

中华人民共和国国家标准

农业农村部公告第 358 号 — 1 — 2020

饲料中氨苯砒的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of dapsone in feeds—
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

2020-11-12 发布

2021-03-01 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：江西省兽药饲料监察所、江西省动物卫生监督所、双胞胎(集团)股份有限公司、江西正邦科技股份有限公司。

本标准主要起草人：符金华、杨琳芬、邢磊、胡翊炜、董泽民、李瑾瑾、刘国花、谢正军、何宁、姜文娟、孙新、黄艳清、邓宇、尹腾桂、虞凌鸿、胡艺、邹平道、付师一。

饲料中氨苯砒的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了饲料中氨苯砒的液相色谱-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氨苯砒的测定。

本标准的检出限为 0.002 5 mg/kg, 定量限为 0.005 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

试样中的氨苯砒经酸性乙腈溶液提取、混合型强阳离子交换柱净化后, 用液相色谱-串联质谱仪检测, 内标法定量。

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 甲醇: 色谱纯。
- 4.3 乙腈: 色谱纯。
- 4.4 0.1%甲酸溶液: 1 mL 甲酸加水稀释至 1 000 mL, 混匀。
- 4.5 盐酸溶液(5 mol/L): 盐酸+水 = 42+58。
- 4.6 试样提取溶液: 乙腈+盐酸溶液(4.5) = 9+1。
- 4.7 氨水甲醇溶液: 氨水+甲醇(4.2) = 5+95。
- 4.8 试样稀释溶液: 乙腈(4.3)+甲酸溶液(4.4) = 2+8。
- 4.9 标准储备溶液(1 mg/mL): 称取氨苯砒标准品(CAS 号: 80-08-0, 纯度不低于 98%) 10 mg(精确至 0.01 mg)于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解定容。于 2℃~8℃ 保存, 有效期为 6 个月。
- 4.10 标准中间溶液(1 μg/mL): 准确移取氨苯砒标准储备溶液(4.9) 0.1 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用试样稀释溶液(4.8)定容。于 2℃~8℃ 保存, 有效期为 1 个月。
- 4.11 氨苯砒-D₈内标储备溶液(1 mg/mL): 称取氨苯砒-D₈标准品(CAS 号: 557794-38-4, 纯度不低于 99%) 10 mg(精确至 0.01 mg)于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解定容。于 2℃~8℃ 下保存, 有效期为 6 个月。
- 4.12 氨苯砒-D₈内标工作溶液(0.1 μg/mL): 准确移取氨苯砒-D₈内标储备溶液(4.11) 0.01 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用试样稀释溶液(4.8)定容。于 2℃~8℃ 下保存, 有效期为 1 个月。
- 4.13 混合标准系列溶液: 精确移取适量氨苯砒标准中间溶液(4.10)和氨苯砒-D₈内标工作溶液(4.12)于 10 mL 容量瓶中, 用试样稀释溶液(4.8)稀释定容配成混合标准系列溶液, 氨苯砒浓度分别为 2.5 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL 和 250 ng/mL。氨苯砒-D₈内标浓度为 5 ng/mL。临用现配。
- 4.14 混合型强阳离子交换(MCX)固相萃取柱: 60 mg/3 mL。

4.15 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 0.01 mg。
- 5.3 振荡器。
- 5.4 涡旋混合器。
- 5.5 离心机:转速不低于 5 000 r/min。
- 5.6 固相萃取装置。
- 5.7 氮吹仪。

6 样品

按 GB/T 20195 的规定制备样品,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。

7 试验步骤

7.1 提取

平行做 2 份试验。称取试样 2 g,精确至 0.000 1 g,置于 50 mL 离心管中,加入氨苯砒- D_8 内标工作溶液(4.12)200 μL ,准确加入 20 mL 试样提取溶液(4.6),混匀,振荡提取 20 min,于 5 000 r/min 离心 5 min,取上清液,备用。

7.2 净化

固相萃取小柱(4.14)依次用 3 mL 甲醇和 3 mL 水预淋洗。准确移取上清液(7.1)5 mL 过柱,分别用水 3 mL 和甲醇 3 mL 淋洗,用氨水甲醇溶液(4.7)5 mL 洗脱,收集洗脱液,于 50℃下用氮气吹至近干,准确加入 1 mL 试样稀释溶液(4.8)溶解,涡旋混匀,用 0.22 μm 滤膜(4.15)过滤备用。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

色谱柱: C_{18} 柱,柱长 100 mm,内径 2.1 mm,粒度 1.8 μm ,或性能相当者。
柱温:30℃。
流速:0.3 mL/min。
进样量:5 μL 。
流动相:A 为 0.1%甲酸溶液(4.4);B 为乙腈(4.3),梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间, min	A, %	B, %
0.00	80	20
4.20	40	60
4.40	40	60
4.60	10	90
4.80	80	20
6.00	80	20

7.3.2 质谱参考条件

电离方式: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:3.5 kV。

离子源温度:100℃。

脱溶剂温度:350℃。

脱溶剂气:氮气 9 L/min。

多反应监测(MRM)离子对、碎裂电压及碰撞能量见表 2。

表 2 氨苯砜及其内标的多反应监测(MRM)离子对、碎裂电压及碰撞能量的参考值

被测物名称	监测离子对, m/z	碎裂电压, V	碰撞能量, eV
氨苯砜	249.0 > 92.0 ^a	105	21
	249.0 > 156.0	105	7
氨苯砜-D ₆	257.0 > 112.0	115	19
^a 为定量离子。			

7.3.3 混合标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取混合标准系列溶液(4.13)和试样溶液(7.2)上机测定。氨苯砜标准溶液的定量离子色谱图参见附录 A。

7.3.4 定性

在相同试验条件下,试样溶液与混合标准系列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混合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

7.3.5 定量

以氨苯砜标准系列溶液浓度与内标溶液浓度的比值为横坐标,以混合标准系列溶液峰面积与内标溶液峰面积的比值为纵坐标,绘制标准曲线,标准曲线的相关系数应不低于 0.99。试样溶液与混合标准系列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混合标准系列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

试样中氨苯砜的含量以质量分数 w 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。

$$w = \frac{\rho \times V \times V_2}{V_1 \times m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

ρ —— 由标准曲线得到的试样溶液中氨苯砜的质量浓度,单位为纳克每毫升(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);

m —— 试样质量,单位为克(g)。

$$w = \frac{A \times A'_{is} \times \rho_s \times \rho_{is} \times V \times V_2}{A_{is} \times A_s \times \rho'_{is} \times V_1 \times m \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

A ——试样溶液中待测物的色谱峰面积；

A'_{is} ——混合标准溶液中氨苯砜- D_8 内标的色谱峰面积；

ρ_s ——混合标准溶液中氨苯砜的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL)；

ρ_{is} ——试样溶液中氨苯砜- D_8 内标的质量浓度,单位为纳克每毫升(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)；

A_{is} ——试样溶液中氨苯砜- D_8 内标的色谱峰面积；

A_s ——混合标准溶液中氨苯砜的色谱峰面积；

ρ'_{is} ——混合标准溶液中氨苯砜- D_8 内标的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL)；

V_2 ——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)。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留 5 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)

氨苯砜混合标准溶液定量离子色谱图

A.1 氨苯砜混合标准溶液中氨苯砜-D₈内标定量离子色谱图

见图 A.1。

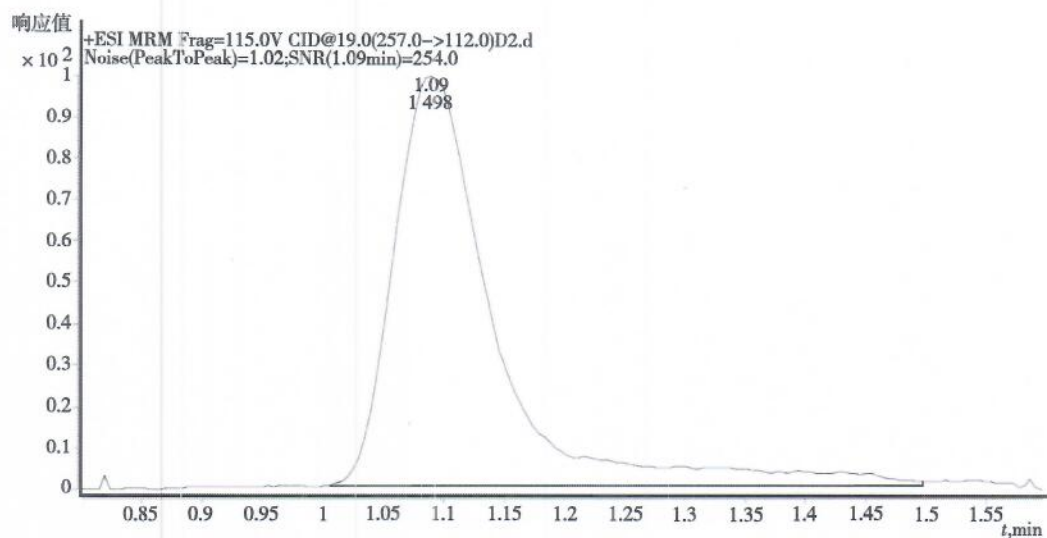


图 A.1 氨苯砜-D₈内标(5 ng/mL)定量离子色谱图

A.2 氨苯砜混合标准溶液中氨苯砜定量离子色谱图

见图 A.2。

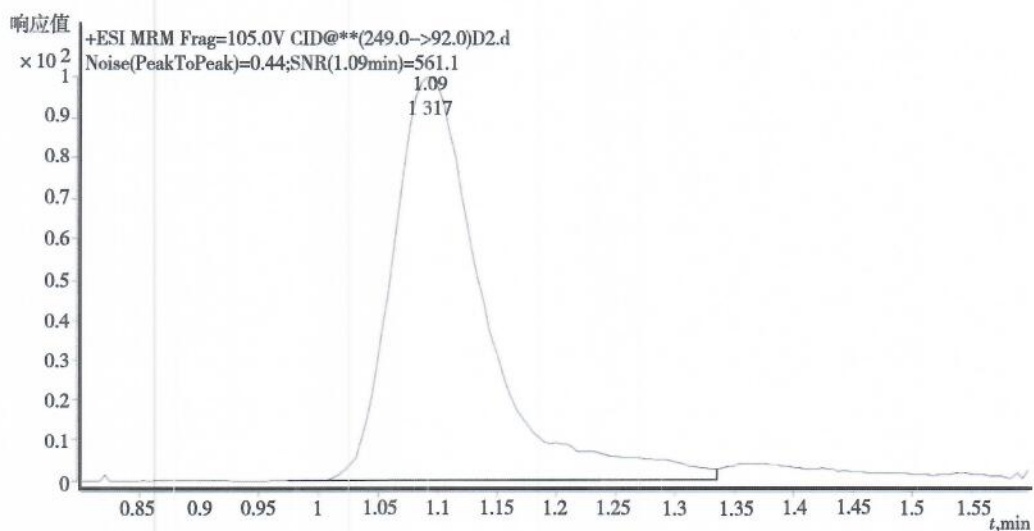


图 A.2 氨苯砜(5 ng/mL)定量离子色谱图

中 华 人 民 共 和 国

国 家 标 准

饲料中氨苯砷的测定

液相色谱-串联质谱法

农业农村部公告第 358 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

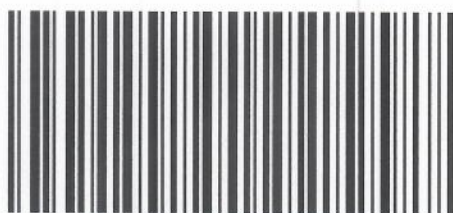
2021 年 2 月第 1 版 2021 年 2 月北京第 1 次印刷

书号: 16109·8422

定价: 24.00 元

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261



农业农村部公告第 358 号—1—2020