用液(7.1)过柱。配合饲料移取备用液 5 mL 过柱,浓缩饲料、精料补充料及添加剂预混合饲料分别移取备用液 0.5 mL 过柱,收集流出液于离心管中。用 3 mL 乙腈(4.2)洗脱,收集合并洗脱液于离心管中,于 40℃下氮气吹干。准确移取 1 mL 乙腈(4.2)涡旋溶解残渣,再加入正己烷(4.5)0.5 mL,涡旋 1 min。10 000 r/min 离心 10 min,弃去上层正己烷,乙腈相经 0.22 μm 滤膜过滤后,供液相色谱-串联质谱仪测定。

7.3 基质匹配标准系列溶液的制备

取空白试样,按 7.1 和 7.2 处理,得到空白基质溶液,分别准确移取赛地卡霉素标准系列工作溶液(4.9)0.1 mL,于 40℃下氮气吹干,用 1 mL 空白基质溶液进行复溶,配制成 10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、500 ng/mL、1 000 ng/mL、10 000 ng/mL 基质匹配标准系列工作溶液。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱:C₁₈柱,柱长 150 mm,内径 2.1 mm,粒径 5 μm,或性能相当者。
- 柱温:30℃。
- 进样量:5 μL。
- 流速:300 μL/min。
- 流动相:A 为 0.1%甲酸溶液(4.4),B 为乙腈(4.2),梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间,min	A,%	B,%
0.00	60	40
1.50	60	40
2.50	10	90
5.00	10	90
5.01	60	40
10.00	60	40

7.4.2 质谱参考条件

- 离子源:电喷雾离子源。

扫描方式:正离子模式(ESI^+)。
 监测方式:多反应监测(MRM)。
 鞘气压力(GS1):60 psi。
 辅助气压力(GS2):45 psi。
 碰撞气压力(collision gas):5 psi。
 帘帘气压力(curtain gas):25 psi。
 正离子模式电喷雾电压(IS):5 500 V。
 雾化温度:550℃。
 多反应监测(MRM)离子对、碰撞能量见表 2。

表 2 赛地卡霉素的多反应监测(MRM)离子对、碰撞能量的参考值

被测物名称	监测离子对, m/z	碰撞能量, eV
赛地卡霉素	502.3>107.3	43
	502.3>124.4 ^a	33
^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溶液(7.3)和试样溶液(7.2)上机测定。赛地卡霉素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

以赛地卡霉素基质匹配标准系列溶液(7.3)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。试样溶液与基质匹配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。

8 试验数据处理

试样中赛地卡霉素的含量 w 以质量分数计,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$)。单点校准按式(1)计算,多点校准按式(2)计算。

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

式中:

- A —— 试样溶液中赛地卡霉素的色谱峰面积;
- A_s —— 基质匹配标准工作溶液中赛地卡霉素的峰面积;
- ρ_s —— 基质匹配标准工作溶液中赛地卡霉素的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V_1 —— 试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 —— 净化时所用试样溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_3 —— 氮气吹干后复溶液的体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g)。

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

式中:

ρ ——从标准曲线查得的试样溶液中赛地卡霉素的质量浓度,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数平均值的 15%。



附 录 A
(资料性附录)

赛地卡霉素标准溶液定量离子色谱图

赛地卡霉素标准溶液定量离子色谱图见图 A. 1。

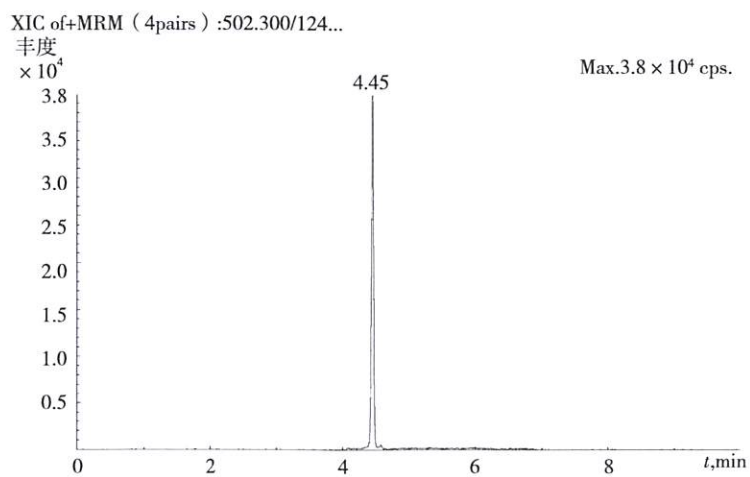


图 A. 1 赛地卡霉素标准溶液(100 ng/mL)定量离子色谱图



中华人民共和国
国家标准

饲料中赛地卡霉素的测定
液相色谱-串联质谱法

农业农村部公告第316号—7—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: 16109·8156

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—7—2020